

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA



CBS

“CARACTERIZACIÓN DE LA CONDUCTA SEXUAL MASCULINA EN LA  
LÍNEA DE RATAS FLINDERS CON HIPERSENSIBILIDAD COLINÉRGICA”

227411

TESIS

Que para obtener el grado de  
Doctor en Ciencias Biológicas

PRESENTA

M. EN B.R. ARMANDO FERREIRA NUÑO


MAYO DEL 2002

El jurado designado por las Divisiones de Ciencias Biológicas y de la Salud  
de las Unidades Iztapalapa y Xochimilco  
aprobó la tesis que presentó

M. en B.R. Armando Ferreira Nuño

El día 20 de mayo del 2002

Comité Tutorial

  
Tutor : Dr. Javier Velázquez Moctezuma

  
Asesor : Dra. Gabriela Morali de la Brena.

  
Asesor : Dr. Raúl Paredes Guerrero

  
Sinodal : Dra. Rosa Angélica Lucio Lucio

  
Sinodal : Dra. Margarita Martínez Gómez  
PP

**A mis hijos Carolina y David:**

**Por ser el motor de mi vida, les dedico esta tesis, esperando que ésta sea una muestra del mejor legado que quiero dejarles: una buena educación, un buen ejemplo y mi cariño. Gracias por todo el apoyo que me han brindado a lo largo de estos cinco años, pues sé que en muchas ocasiones, por este trabajo, dejé de atenderlos como se merecen, pero sé que este esfuerzo será en beneficio de ustedes.**

**A mi novia Adriana:**

**Por haber estado a mi lado, en las buenas y en las malas, a lo largo de este estudio. Por la ayuda, paciencia, comprensión y amor que me brindó, sin los cuales hubiera sido más difícil la realización de esta tesis.**

**A mi Padre:**

**Por el gran ejemplo de superación y apoyo que ha sido para todos sus hijos y familiares.**

**A mi Madre:**

**Por toda la ayuda que me brindó al hacerse cargo de mis hijos en aquellas ocasiones en que este trabajo me impidió estar con ellos.**

**A mis hermanos:**

**Por su cariño, comprensión y estímulo.**

## AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer sinceramente al Dr. Javier Velázquez Moctezuma todo el apoyo que me brindó a lo largo de este estudio, en instalaciones, consejos, sugerencias, correcciones y estímulo constante.

A los miembros del Comité Tutorial: Dra. Gabriela Morali de la Brena, Dr. Raúl Paredes Guerrero, Dra. Rosa Angélica Lucio Lucio y Dra. Margarita Martínez Gómez, por el valioso tiempo que le dedicaron en la revisión de esta tesis, por sus atinadas recomendaciones y paciencia. Por haber compartido conmigo sus conocimientos y su experiencia en mi formación profesional.

Al Dr. David Overstreet, quien desde que nos donó las líneas de ratas Flinders, nos ha brindado su apoyo y consejos.

A la Dra. Adriana Morales Otaí, quien desde que inicié esta tesis me apoyó en todos los aspectos de la realización de esta tesis, estimulándome siempre con su entusiasmo y cariño.

A los estudiantes del área de Neurociencias que de alguna manera me ayudaron en las observaciones y el mantenimiento de la colonia de ratas Flinders y a la M. en C. Edith Monroy, por su colaboración en la traducción del artículo que se publicó.

## Abreviaturas.

Ach	=	Acetilcolina.
ANOVA	=	Análisis de Varianza.
APO	=	Área Preoptica Media.
APO / HA	=	Área Preoptica /Hipotálamo Anterior.
CSM	=	Conducta sexual masculina.
DA	=	Dopamina.
ES	=	Extenuación Sexual.
FE	=	Frecuencia Eyaculatoria.
FRL	=	Línea Flinders Resistente.
FSL	=	Línea Flinders Sensitiva.
GABA	=	Ácido Gama-Amino-Butírico.
HDS	=	Línea Alta Sensibilidad al 8-OH-DPAT
IIC	=	Intervalo Inter-Copulatorio.
III	=	Intervalo Inter-Intromisión.
IPE	=	Intervalo Posteyaculatorio.
LDS	=	Línea Baja Sensibilidad al 8-OH-DPAT
LE	=	Latencia de Eyaculación.
LI	=	Latencia de Intromisión.
LM	=	Latencia de Monta.
M1	=	Receptor Muscarínico tipo 1.
M2	=	Receptor Muscarínico tipo 2.
NAcc	=	Núcleo Acumbens.
NA	=	Noradrenalina.
NI	=	Número de Intromisiones.
NM	=	Número de Montas.
OVN	=	Órgano Vomeronasal.
OXO	=	Oxotremorina.
PT	=	Propionato de Testosterona.
SCO	=	Escopolamina.
SC	=	Serie Copulatoria.
SE	=	Serotonina
SNT	=	Sistema de Neurotransmisión.
SD	=	Cepa Sprague Dawley.
T	=	Testosterona.
TA	=	Tasa de Aciertos.
TH	=	Tirosina Hidroxilasa
%SsA	=	Porcentaje de Sujetos que Activos.
%SsE	=	Porcentaje de Sujetos que Eyacularon.
%SsI	=	Porcentaje de Sujetos que Intromitieron.
%SsM	=	Porcentaje de Sujetos que Montaron.
5-HT	=	5-Hidroxi-Triptamina o SE.
5-HIAA	=	5 hidroxí-indolacético
8-OH-DPAT	=	8 hidroxí-2-di-n-propil-amino-tetralina.

## ÍNDICE GENERAL

	PÁG.
1. RESUMEN	9
2. SUMMARY	11
3. INTRODUCCIÓN	12
4. CONDUCTA SEXUAL MASCULINA EN RATAS	13
4.1. Descripción de los patrones generales	13
4.2. Parámetros para la evaluación de la conducta sexual masculina	16
4.3. Componentes de la conducta sexual masculina	19
4.4. Regulación de la conducta sexual masculina	20
4.4.1. Regulación endocrina	20
4.4.2. Regulación nerviosa	21
4.4.3. Papel de los distintos sistemas de neurotransmisión	26
4.4.4. El sistema colinérgico en la regulación de la conducta sexual masculina	28
5. LAS LÍNEAS DE RATAS FLINDERS	32
5.1. Origen	32
5.2. Características de las líneas de ratas Flinders sensitiva (FSL) y resistente (FRL)	33
5.3. La línea FSL como modelo animal de depresión	36
6. OBJETIVO GENERAL	39
7. HIPÓTESIS GENERAL	39

8. PRIMER EXPERIMENTO	40
“ Caracterización de la conducta sexual masculina de las ratas Flinders en condiciones de extenuación sexual.”	
8.1. Antecedentes	40
8.2. Objetivo particular	43
8.3. Hipótesis particular	43
8.4. Metodología general	43
8.4.1. Obtención y manejo de los sujetos antes del experimento	43
8.4.2. Registro de la conducta sexual	45
8.4.3. Metodología particular	46
8.4.4. Análisis estadístico	46
8.5. Resultados	47
8.6. Discusión	59
8.7. Conclusiones	75
9. SEGUNDO EXPERIMENTO	77
“ Caracterización de la conducta sexual espontánea de las ratas Flinders en pruebas semanales ”	
9.1. Antecedentes	77
9.2. Objetivo particular	79
9.3. Hipótesis particular	79
9.4. Metodología particular	80
9.4.1. Obtención y manejo de los sujetos antes del experimento	80

9.4.2. Análisis estadístico	81
9.5. Resultados	81
9.6. Discusión	96
9.7. Conclusiones	104
10. TERCER EXPERIMENTO	106
“ Efecto de la castración y de la terapia restitutiva con andrógenos sobre la conducta sexual de las ratas Flinders.”	
10.1. Antecedentes	106
10.2. Objetivo particular	110
10.3. Hipótesis particular	110
10.4. Metodología particular	110
10.5. Análisis estadístico	112
10.6. Resultados	112
10.7. Discusión	125
10.8. Conclusiones	131
11. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES GENERALES	132
12. REFERENCIAS	145
13. ANEXO : ARTICULO PUBLICADO	162
“Masculine sexual behavior features in the Flinders sensitive and resistant line rats”	



## 1. RESUMEN

Las líneas de ratas Flinders sensitiva (FSL) y resistente (FRL), han sido generadas mediante la reproducción selectiva basada en su sensibilidad colinérgica. Debido a dicha selección, las ratas FSL y FRL muestran, respectivamente, hiper e hiposensibilidad a drogas que estimulan los receptores colinérgicos muscarínicos. Además, la línea de ratas FSL ha sido propuesta como modelo animal de depresión, debido a las alteraciones conductuales que presentan, tales como: incremento en el sueño de movimientos oculares rápidos (REM), decremento en el consumo de sacarina después ser estresadas y reducción de la conducta exploratoria en campo abierto. Por otro lado, la conducta sexual es una conducta gratificante que podría estar alterada en sujetos que padecen anhedonia por estar deprimidos. Con el objeto de caracterizar la conducta sexual masculina (CSM) en las ratas FSL, FRL y Sprague-Dawley (SD), en esta tesis se analizó la CSM espontánea tanto en condiciones de extenuación sexual (ES), como a lo largo de 9 pruebas semanales de 30 min. En la prueba de ES ambas ratas FSL y FRL, comparadas con las ratas control SD, mostraron varias deficiencias en su CSM, debido a que sus latencias de intromisión (LI), intervalos posteyaculatorios (IPE), inter-intromisión (III) e inter-copulatorio (IIC) fueron significativamente más prolongados, lo que contribuyó a que cumplieran el criterio de ES antes que las ratas control. En esta misma prueba, la CSM de las ratas FRL fue la más deficiente por haber presentado mayor número de montas (NM) y latencias de eyacuación (LE) más prolongadas que las ratas FSL y SD. Por su parte, las ratas FSL se distinguieron de las ratas FRL y SD, por requerir de un menor número de intromisiones (NI) para eyacular. Durante las pruebas semanales de 30 minutos, nuevamente la CSM de ambas ratas FSL y FRL presentó deficiencias, ya que el porcentaje de sujetos que eyaculaban (%SsE) fue menor que el de las ratas control y en algunas de las semanas tuvieron latencias de monta (LM), LI e IPE más prolongados. Asimismo, en varias de las semanas las ratas FSL se caracterizaron por tener III e IIC más prolongados que las ratas SD.

Por otro lado, debido a que la testorona (T) tiene una importancia fundamental en la expresión de la CSM y que se ha observado que en presencia de T, la estimulación del sistema colinérgico, acelera el restablecimiento de esta conducta en machos castrados, se planteó como tercer experimento de esta tesis, analizar la relación entre la T y el sistema colinérgico. Para ello se evaluó la CSM en machos sexualmente expertos antes y después de la castración, hasta que desapareció dicha conducta. A partir de este momento se le administró a cada macho una dosis diaria de 1 mg/kg de propionato de testosterona (PT) y se evaluó su CSM hasta que los machos volvieron a eyacular. Antes de la castración, las ratas FSL tuvieron LM más cortas y menor NI que las ratas SD. Después de la castración, la CSM de las ratas SD desapareció más rápidamente en que en las FSL, tuvieron menos eyacuaciones, LE más prolongadas y mayor NI. Además, no se registraron diferencias entre los machos SD y FSL, durante la terapia reitutiva de la CSM con PT.

Las deficiencias observadas en la CSM de las ratas FRL con hiposensibilidad colinérgica, fueron consistentes con la baja actividad sexual que se ha reportado en ratas a las que se les ha disminuido la actividad colinérgica. En cambio, la baja CSM que mostraron las ratas FSL, por ser semejante a la que presentaron las ratas FRL en varios parámetros, no puede explicarse por

su hipersensibilidad colinérgica. Por tal motivo, es posible que las deficiencias que presentaron las ratas FSL en su CSM, se deban a las alteraciones que estas ratas han sufrido en otros sistemas de neurotransmisión, como consecuencia del proceso de selección que ha originado su hipersensibilidad colinérgica.

## 2. SUMMARY

The Flinders sensitive (FSL) and resistant (FRL) line of rats have been selectively bred for their differences in cholinergic sensitivity. The FSL rats display hypersensitive responses and FRL rats hiposensitive responses to agonists of muscarinic receptors. In addition, the FSL rats displays behavioral alterations that support the notion that this strain could be useful as an animal model of depression. These abnormalities include increase in rapid eye movement (REM) sleep, decrease of saccharin consumption after stress, and reduced exploratory behavior in a novel open field. On the other hand, sexual behavior is a pleasure-seeking behavior that should be altered in a mood disorder characterized by anhedonia. In order to characterize the sexual behavior in both, the FSL and the FRL rats, and in outbred Sprague-Dawley (SD) rats. spontaneous masculine sexual behavior features, were analyzed during sexual satiety test as well as during 9 weekly test of 30 min. During satiety tests, results showed that, compared with SD rats, both the FSL and FRL rats displayed some behavioral impairments, like longer intromission latency (IL), postejaculatory interval (PEI), interintromission interval (III), intercopulatory interval (ICI) and became satiated sooner than their SD controls. Also, in the same test, FRL rats were able to show higher number of mounts (NM) and longer ejaculation latencies (EL) than FSL and SD rats. while FSL rats had fewer number of intromissions (NI) than FRL and SD rats. During the 30 min test, both FSL and FRL rats were able to show lower percentage of subjects displaying ejaculations, longer ML, IL, IPE than SD rats, only in some weeks. In addition, FSL rats had longer III and IIC than SD rats in many weeks.

Considering that testosterone (T) plays a major role in the expression of male sexual behavior and that, in presence of T, the stimulation of muscarinic receptors with cholinergic agonists, exerted a facilitative effect in the restitution of sexual performance in gonadectomized males, the third experiment of this study was designed to analyze the relationship between T and the cholinergic system. The spontaneous masculine sexual behavior were recorded in sexually experienced adult FSL and SD males rats, before and after gonadectomy until this behavior was absent. Therefore all the males were treated with 1 mg/kg of testosterone propionate (TP) and the recovery of sexual behavior were recorded. Before gonadectomy, FSL rats show shorter ML and fewer NI than SD rats. After gonadectomy SD males lost their sexual behavior sooner than FSL rats, and had fewer ejaculations, longer EL and higher NI. No differences between groups were achieved during the administration of TP to restore sexual behavior.

These results suggest that the impairments showed by the FRL rats in their masculine sexual behavior are consistent with the low sexual behavior response obtained when the cholinergic activity is counteracted by drugs. However, the reduced sexual activity of the FSL rats, could not be accounted for by their cholinergic hypersensitivity. It is possible that in the sexual impairments observed in FSL other neurotransmitter systems are implicated, like serotonergic, which have been altered by the selection performed to obtain their cholinergic hipersensitivity.

### 3. INTRODUCCIÓN.

En la investigación del papel que desempeñan los diferentes sistemas de neurotransmisión (SNT) cerebral en la regulación de la conducta sexual masculina (CSM), se han empleado diferentes técnicas, entre las que destacan, la estimulación eléctrica o lesión de ciertas áreas cerebrales y la administración de drogas que los afectan, ya sea estimulándolos o inhibiéndolos. En las últimas décadas, aprovechando la sensibilidad innata que tienen las crías de rata a ciertas drogas que alteran distintos SNT, se han desarrollado líneas de ratas que han adquirido genéticamente, mayor o menor sensibilidad a tales fármacos, mediante su selección y reproducción. Sólo recientemente se han empleado estas líneas de ratas para evaluar la influencia de tal modificación en la CSM. El propósito de la presente tesis es, precisamente, caracterizar la CSM en la línea de ratas Flinders Sensitiva, que tiene hipersensibilidad colinérgica genéticamente adquirida, así como características semejantes a la de los seres humanos deprimidos, por lo que constituyen un modelo animal de depresión. Por ello se describirá la CSM en la rata, los parámetros utilizados para evaluarla, así como su regulación por el sistema nervioso. Posteriormente, se describirán las características fisiológicas y conductuales que presentan las ratas Flinders, para tener un marco teórico de referencia que permita comprender mejor el objetivo de los tres experimentos que se incluyen en esta tesis.

## **4. CONDUCTA SEXUAL MASCULINA EN RATAS.**

### **4.1. Descripción de los patrones de la conducta sexual.**

La CSM en la rata ha sido ampliamente descrita y se han realizado varias revisiones como las de Larsson (1956, 1979), Meisel y Sachs (1994), Agmo (1997). entre otras. La CSM puede dividirse en tres fases : a) la precopulatoria, que incluye el olfateo, exploración genital, el aseo y la persecución del compañero. Durante esta etapa la hembra despliega patrones de proceptividad tales como el brincoteo, el movimiento de las orejas y el desplazamiento en zigzag (Hlinak, 1983, 1986), b) la copulatoria, que se caracteriza por una serie de montas e intromisiones, que se presentan aproximadamente cada 30 a 120 segundos y que generalmente concluyen con la eyaculación, c) la postcopulatoria, en la que el macho después de presentar un periodo refractario, lleva a cabo el acicalamiento de sus genitales, (Agmo, 1997, Meisel y Sachs, 1994). Algunos de los patrones de la CSM de la rata se muestran en la figura 1.

Para la observación de la CSM, el macho suele ser apareado en un redondel transparente con una hembra receptiva, previamente tratada con estradiol y progesterona. La hembra receptiva, ante la palpación de sus flancos por el macho, responde con una conducta llamada lordosis que consiste en el arqueamiento del dorso, la elevación de la cabeza y zona perineal y el movimiento lateral de la cola (figura 1c y d), para facilitar la inserción del pene del macho en la vagina

Luego de explorar a la hembra con el olfato (figura 1 a y b), el macho se aproxima a ella por la grupa para desplegar el patrón de monta que se caracteriza por la ejecución de movimientos pélvicos, al tiempo que la sujeta con sus patas delanteras los flancos de la hembra, pero sin introducir el pene en la vagina (figura 1 c).

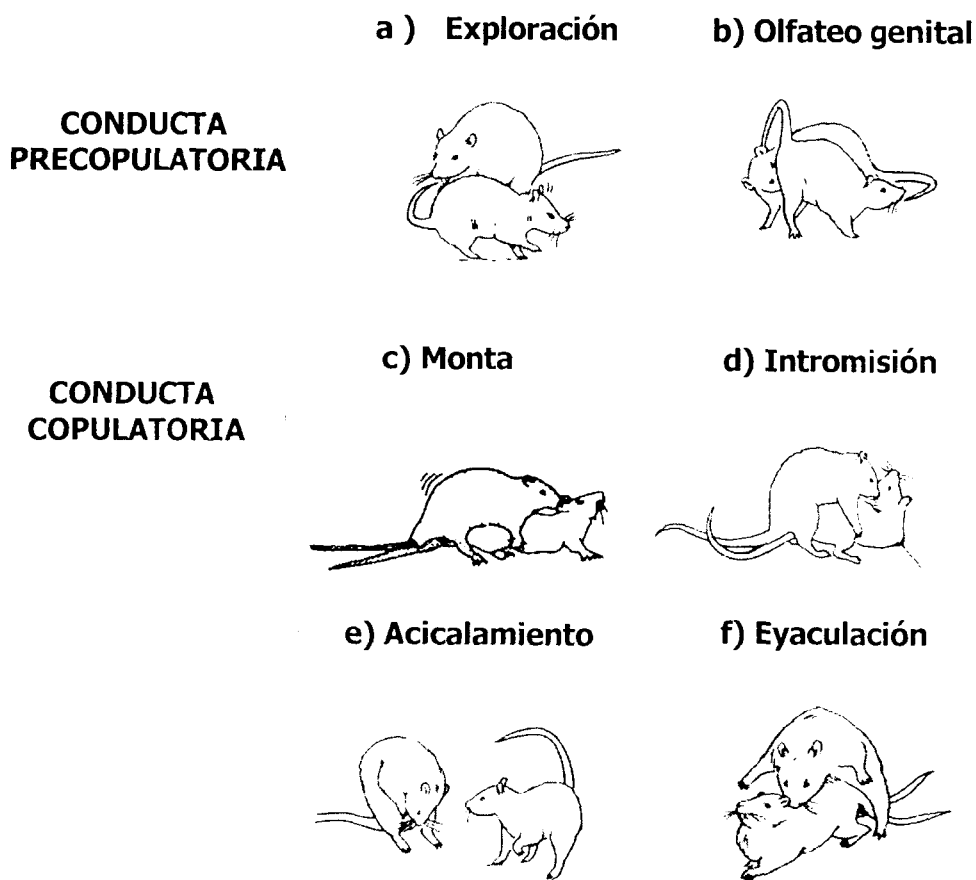


Figura 1. Conducta sexual de la rata. (Modificado de Slob y Van der Werff ten Bosch, 1977.)

Los rápidos movimientos pélvicos anteroposteriores del macho que ejecuta durante la monta llegan a tener una duración de 0.383 seg. (Moralí et al, 1985). En cambio, durante la intromisión (figura 1d), o monta con inserción vaginal del pene, el macho realiza una serie de movimientos pélvicos rítmicos que duran 0.320 seg., tienen una frecuencia de 20 a 22 Hz y concluyen con un movimiento más profundo hacia adelante, seguido de una brusca desmonta de la hembra, luego de la cual el macho generalmente se lame sus genitales (figura 1e) (Moralí et al, 1985). En general, el macho no vuelve a montar a la hembra inmediatamente después de una intromisión. Estos signos permiten distinguir las intromisiones de las montas. Comúnmente, el macho consigue la penetración vaginal en el 50 a 80 % de las montas (Agmo, 1997, Meisel y Sachs, 1994).

El patrón eyaculatorio, por su parte, consiste en una monta con inserción vaginal que se caracteriza por una serie de movimientos pélvicos aún más profundos y espasmódicos que durante la intromisión, durante los cuales suele ocurrir la emisión del semen dentro de la vagina, y concluye con un movimiento pélvico hacia adelante más profundo que dura de 1 a 3 seg., seguido del movimiento lateral de sus patas delanteras y una desmonta lenta (figura 1 f). La eyaculación ocurre normalmente después de seis a doce intromisiones y es seguida por un periodo de inactividad sexual llamado periodo refractario posteyaculatorio o intervalo posteyaculatorio, durante el cual el macho no responde a la estimulación sexual de la hembra. Este periodo suele durar de cuatro a ocho minutos, aunque normalmente se va incrementando con las series subsecuentes (Agmo, 1997, Meisel y Sachs, 1994). De acuerdo con los estudios de Beach y Holtz (1949) el intervalo posteyaculatorio ha sido dividido en dos etapas:

1. El periodo refractario absoluto, en el que el macho no responde a ningún tipo de estimulación sexual y se caracteriza por vocalizaciones ultrasónicas de 22 KHz. que comprenden el 75 % de este intervalo.
2. El periodo refractario relativo, que dura el 25 % restante del intervalo, durante el cual es posible promover el reinicio de la CSM, si se le proporciona al macho una estimulación apropiada, lo que reduce en este intervalo.

A la serie de eventos copulatorios que van desde que el macho inicia la primera monta hasta que ocurre la eyaculación, se le denomina serie eyaculatoria. También existe la serie copulatoria que se diferencia de la serie eyaculatoria porque abarca, además, el periodo refractario posteyaculatorio hasta la siguiente intromisión (figura 2).

#### **4.2. Parámetros para la Evaluación de la Conducta Sexual Masculina.**

En la figura 2 se muestran como ocurren en el tiempo los patrones y parámetros que se emplean para evaluar la CSM y que se describirán a continuación.

-Latencias de monta (LM) y de intromisión (LI): corresponden, respectivamente, al periodo que transcurre desde que se introduce la hembra con el macho, hasta que ocurre la primera monta o la primera intromisión.



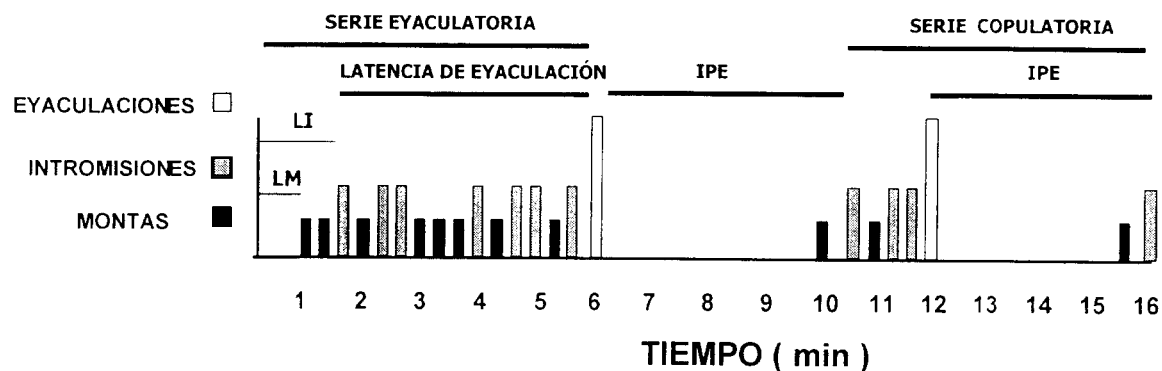


Figura 2. Gráfica que muestra el curso temporal de los eventos que ocurren durante la cópula de la rata macho, con los patrones y parámetros que se emplean para evaluar la conducta sexual en esta especie. Abreviaturas. LM = latencia de monta. LI = latencia de intromisión, IPE = intervalo post-eyaculatorio.

- Número de montas (NM): es el número de montas con movimientos pélvicos que realiza el macho antes de la eyacuación.

- Número de intromisiones (NI): es el número de intromisiones que realiza el macho antes de la eyacuación.

- Latencia de eyacuación (LE): es el tiempo que transcurre desde la primera intromisión hasta que ocurre la eyacuación.

- Intervalo posteyaculatorio (IPE) o periodo refractario posteyaculatorio: es el tiempo que transcurre entre la eyacuación y la intromisión de la siguiente serie eyaculatoria.

- Frecuencia eyaculatoria (FE): es el número de eyaculaciones que ocurren durante un tiempo determinado de registro de la CSM.

Una vez que concluye el registro de la CSM, se pueden calcular los siguientes índices:

- Porcentaje de sujetos que eyacularon (%Ss): este porcentaje se puede calcular para toda la sesión de registro. También se puede calcular el porcentaje de machos sexualmente activos (%SsA), para distinguir a los que copulan de los que no lo hacen, o bien evaluar a los que montan (%SsM) o intromiten (%SsI) en cada serie eyaculatoria.

- Tasa de Aciertos (TA), también llamado hit rate o índice de eficiencia copulatoria: es el NI dividido entre el NI más el NM que se presentan antes de la eyaculación. Este parámetro alcanza el valor máximo de 1, cuando el macho sólo realiza intromisiones, lo que indica que la eficiencia copulatoria fue del 100%. Este parámetro es muy útil para evaluar tratamientos que afectan la sensibilidad peneana o la erección.

- Intervalo Inter-Intromisión Promedio (III) o también llamado tasa de intromisiones: es el intervalo que hay entre cada intromisión en una serie eyaculatoria. Se calcula dividiendo la LE entre el NI. La reducción del III puede indicar, de manera indirecta, que el macho está más motivado sexualmente por aparearse con la hembra. (Agmo, 1999)

- Intervalo Inter-Copulatorio (IIC): es el intervalo de tiempo que hay entre cada monta, con o sin inserción vaginal y se calcula dividiendo la LE entre la suma del NM y el NI. Este parámetro, indica qué tan espaciadas ocurrieron las montas e intromisiones que precedieron a la eyaculación.

- Umbral eyaculatorio: se calcula dividiendo el NI entre la LE y sirve para evaluar la facilidad con la que el macho consigue eyacular. El umbral será menor si se reduce el NI que requiere el macho para que eyacular.

- Potencial copulatorio: es el número de eyaculaciones que ocurren antes de que el macho cumpla el criterio de extenuación o saciedad sexual (Meisel y Sachs. 1994).

### **4.3. Componentes de la Conducta Sexual Masculina.**

En 1967 Beach propuso que en la regulación de la CSM existe un mecanismo nervioso dual: el primero determina la motivación necesaria para el inicio y continuidad de la conducta sexual, llamado también mecanismo apetitivo o motivacional, mientras que el segundo determina la ejecución, por lo que se le suele denominar como mecanismo ejecutorio o consumatorio. De acuerdo con este autor, la actividad del segundo es controlada por el primero (Beach, 1967). Posteriormente, Beyer en 1976, propuso la existencia de un tercer mecanismo modulador, que consiste en mecanismos nerviosos inhibitorios que pueden determinar la interrupción de la CSM si las condiciones medioambientales ponen en riesgo la vida del animal o hacen inapropiada la actividad sexual (Beyer, 1976). De acuerdo con lo anterior, se ha propuesto que los parámetros que permiten evaluar el componente motivacional del macho son: la LM, la LI, el III y el IPE ya que muestran el deseo que tiene el macho por buscar el contacto sexual con la hembra (Meisel y Sachs, 1994). Sin embargo, algunos investigadores cuestionan que la LI y el III no deberían ser tomados en cuenta para evaluar la motivación, ya que pueden ser influidos por la receptividad de la hembra, la cual, si no es

adecuada, puede prolongar los valores de la LI y el III (Meisel y Sachs, 1994). También se debe considerar que el III requiere del componente ejecutorio además del motivacional. Asimismo, si el macho tiene un problema que impide la erección peneana, estos parámetros pueden prolongarse a pesar de la motivación sexual que tenga el macho.

Por otra parte, los parámetros que permiten valorar la capacidad ejecutoria del macho son el NM, el NI y la LE. No obstante, el incremento en el NM puede ser el resultado de: a) mayor motivación sexual del macho, b) reducción en la sensibilidad peneana o de la erección, c) reducción en la receptividad de la hembra, d) la inexperiencia del macho y e) la combinación de estos factores (Meisel y Sachs, 1994). Asimismo, en la medida que un macho requiera de menos intromisiones y de menos tiempo para eyacular se considera que su desempeño sexual es mejor.

#### **4.4. Regulación de la Conducta Sexual Masculina.**

##### **4.4.1. Regulación endócrina.**

En la regulación de la CSM participan factores endocrinos y nerviosos. Como evidencia de los factores endocrinos, está la desaparición de la CSM provocada por la castración, lo cual pone de manifiesto la importancia que tienen las hormonas esteroides que produce el testículo en su regulación (Meisel y Sachs, 1994).

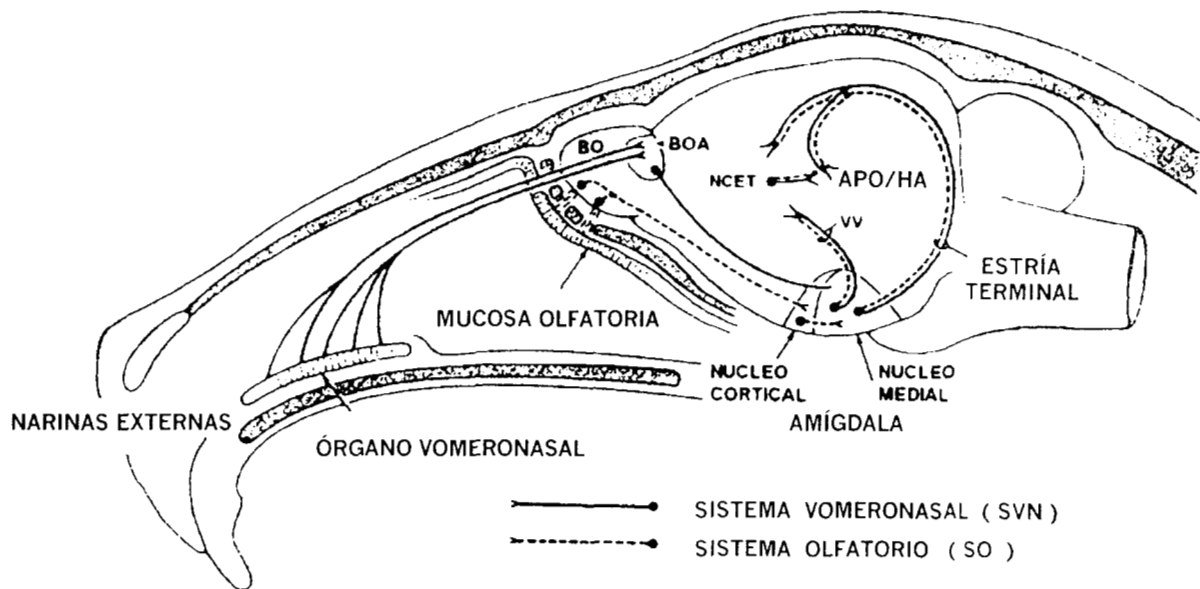
La castración desaparece la CSM en unas semanas al provocar la disminución significativa de los niveles plasmáticos de la testosterona (T), que es la hormona testicular que desempeña el papel más relevante en esta conducta, ya que su administración en los animales castrados, restituye la conducta sexual perdida (Beach, 1942b; Beach y Holtz, 1946, 1949; Davidson, 1966b). Más información sobre la participación de la testosterona en la regulación de la CSM será mencionada en los antecedentes del experimento de castración.

#### **4.4.2. Regulación nerviosa.**

La T, una vez que ha sido producida por el testículo, llega al cerebro a través de la circulación sanguínea, en donde actúa sobre diferentes sistemas neuronales responsables de la expresión de la CSM. A través de diversos estudios de lesión o de estimulación eléctrica de diferentes áreas cerebrales, se ha podido determinar la localización y el papel desempeñan estas áreas en la regulación de la CSM.

Una de las principales vías sensoriales que participan en la regulación neural de la CSM es la vía olfatoria y parte de ella se muestra en la figura 3. Esta vía se subdivide a su vez en dos partes: el Sistema Olfatorio Principal y el Sistema Olfatorio Accesorio o Vomeronasal. De estas dos vías la más importante en la regulación de la CSM es el Sistema Vomeronasal, ya que se ha mostrado que esta especializado en detectar las señales de las feromonas que son relevantes en esta conducta. Esta vía se inicia con los receptores del órgano vomeronasal (OVN), que captan las señales quimiosensoriales de la hembra o del medio ambiente y las envían a través del nervio vomeronasal que está localizado bilateralmente en la parte más

ventral del septum nasal. Las señales captadas por el OVN son transmitidas al bulbo olfatorio accesorio, que en la rata se encuentra en la porción dorsocaudal del bulbo olfatorio mayor. para posteriormente ser enviadas a los núcleos anteromedial y posterocortical de la amígdala. De la amígdala, que se localiza en la porción media del lóbulo temporal y que colinda con la parte fina rostral de la formación del hipocampo y el límite anterior del asta temporal del ventrículo lateral, transmite la información recibida, a través de la estría terminal, al área preóptica media-hipotálamo anterior (APO/HA) o bien al núcleo de la cama de la estría terminal (Krettek y Price, 1978; Meisel y Sachs, 1994; Portillo-Martínez y Paredes-Guerrero, 1998; Price et al, 1987).



**Figura 3. Representación esquemática de los Sistemas Olfatorio y Vomeronasal de la rata macho Bulbo Olfatorio Accesorio ( BOA ), Bulbo Olfatorio ( BO ), Núcleo de la Cama de la Estría Terminal ( NCET ), Via Ventral ( VV ), Área Preóptica Media / Hipotálamo Anterior ( APO/HA ). Modificado de Baum 1992, por Hurtazo -Oliva, 2000.**

El APO/HA es sin duda una de las áreas cerebrales más importantes en la regulación de la CSM y se localiza entre la porción caudal del quiasma óptico y comisura anterior. Tiene como borde rostral y caudal a la lámina terminal y la división media del núcleo de la cama de la estría terminal, respectivamente (Portillo-Martínez y Paredes-Guerrero, 1998). En esta área se integran las señales aferentes que generan el componente motivacional y que se originan de las señales aportadas por el medio externo provenientes de la hembra, así como las generadas por el medio interno, como por ejemplo, el estado endocrino del animal. Entre las evidencias que destacan la importancia del APO/HA, es que su lesión altera severamente la CSM en varias especies animales, sobre todo cuando las lesiones son amplias y abarcan tanto la parte caudal del APO como la parte rostral anterior hipotalámica (De Jonge et al. 1989; Hansen et al, 1982; Heimer y Larsson. 1964). En cambio, lesiones más pequeñas localizadas sólo en el APO rostral producen efectos más leves sobre la CSM (Heimer y Larsson. 1966/1967). La CSM eliminada por las lesiones amplias del APO, no puede ser restablecida mediante la administración crónica de testosterona y los machos lesionados son incapaces de montar aún después de ocho meses de haber sido lesionada el área. Además, los animales que son lesionados en el APO muestran una reducción significativa en su interés por perseguir a hembras receptivas (Paredes et al. 1993) y pierden la preferencia de escoger hembras receptivas en lugar de machos, lo que sugiere que la motivación sexual está alterada (Paredes et al, 1998).

Otro hecho que destaca la importancia del APO/HA en la regulación de la CSM es el hecho de que en esta área se concentra una gran cantidad de receptores a los andrógenos como la T (Rees y Michael, 1982; Sar y Stumpf, 1973) y la dihidrotestosterona (Doherty y

Sheridan, 1981; Rees y Michael, 1982). Esta cantidad es particularmente abundante en el núcleo dimórfico sexual (Grunt y Young, 1953; Sheridan, 1984). Además, la estimulación eléctrica (Merari y Ginton, 1975), así como la aplicación de implantes de hormonas gonadales en el APO/HA facilitan o activan la CSM (Carr et al, 1965; Christensen y Clemens, 1974; Davidson, 1966; Davis y Barfield, 1979).

También en el APO/HA existen receptores específicos de los diferentes sistemas de neurotransmisión (SNT) relacionados con la CSM, como son los monoaminérgicos, los GABAérgicos y los colinérgicos (Bitran y Hull, 1987; Dohanich et al, 1982; Hull et al, 1986, 1988a; Mas et al, 1987).

Asimismo, mediante evidencias electrofisiológicas, recientemente se ha mostrado el papel del APO/HA en la motivación sexual, ya que la tasa de disparo de ciertas neuronas de esta área se incrementa inmediatamente después de que un macho es expuesto a una hembra receptiva y esta tasa continua elevándose a través de la cópula, pero se interrumpe cuando se presentan las montas y las intromisiones (Shimura y Shimokochi, 1990). Todo esto sugiere que la APO es un sitio importante para la generación del estado de motivación central.

Por otra parte, se sabe que la información que integra el APO/HA, sale principalmente por el haz medio del cerebro anterior (Swanson, 1979) dirigiéndose al tegmento dorsolateral que se encuentra localizado en la porción ventral del cerebro medio, justo dorsal a la sustancia nigra y lateral al lemnisco medio. Por esta vía, el APO/HA traduce la motivación sexual en el componente ejecutivo, permitiéndole al macho desplegar los patrones motores copulatorios de



monta, intromisión y eyaculación (Meisel y Sachs, 1994; Portillo-Martínez y Paredes-Guerrero, 1998). Por ejemplo, las lesiones del campo tegmental lateral, dorsal y medial a la sustancia nigra eliminan la cópula en las ratas (Brackett y Edwards, 1984), y se ha registrado actividad electrofisiológica en las neuronas del campo tegmental lateral durante la cópula (Shimura y Shimokochi, 1990). Del área tegmental la información es enviada al sistema motor estriatal, iniciándose así la conducta sexual motora (Meisel y Sachs, 1994; Portillo-Martínez y Paredes-Guerrero, 1998).

Por último, en el control nervioso de los procesos de erección, emisión y eyaculación participan vías aferentes (sensoriales) y eferentes (motoras). Dichos procesos están regulados por los segmentos espinales torácicos, lumbares y sacros mediante la integración de la información sensorial autónoma y somática, a través de cuatro nervios principales: el hipogástrico, el pélvico, el pudendo y el genitofemoral (Lucio-Lucio et al, 1998).

Existen evidencias de que los reflejos espinales que regulan la erección y la eyaculación en los mamíferos machos están modulados a nivel supraespinal mediante influencias inhibitorias como excitatorias (Beach, 1967; Hart, 1967 y 1968; Meisel y Sachs, 1994 ).

#### 4.4.3. Papel de los distintos sistemas de neurotransmisión

De lo expuesto anteriormente se desprende que en la regulación de la CSM participan varias áreas cerebrales, siendo el APO/HA una de las principales. En la mayoría de estas áreas existen neuronas que reciben y envían información y que pertenecen a distintos SNT, como son el dopaminérgico, noradrenérgico, serotoninérgico, gabaérgico y colinérgico entre los más importantes. Con el objeto de determinar el papel que desempeñan cada uno de estos SNT en la regulación de la CSM, se han empleado diferentes técnicas, como la farmacológica, en la que se administran sustancias que estimulan (agonistas) o inhiben (antagonistas) un determinado SNT, y dependiendo del efecto que tengan sobre esta conducta, se deduce la función facilitatoria o inhibitoria del sistema. Esta técnica ha permitido revelar la complejidad que tienen los SNT en la regulación de la CSM, ya que la mayoría de estas neuronas tienen más de un receptor para un mismo tipo de neurotransmisor. En la medida en que se descubren nuevos tipos de receptores en los SNT, se diseñan nuevas drogas que los estimulan o los bloquean. Debido a esta complejidad, determinar si un SNT tiene un papel estimulador o inhibitorio sobre la CSM o sobre alguno de sus componentes, ha sido cada vez más complejo, ya que es común que dos drogas que afectan al mismo SNT, tengan efectos diferentes sobre la expresión de la CSM, por actuar sobre distintos tipos de receptores. Por ejemplo, la administración de agonistas que estimulan los receptores noradrenérgicos  $\alpha_1$  facilitan la cópula, mientras que la estimulación de los receptores  $\alpha_2$ , la inhiben (Meisel y Sachs, 1994). En la tabla 1 se puede observar, en forma resumida, el efecto que tiene sobre la cópula y la erección la estimulación de receptores de diferentes SNT, de acuerdo con Meisel y Sachs (1994).

**Tabla 1.** Resumen del efecto de varios sistemas de neurotransmisión sobre la cópula y la erección (modificada de Meisel y Sachs, 1994).

Neurotransmisor	Efecto sobre la Cópula	Efecto sobre la Erección
Norepinefrina	<p>En el receptor <math>\alpha_1</math>, facilita</p> <p>En el receptor <math>\alpha_2</math>, inhibe</p> <p>En el receptor <math>\beta_1</math> no tiene efecto</p> <p>En el receptor <math>\beta_2</math>, facilita</p>	<p>En el receptor <math>\alpha_1</math>, inhibe</p> <p>En el receptor <math>\alpha_2</math>, facilita</p> <p>En el receptor <math>\beta</math> inespecífico, inhibe</p>
Dopamina	<p>La actividad postsináptica la facilita</p> <p>La actividad presináptica la inhibe</p>	<p>La actividad postsináptica facilita la erección refleja, pero inhibe la erección espontánea</p> <p>La actividad presináptica inhibe la erección refleja, pero facilita la erección espontánea</p>
Serotonina (5-HT)	<p>En el receptor 5-HT<sub>1A</sub>, facilita</p> <p>En el receptor 5-HT<sub>1B/1C</sub>, inhibe</p> <p>En el receptor 5-HT<sub>2</sub>, inhibe</p>	<p>En el receptor 5-HT<sub>1A</sub>, inhibe</p> <p>En el receptor 5-HT<sub>1C</sub> facilita la erección espontánea</p> <p>En el receptor 5-HT<sub>2</sub> inhibe la erección espontánea</p>
GABA (Ácido gama aminobutírico)	<p>En el receptor GABA<sub>A/B</sub> la inhibe</p>	<p>En el receptor GABA<sub>a</sub> no tiene efecto</p> <p>En el receptor GABA<sub>B</sub> inhibe la erección refleja</p>

La información que se ha acumulado desde que se generó esta tabla hasta la fecha ha aumentando considerablemente y por ello sería muy extenso para los fines de este trabajo actualizarla. Cabe mencionar que los datos que corresponden al SNT colinérgico no se incluyeron, debido a que se expondrán más detalladamente, por estar directamente vinculados con el objetivo general del presente estudio.

#### 4.4.4. El sistema colinérgico en la regulación de la conducta sexual masculina.

En el SNT colinérgico se han identificado neuronas que pueden tener dos tipos de receptores: el muscarínico, que es estimulado por la muscarina, un alcaloide producido por el hongo *Amanita muscaria* y el nicotínico que es sensible a la nicotina, un alcaloide producido por la planta del tabaco *Nicotiana tabacum* (Feldman et al, 1997). Entre los receptores muscarínicos se han encontrado a su vez dos subtipos de receptores, de acuerdo a su afinidad por el antagonista pirenzepina (Pz). Los que tienen alta afinidad han sido designados como  $M_1$ , los de baja como  $M_2$  (Hammer et al, 1980; Hammer y Gianchetti, 1982).

Existen algunas evidencias que muestran la participación del sistema colinérgico en la regulación de la CSM. Sin embargo, comparado con otros SNT, el colinérgico ha recibido poca atención, a pesar de ser este sistema el que participa de manera crítica en la estimulación de los músculos estriados implicados en los movimientos motores y peneanos durante las montas e intromisiones (Meisel y Sachs, 1994). Se ha observado que la administración sistémica del agonista colinérgico pilocarpina elimina la cópula en conejos machos (Agmo, 1976b), mientras que en las ratas macho, el antagonista colinérgico atropina administrado sistémicamente también elimina la CSM (Bignami, 1966). Otras evidencias sugieren que la acetilcolina (ACh) puede estar involucrada en el control de la erección peneana. Por ejemplo, se ha mostrado que la erección que ocurre por la irrigación del cuerpo carvernososo del pene depende de la actividad colinérgica, ya que ésta desaparece después de la denervación del pene (Dail et al, 1986).

DE SERVICIOS  
DOCUMENTALES - BIBLIOTECA

Por otro lado, aunque la administración de la fisostigmina, un inhibidor colinérgico de la enzima acetilcolinesterasa, no tiene efecto sobre la erección espontánea en ratas (Gower et al, 1986), ésta se facilita con el tratamiento sistémico del agonista pilocarpina (Maeda et al, 1990). Recientemente, se ha mostrado en ratas que la administración intratecal de muscarina, un agonista de los receptores colinérgicos muscarínicos, en la medula espinal a nivel de la región lumbar de la columna vertebral, reduce el NI, la LE y el IIC, mientras que la administración de homoatropina, un antagonista colinérgico, produce el incremento de la LI, IIC y LE (Duran et al. 2000).

Además de la participación que la ACh tiene en la regulación de la CSM a nivel periférico, se han obtenido otras evidencias a nivel central. Por ejemplo, en ratas hembras se han encontrado neuronas colinérgicas en áreas cerebrales que participan en la regulación de la conducta sexual, tanto femenina como masculina. Por ejemplo, se ha mostrado en el APO/HA la presencia de receptores colinérgicos muscarínicos (Dohanich et al, 1982; Olsen et al, 1988) y la presencia de la enzima colina acetil-transferasa, que limita la síntesis de ACh (Luine et al, 1980).

Estudios farmacológicos realizados a nivel central, también han mostrado la participación de los sistemas muscarínicos y nicotínicos en la regulación de la CSM. En la tabla 2 se resumen algunos de ellos.

En uno de los primeros estudios realizados por Soulairac en 1963 sobre el papel de la ACh en la regulación de la CSM, se demostró que la administración de dosis tóxicas de

fisostigmina, provoca el incremento de la LE y del IPE (Soulairac, 1963). Posteriormente también se comprobó que la fisostigmina disminuye el %SsA (Bignami, 1966; Leavit, 1969; Soulairac y Soulairac, 1975). A partir de entonces se han encontrado evidencias contradictorias que muestran que el SNT colinérgico puede tener influencias tanto inhibitorias como facilitatorias en la regulación de la CSM.

Entre las evidencias que apoyan su influencia inhibitoria se encuentra la disminución en el %SsA y el aumento de la LI y del IPE, por la administración sistémica de dosis suprafiológicas de nicotina (Bignami, 1966; Leavit, 1969), mientras que la administración en el APO/HA (Hull et al. 1986), o la sustancia nigra (Winn, 1991), de carbacol, un agonista inespecífico por estimular tanto receptores muscarínicos como nicotínicos, produjo el aumento de la LM y de la LI, pero también provocó la disminución del NI, lo que puede interpretarse como una influencia facilitatoria (Winn, 1991).

Las evidencias de que el SNT colinérgico tiene una influencia facilitatoria son más abundantes. Por ejemplo, dosis bajas de nicotina administradas sistémicamente producen un incremento en la FE y disminuye el NI, LE e IPE (Retana et al, 1993; Soulairac y Soulairac, 1975), mientras que la administración sistémica de oxotremorina (OXO), un agonista colinérgico muscarínico, disminuye el NI, la LE, e incrementa la FE (Ahlenius y Larsson, 1985; Hull et al, 1986; Retana et al, 1993).

Tabla 2. Resumen del efecto que tienen diferentes drogas colinérgicas sobre la CSM en la rata.  
I = Influencia estimulante (+), o inhibitoria (-).

	Tipo de fármaco	Vía de Administración	I	Efecto sobre la conducta sexual	Referencia
A G O N I S T A S	<b>Inespecíficos</b>				
	<b>Fisostigmina</b> (Inhibidor de la acetilcolinesterasa)	Sistémica Sistémica	- -	Incrementa la LE, IPE Disminuye el %SsA	Soulairac, 1963 Bignami, 1966 Leavit, 1969 Soulairac y Soulairac, 1975
	<b>Carbacol</b> (nicotínico y muscarínico)	Ventrículo lateral Área Preóptica	- -	Incrementa las LM, LI Incrementa las LM, LI y disminuye el NI	Hull et al. 1988a
		Substancia Nigra	+	Disminuye el NI	Winn, 1991
	<b>Nicotínicos</b>				
	<b>Nicotina</b>	Sistémica	-	Incrementa la LI e IPE	Bignami, 1966
		Sistémica	-	Disminuye el %SsA	Leavit, 1969
		Sistémica	+	Incrementa la FE y disminuye NI, LE e IPE	Soulairac y Soulairac, 1975
			+	Disminuye el NI	Retana et al. 1993
	<b>Muscarínicos</b>				
	<b>Oxotremorina</b>	Ventrículo lateral	-	Incrementa LI e III	Hull et al. 1988a
		Área Preóptica	+	Disminuye el NI	Hull et al. 1988a
		-	Incrementa las LM, LI	Winn 1991	
	Sistémica	+	Disminuye el NI, LE	Ahlenius y Larsson 1985	
	Sistémica	+	Disminuye el NI, LE	Retana et al 1993	
		+	Incrementa la FE		
	<b>Muscarina</b>	Intratecal	+	Disminuye NI, LE e IIC	Duran et al. 2000
A N T A G O N I S T A S	<b>Muscarínicos</b>				
	<b>Atropina</b>	Sistémica Sistémica	- -	Incrementa la LI y IPE Disminuye el %SsA	Bignami, 1966 Leavit, 1969 Soulairac y Soulairac, 1975
	<b>Homoatropina</b>	Intratecal	-	Disminuye el %SsE	Duran et al. 2000
			-	Incrementa LI, LE e IIC	
	<b>Escopolamina</b>	Ventrículo lateral	-	Incrementa LI	Hull et al. 1988b
		Área Preóptica	-	Disminuye el %SsI y SsE	Hull et al. 1986
	Sistémica	-	Disminuye el %SsI y SsE	Retana et al 1993	
	<b>Trihexifenidil (M1)</b>	Sistémica + OXO previa IP de OXO		Incrementa el NI y disminuye la FE	Retana y Velázquez, 1993

Los resultados de la administración de antagonistas colinérgicos muscarínicos como la atropina o la escopolamina (SCO), también apoyan la posible influencia facilitatoria del SNT colinérgico en la CSM. Así, la inyección sistémica de atropina disminuye el %SsA (Soulairac y Soulairac, 1975) e incrementa la LI y el IPE (Bignami, 1966), mientras que la SCO administrada en el APO/HA (Hull et al,1991), o sistémicamente (Retana-Márquez et al, 1993), disminuye el %SsI y el %SsE. Mediante la administración de Trihexifenidil, un antagonista colinérgico muscarínico M1, se ha podido prevenir el efecto facilitatorio que tiene la OXO sobre la CSM, lo que ha permitido dilucidar que la influencia facilitatoria del SNT colinérgico se ejerce a través de los receptores muscarínicos M1 (Retana-Márquez y Velázquez-Moctezuma, 1993b).

## **5. LAS LÍNEAS DE RATAS FLINDERS.**

### **5.1. Origen.**

Las líneas de ratas Flinders fueron creadas por el Dr. Overstreet y colaboradores en la Escuela de Ciencias Biológicas de la Universidad Flinders al sur de Australia, donde a partir de una selección genética de ratas Sprague-Dawley (SD), generaron dos líneas de ratas : la denominada Flinders Sensitiva (FSL) y la línea Flinders Resistente (FRL), basándose en el grado de sensibilidad que presentaban por el bloqueador de la acetilcolinesterasa, el diisopropil-fluorofosfato (DFP)(Overstreet, 1993; Overstreet et al, 1979)



## 5.2. Características de la Líneas Flinders Sensitiva (FSL) y Resistente (FRL).

En la tabla 3 se muestran las características que han permitido mostrar que las ratas FSL han adquirido genéticamente hipersensibilidad del sistema colinérgico, mientras que las ratas FRL, por el contrario, han adquirido hiposensibilidad colinérgica.

**Tabla 3. Características que presentan las líneas de ratas Flinders en relación a su sensibilidad colinérgica.**

CARACTERÍSTICA	LÍNEA FSL	LÍNEA FRL	REFERENCIA
Sensibilidad al DFP	Mayor	Menor	Overstreet et al. 1979; Russell et al. 1969; 1982;
Sensibilidad a agonistas colinérgicos	Mayor	Menor	Overstreet et al. 1974; Russell et al. 1975 Overstreet y Russell, 1982
Cantidad de receptores muscarínicos en el estriado, hipocampo e hipotálamo	Mayor	Menor	Overstreet et al. 1984 Pepe et al. 1988 Overstreet 1991 Daws y Overstreet, 1999

Además, se ha mostrado que la selección genética de las ratas Flinders, basada en su sensibilidad colinérgica, colateralmente ha alterado otros sistemas de neurotransmisión, principalmente en las ratas FSL (ver tabla 7). Por ejemplo, se ha observado que las ratas FSL tienen mayor sensibilidad a agonistas serotoninérgicos que actúan sobre los receptores 5-HT<sub>1A</sub>, como la buspirona y el 8-OH-DPAT, debido que su administración produce un mayor grado de hipotermia que en las ratas FRL (Overstreet et al, 1992), así como una mayor inmovilidad en la prueba de nado forzado (Overstreet et al. 1998).

Se ha descartado la participación de los receptores 5-HT<sub>2</sub> en este efecto, porque se sabe que la administración de agonistas que afectan a los receptores 5-HT<sub>2</sub> inducen hipertermia, en lugar de hipotermia. Por otra parte, Schiller (1991) mostró que en las ratas FSL existe, a nivel del hipocampo, mayor cantidad de receptores 5-HT<sub>1A</sub> y 5-HT<sub>2</sub>. También se ha comprobado que las ratas FSL tienen niveles de serotonina (SE) y de su metabolito, el ácido 5 hidroxindolacético (5-HIAA), 3 a 8 veces más altos que las ratas FRL en el núcleo acumbens (NAcc), corteza prefrontal, hipocampo e hipotálamo (Zangen et al, 1999).

Recientemente, se ha reportado que las ratas FSL tienen niveles de dopamina (DA) 6 veces más altos en el NAcc y 2 veces más altos que las ratas normales SD en el estriado, hipocampo e hipotálamo, mientras que tienen niveles de noradrenalina (NA) 2 a 3 veces más altos que las ratas SD, en el NAcc, corteza prefrontal, hipocampo y núcleo medio del raquídeo. (Zangen et al, 1999). No obstante, no se han encontrado marcadas diferencias conductuales entre las ratas FSL, FRI, y SD cuando se ha alterado el sistema noradrenérgico mediante la administración del agonista beta-noradrenérgico salbutamol y el agonista alfa-noradrenérgico clonidina (Overstreet, 1989).

Con relación al sistema dopaminérgico se ha encontrado que las ratas FSL tienen hipersensibilidad tanto al efecto hipotérmico (Crocker y Overstreet, 1991), como al efecto inductor de agresión que produce la administración del agonista D<sub>1</sub>/D<sub>2</sub> apomorfina y del agonista selectivo D<sub>2</sub>, quinpirola (Pucilowski et al, 1991). Sin embargo, no se han podido

encontrar diferencias entre las ratas FSL y FRL en la cantidad de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> en distintas áreas cerebrales (Crocker y Overstreet, 1991).

Por último, se ha mostrado que las ratas FSL tienen mayor sensibilidad a la benzodiazepina diazepam debido a que su unión en el estriado y el hipocampo está incrementada (Pepe et al, 1988). Dado que los receptores a las benzodiazepinas están ligados a los receptores GABA<sub>A</sub>, se puede deducir que las ratas FSL también tienen alterado el sistema GABAérgico.

En la mayoría de los estudios en los que se ha comparado la respuesta de las ratas FSL con las FRL y SD, a la acción de diferentes drogas o condiciones experimentales, las ratas FRL se han comportado de manera semejante a las ratas SD y ambas han resultado ser significativamente diferentes, con respecto a las ratas FSL (Overstreet, 1993). Pocos han sido los casos en los que se ha mostrado que las ratas FRL se comportan distinto de las FSL y SD. Uno de estos es el menor umbral que tienen para asustarse ante ciertos estímulos auditivos (Markou et al, 1994). Se ha propuesto que esta respuesta posiblemente se debe a que las ratas FRL tienen alterado el sistema de receptores 5-HT<sub>2</sub>, ya que presentan baja sensibilidad a las drogas que alteran estos receptores y porque la administración de agonistas 5-HT<sub>2</sub> disminuye el tiempo de habituación que requieren ratas normales para dejar de alarmarse por el estímulo auditivo (Geyer y Braff et al, 1982).

Los trabajos anteriores dejan claro que las ratas Flinders tienen modificados otros SNT que participan también en la regulación de la CSM, además del colinérgico.

### **5.3. La línea FSL como modelo animal de depresión.**

La depresión es un desorden afectivo caracterizado por la tristeza en respuesta a factores externos (depresión exógena) o internos (depresión endógena), en la que suele ser común la pérdida de interés y la incapacidad por encontrar placer en las actividades que realizan (Pehek et al. 1988). Según el manual de diagnóstico y estadística DMS IV (Pichot et al. 1995), en la depresión humana se presentan al menos dos síntomas centrales que son: el estado de ánimo triste y la incapacidad para experimentar placer o anhedonia. Estos síntomas principales suelen estar acompañados de al menos 4 de los 7 síntomas secundarios que son: alteraciones del apetito (aumento o pérdida), trastornos del sueño (insomnio), alteración psicomotora (retardo), fatiga o pérdida de energía, pensamientos de minusvalía o de culpa exagerada, dificultades para concentrarse y pensamientos suicidas (Willner, 1991). Además, es común que se experimente desamparo, tristeza, llanto, desesperación y disminución de la libido (Willner, 1991), siendo este último aspecto relevante para los fines del presente estudio.

Debido a la importancia que tiene la depresión como enfermedad a nivel mundial y a las dificultades que impone su estudio en el ser humano, se han diseñado diferentes modelos animales de depresión, con los cuales se intenta: a) reproducir ciertas características del cuadro depresivo humano, b) simular las anormalidades neuroquímicas implicadas en esta enfermedad y c) descubrir selectivamente fármacos con propiedades antidepresivas.

Un modelo animal de depresión es más completo en la medida que satisface mejor los criterios de validez de apariencia, predictiva y teórica (Winn, 1991). El criterio de validez de

aparición se refiere al grado con el que el modelo reproduce la aparición del cuadro depresivo del ser humano. El criterio de validez teórica se refiere a la congruencia que tiene el modelo animal de depresión con alguna de las teorías que existen sobre el origen de la depresión. Por último, el criterio de validez predictiva se refiere a la capacidad del modelo para encontrar fármacos que tengan eficacia terapéutica.

Se ha propuesto a las ratas Flinders FSL como un modelo animal de depresión por presentar características conductuales y fisiológicas semejantes a las de los seres humanos deprimidos (Overstreet, 1993; Overstreet et al, 1988). Entre las semejanzas que acreditan el criterio de validez de aparición en ambos grupos se encuentran los siguientes :

1. Disminución en el peso corporal (Overstreet y Russell, 1982; Russell et al.1982; Willner, 1991).
2. Incremento en la duración del sueño REM y menor latencia en la aparición del sueño REM (Gillin et al. 1979; Gillin et al. 1981; Kupfer, 1976; Shiromani et al. 1987 y 1988).
3. Disminución en la actividad locomotriz (Overstreet, 1986; Overstreet y Russell, 1982; Pehek et al, 1988).
4. Deficiencias en el aprendizaje y la memoria (Mc Allister, 1981; Overstreet y Measday, 1985).
5. Anhedonia o pérdida de interés (Ayensu et al, 1995; Pucilowski et al. 1993;Willner, 1991; Winn. 1991).

6. Actitudes anormales de agresividad o de sumisión (Branchey et al. 1984; Heath. 1981; Pucilowski et al. 1991).
7. Bajos niveles del factor liberador de hormona corticotrófica (CRF) en el hipotálamo (Nemeroff et al, 1988; Owens et al. 1991).
8. Incremento en los niveles de cortisol o corticosterona por la inyección del agonista colinérgico muscarínico arecolina (Holsboer et al, 1974; Overstreet et al. 1986).

Con base en estas similitudes las ratas FSL han sido propuestas como modelo animal de depresión.

## **6. OBJETIVO GENERAL.**

Ampliar el conocimiento que se tiene sobre la participación del sistema colinérgico en la regulación de la CSM, mediante la caracterización de esta conducta en las líneas de ratas Flinders FSL y FRL, con hiper e hiposensibilidad colinérgica, a) en condiciones de extenuación sexual, b) en pruebas semanales de 30 minutos, c) en condiciones de castración y d) durante la restitución de esta conducta mediante la administración de propionato de testosterona.

## **7. HIPÓTESIS GENERAL.**

Debido a que se ha mostrado que el sistema colinérgico tiene un papel facilitatorio en la regulación de la CSM, se espera que esta conducta esté incrementada en las ratas FSL por su hipersensibilidad colinérgica y disminuida en las FRL por su hiposensibilidad colinérgica genéticamente adquirida.

## **8. PRIMER EXPERIMENTO**

### **“ Caracterización de la Conducta Sexual Masculina de las Ratas Flinders en condiciones de Extenuación Sexual. ”**

#### **8.1. Antecedentes.**

La extenuación sexual (ES) o saciedad sexual fue descrita de manera simultánea por Beach y Jordan y por Larsson en 1956 (Beach y Jordan, 1956; Larsson, 1956). Este proceso se presenta cuando a un macho se le permite copular *ad libitum* de manera continua con hembras sexualmente receptivas y ocurre luego de aparearse cuatro horas y de conseguir de cinco a doce series eyaculatorias sucesivas, seguido del agotamiento sexual que se prolonga hasta seis días (Beach y Jordan, 1956; Larsson, 1956; Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti, 1995). Recientes investigaciones indican que se presenta un periodo de inhibición de la CSM, durante 48 horas, cuando menos (Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti, 1995). Transcurrido este periodo, los animales pueden presentar conducta copulatoria deficiente, caracterizada por la ejecución de pocas series eyaculatorias, un incremento en el NM, LI e IPE (Larsson, 1956; Lawrence y Barfield, 1975; Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti, 1995). La recuperación total no se presenta sino hasta después de 15 días de inactividad sexual (Larsson, 1956; Lawrence y Barfield, 1975).



De acuerdo con los primeros estudios de Beach y Jordan (1956) se consideró la ES a partir del momento en que los machos no presentan actividad copulatoria a lo largo de 30 minutos de registro, después de haber copulado *ad libitum* con hembras sexualmente receptivas. Algunos investigadores han considerado un criterio más estricto, consistente en que los machos presenten un IPE de por lo menos 90 minutos (Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti, 1995) o bien, someter a los machos experimentales 2 días seguidos a la presencia de hembras sexualmente receptivas y terminar cada una de las pruebas de ES cuando el macho no despliegue montas ni intromisiones durante 90 minutos continuos (Mas et al, 1994).

Se ha observado que algunos de los parámetros con los que normalmente se evalúa la CSM se modifican como resultado de la prueba de ES. Por ejemplo, conforme van ocurriendo las eyaculaciones el NI disminuye y el IPE se incrementa, mientras que otros parámetros como el NM y la LE no muestran un cambio consistente (para revisión ver Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti, 1995). Asimismo, se ha observado que 24 horas después de haber realizado el registro de ES, el 66.6 % de la población no presentan CSM y sólo el 33.3 % son capaces de eyacular, pero después de ésta, sólo un 10 % es capaz de reiniciar nuevamente otra serie eyaculatoria (Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti, 1995).

El desarrollo de la ES en la rata macho presenta manifestaciones conductuales bastante consistentes, que permiten caracterizar la CSM a través de un largo periodo de registro. Por otro lado, la pruebas de ES permite tener más elementos para evaluar la motivación del

macho, ya que, además de estimar la LM y la LI, es posible registrar varias veces el IPE, así como el %SsA que copulan 24 horas después de la prueba de ES.

Dado que se ha mostrado que la ES es el resultado de la pérdida del componente motivacional, más que del ejecutorio de la CSM (Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti, 1995), es nuestro interés analizar su desarrollo en las ratas FSL, FRL y control SD, porque como se mencionó, las ratas Flinders FSL tienen alteraciones conductuales de motivación como es la anhedonia (Pucilowsky et al. 1993).

Por otra parte, existen varias pruebas que muestran que el sistema colinérgico tiene un papel facilitatorio en la regulación de la CSM, ya que la administración de agonistas colinérgicos reduce el NI y la LE (Ahlenius et al. 1971; Hull et al. 1986; Retana et al 1993), y provoca el incremento de la FE (Retana et al. 1993). En cambio, la administración de antagonistas colinérgicos disminuyen la CSM, al reducir el %SsA, %SsI, %SsE y la FE y aumentar la LM y LI, lo que indica una reducción en la motivación sexual (Hull et al. 1991; Retana et al 1993). Debido a la hipersensibilidad colinérgica de las ratas FSL, es posible que su CSM comparta algunas características de las ratas cuyo SNT colinérgico ha sido estimulado y las ratas FRL, por su hiposensibilidad colinérgica, tengan semejanzas con la CSM de ratas a las que se les ha administrado antagonistas colinérgicos, ya que al tener más (FSL) o menos (FRL) receptores colinérgicos en ciertas áreas cerebrales, aumenta o disminuye la actividad del SNT colinérgico, tal y como sucede con la administración de agonistas o antagonistas colinérgicos en ratas (Overstreet et al. 1984; Feldman et al. 1997).

## **8.2. Objetivo Particular.**

Caracterizar la conducta sexual masculina de las ratas Flinders en condiciones de extenuación sexual.

## **8. 3. Hipótesis Particular.**

Si el sistema colinérgico tiene un papel facilitador en la regulación de la CSM, se espera que las ratas FSL, por tener hipersensibilidad colinérgica, requieran más eyaculaciones que las ratas control para satisfacer el criterio de extenuación sexual y que las ratas FRL necesiten menos eyaculaciones, por tener hiposensibilidad colinérgica.

## **8.4. Metodología General.**

### **8.4.1. Obtención y manejo de los animales.**

Se reprodujeron hembras y machos de las líneas FSL y FRL, del pie de cría con que cuenta actualmente la colonia de la UAM-I donada por el Dr. David Overstreet del bioterio de la Universidad de Carolina del Norte. Para ello, los progenitores se mantuvieron en condiciones de temperatura y humedad constantes, dentro de un cuarto sujeto a un fotoperiodo de 12 hrs. luz /12 hrs. oscuridad (la luz se apagaba a las 10 am.). Se les proporcionó agua y

alimento *ad libitum*. A las crías de estos apareamientos se les registró la fecha de nacimiento y posteriormente, se les destetó y sexó a los 21 días de edad.

A las siete semanas de edad se determinó qué crías pertenecían a cada una de las dos líneas de ratas, FSL o FRL, tomando como base el efecto que produce en su temperatura corporal la administración de OXO. Para este fin se les registró la temperatura rectal basal con un termistor y luego se les inyectó simultáneamente por vía subcutánea una dosis de 3 mg/kg de escopolamina metil bromuro (SCO) (Sigma), antagonista colinérgico muscarínico periférico y una dosis de 0.2 mg/kg de peso de oxotremorina sesquifumarato (OXO) (Sigma), agonista colinérgico muscarínico que actúa a nivel central, disueltos ambos en un volumen de 0.1 ml de solución salina. Quince minutos después, se les registró la temperatura rectal. Aquellos machos provenientes de progenitores FSL, cuya temperatura rectal después de la inyección descendió más de 1.5 °C, fueron seleccionados como pertenecientes a la línea FSL, mientras que aquellos machos provenientes de progenitores FRL cuya temperatura descendió menos de 0.5 °C fueron seleccionados como machos FRL y el resto fue desechado (Overstreet y Rusell, 1982).

Las ratas del grupo control provinieron de la cepa Sprague Dawley (SD) reproducidas al azar, de un pie de cría donado por el Bioterio del Centro Médico Nacional. Se tomaron ratas de esta cepa como controles debido a que las líneas de ratas Flinders originalmente provinieron de esta cepa. Las crías machos de estos cruzamientos fueron seleccionados, destetados y sujetos a las mismas condiciones descritas anteriormente para las ratas Flinders.

#### **8.4.2. Registro de la conducta sexual.**

Cada vez que se registró la CSM se emplearon ratas hembras de la misma edad de la cepa control SD. A estas hembras se les administró por vía subcutánea 5 µg / kg de benzoato de estradiol, disueltos en 0.1 ml de aceite de maíz y 2 mg / kg de progesterona 44 hrs. después del benzoato de estradiol.

Cuatro horas después de la administración de progesterona se seleccionaron las hembras receptoras, empleando para ello machos estímulo sexualmente experimentados. Este tratamiento hormonal se aplicó de manera que la observación de la CSM se realizó en el periodo de oscuridad, iniciándose las pruebas 2 horas después del inicio de esta fase.

Para el registro de la CSM cada uno de los machos fue colocado dentro de un redondel de acrílico transparente de 50 cm de diámetro. 5 minutos antes de empezar el registro, como periodo de habituación. Al finalizar este periodo se introdujeron las hembras receptoras en los redondeles y se registraron los siguientes parámetros e índices : LM, LI, NM, NI, LE, IPE, TA, III, IIC, FE y %SsE.

#### **8.4.3. Metodología particular.**

Se seleccionaron ratas macho SD, FRL y FSL de cinco meses de edad, a los que se les apareó previamente con hembras receptoras, durante 3 pruebas semanales de 30 minutos, para que adquirieran experiencia sexual y eliminar a los que no eyacularan. Posteriormente, a estos machos se les registró la CSM simultáneamente. Para ello se formaron tres subgrupos de seis animales y en cada registro se incorporaron, al azar, de dos machos de cada grupo machos. La observación simultánea de los machos se hizo para evitar que factores como la variabilidad en la receptividad de las hembras, así como otros factores ambientales, afectaran a los machos. Para cada prueba de ES se requirieron dos días consecutivos, por lo que la observación de la CSM de los tres subgrupos se realizó en un lapso de seis días.

Para la prueba de ES, cada uno de los macho de los tres subgrupos fue apareado con la misma hembra receptiva y la prueba concluyó cuando los machos dejaron de presentar conducta sexual (montas o intromisiones) durante 90 minutos seguidos. Veinticuatro horas después del inicio de esta prueba, se volvió a registrar la CSM de la misma manera, empleando hembras receptoras diferentes de las empleadas el primer día.

#### **8.4.4. Análisis estadístico.**

Se compararon los parámetros de la CSM durante el desarrollo de la ES entre los diferentes grupos (control SD, FSL y FRL) mediante un análisis de varianza de Kruskal-Wallis, seguido de la prueba no paramétrica de Newman-Keuls, para determinar entre qué

grupos hubo diferencias significativas. Para determinar la significancia de las diferencias en el porcentaje de sujetos que eyacularon, se empleó la prueba *F* de Fisher (Zar, 1984).

## **8.5. Resultados.**

### **Porcentaje de sujetos que eyacularon.**

Durante la prueba de ES (figura 4 a), los machos FRL fueron los primeros en satisfacer el criterio de ES después de realizar un máximo de 7 eyaculaciones, seguido por el grupo FSL con 9 y, por último, el grupo control SD con 12 eyaculaciones. El decremento observado en las ratas FRL en el %SsE fue estadísticamente significativo (100 vs. 33 % , prueba *F* de Fisher,  $p < 0.05$ ), con respecto al obtenido por las ratas SD y FSL en la 7<sup>a</sup> serie copulatoria (SC) y con respecto a las ratas FSL en la 8<sup>a</sup> SC (67 vs. 0 % , prueba *F* Fisher,  $p < 0.05$ ) .

La figura 4b muestra el %SsE 24 horas después del registro de ES. En el grupo de ratas SD, el 100 % de sujetos eyaculó en la 1<sup>a</sup> SC, el 82 % en la 2<sup>a</sup>, el 50 % en la 3<sup>a</sup> y ninguno eyaculó en la 4<sup>a</sup> SC. Además el porcentaje obtenido por el grupo SD fue mayor que el obtenido por las ratas FSL y FRL en la 1<sup>a</sup> y 2<sup>a</sup> SC, sin llegar a ser significativas estas diferencias. El grupo de ratas que tuvo el menor %SsE fue el de las ratas FRL en la 1<sup>a</sup> y 3<sup>a</sup> SC. Cabe destacar que en este segundo experimento fueron las ratas SD las que llegaron a satisfacer el criterio de ES antes que las dos líneas de ratas Flinders.

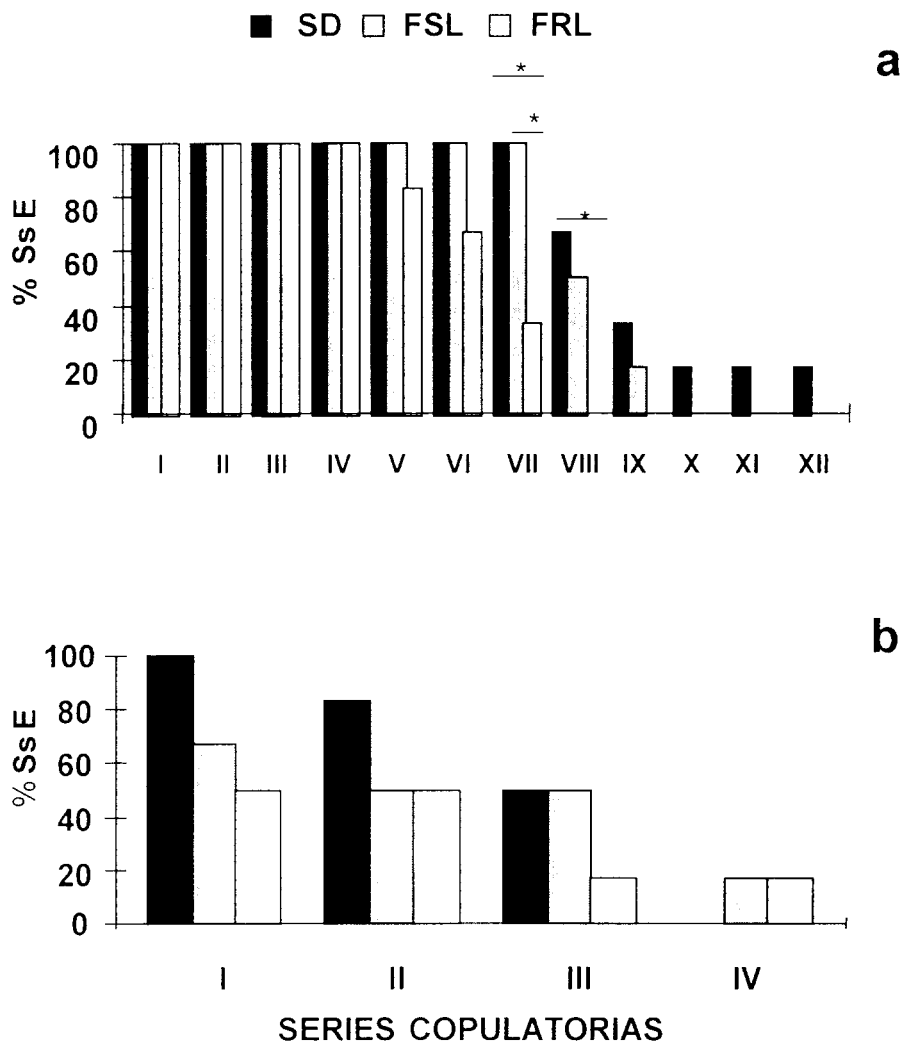


Figura 4. Porcentaje de sujetos que eyacularon (%SsE), durante la prueba de extenuación sexual (a) y 24 h después (b), en tres grupos de ratas : Sprague-Dawley (SD), Flinders Sensitiva (FSL) y Flinders Resistente (FRL) .



### Frecuencia Eyaculatoria.

En la primera prueba de ES, la FE (promedio  $\pm$  desviación estándar) en los tres grupos de ratas fue la siguiente: SD =  $8.4 \pm 0.8$ , FSL =  $7.7 \pm 0.4$  y FRL =  $5.8 \pm 0.5$ . De los tres grupos, sólo la FE de las ratas FRL fue significativamente menor que la de los otros dos grupos ( $p < 0.05$ , prueba de Neuman-Keuls ).

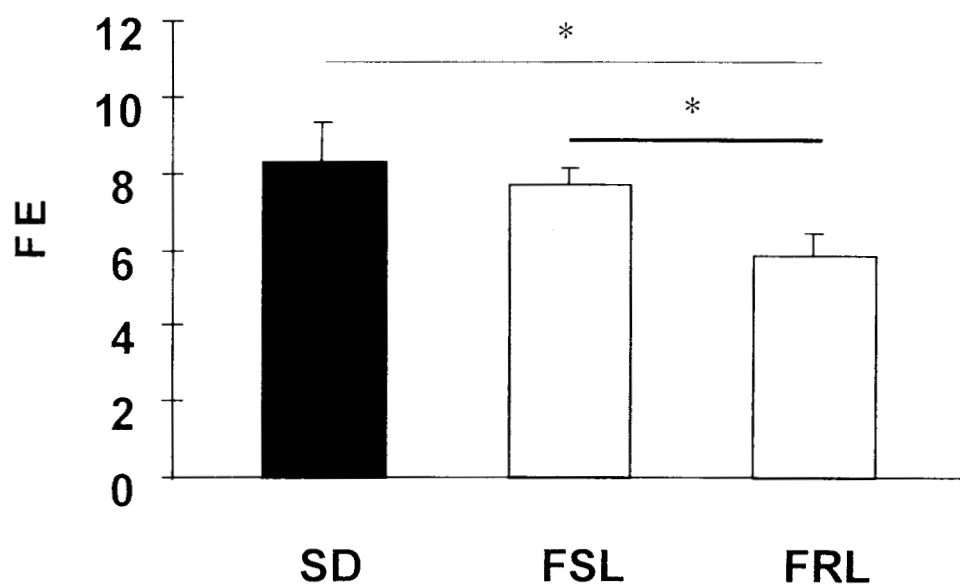


Figura 5. Frecuencia eyaculatoria (FE), promedio  $\pm$  error estándar, durante la primera prueba de extenuación sexual, obtenida por 3 grupos de ratas: SD, FSL y FRL . \*  $p < 0.05$ , prueba de Neuman-Keuls.

### **Latencia de monta y latencia de intromisión.**

Tanto en la LM como en la LI, las ratas que tuvieron los valores más altos fueron las ratas FRL y los más bajos, las ratas SD. Sin embargo, en la LM no hubo diferencias estadísticamente significativas entre las ratas SD, FSL y FRL debido a la considerable variación que se presentó en las ratas Flinders ( promedio  $\pm$  d.e., SD =  $17.3 \pm 23.4$ ; FSL =  $56.3 \pm 62.7$ ; FRL =  $76 \pm 101.9$  seg. figura 6 a).

En cambio, en la LI (figura 6b) se encontraron diferencias entre los grupos (promedio  $\pm$  d.e. SD =  $19.3 \pm 15.9$ ; FSL =  $94 \pm 75.2$ ; FRL =  $180.7 \pm 197.8$  seg ) [  $H(2) = 8.722$ ,  $p < 0.0128$ , ANOVA de Kruskal-Wallis], y la prueba *post hoc* demostró que la LI de las ratas FSL y FRL fue una significativamente más prolongada ( $p < 0.05$ , prueba de Neuman-Keuls) que la de las ratas SD, sin que hubiera diferencias significativas entre ambas líneas de ratas Flinders.

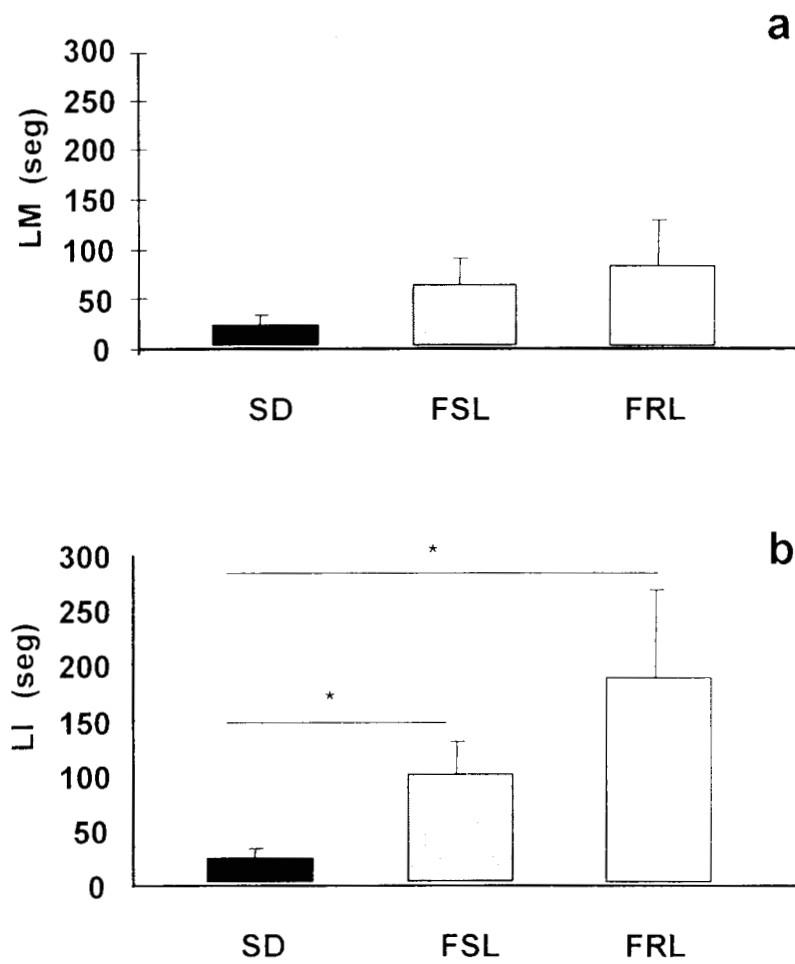


Figura 6. Latencia de monta, LM (a) y de intromisión, LI (b), promedio  $\pm$  error estándar, durante la primera prueba de extenuación sexual, en 3 grupos de ratas : SD, FSL y FRL. \*  $p < 0.05$ , prueba de Neuman-Keuls.

### **Latencia de eyaculación e intervalo posteyaculatorio.**

La figura 7 muestra los resultados de la LE (a) y del IPE (b) durante la prueba de ES. En ella se incluyen sólo las primeras cinco SC debido a que, como se mostró anteriormente, el %SsE disminuye notablemente a partir de la 5ª SC en las ratas FRL (figura 4 a). En los tres grupos de ratas, la LE tuvo un comportamiento bifásico, ya que disminuyó de la 1ª a la 2ª SC y luego aumentó progresivamente. De los tres grupos de machos, el grupo SD tuvo la menor LE en la mayoría de las SC, mientras que los valores más altos los presentaron las ratas FRL. En la 1ª SC se encontraron diferencias significativas entre los grupos (promedio  $\pm$  d.e., FRL =  $765.2 \pm 529.4$ ; FSL =  $617.5 \pm 628$ ; SD =  $266.7 \pm 252.5$  seg. ) [H (2) = 6.117  $p < 0.047$ , ANOVA de Kruskal-Wallis]. El análisis *post hoc* demostró que la LE de las ratas FRL fue significativamente mayor que la LE de las ratas SD ( $p < 0.05$ , prueba de Neuman-Keuls).

En la 4ª SC también se presentaron diferencias significativas entre los grupos (promedio  $\pm$  d.e., FRL =  $751.7 \pm 501.3$ , FSL =  $264.2 \pm 120.3$  y SD =  $243.8 \pm 119.3$  seg.) [H (2) = 6.219  $p < 0.044$ , ANOVA de Kruskal-Wallis] y la prueba *post hoc* demostró que la LE de las ratas FRL en la 4ª SC fue significativamente mayor que la obtenida por las ratas SD y FSL ( $p < 0.05$ , prueba de Neuman-Keuls).

En la figura 7b se observa que el IPE tendió a aumentar progresivamente en todos los grupos de ratas, siendo este aumento mayor en las ratas FRL en todas las SC, con excepción de la 1ª SC.

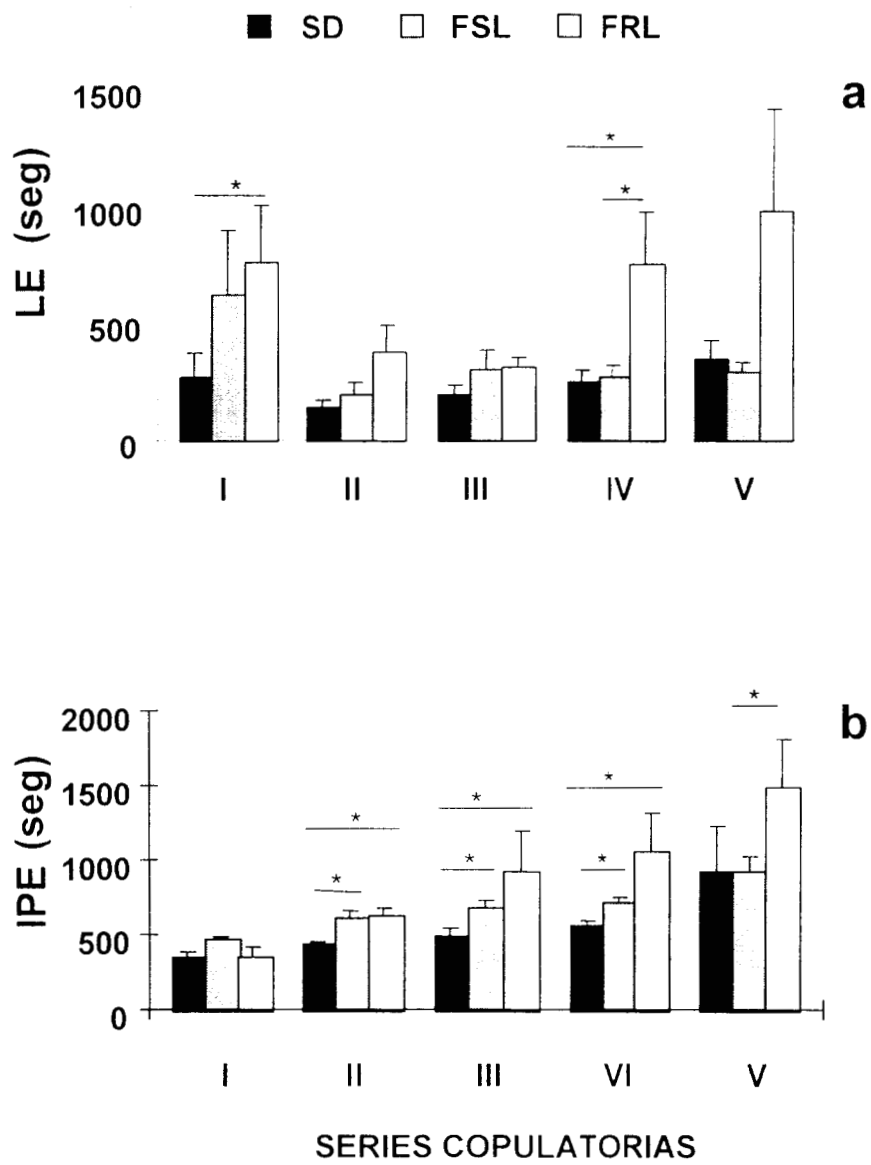


Figura 7. Latencia de Eyacuación. LE (a) y periodo refractario posteyaculatorio, IPE (b). promedio  $\pm$  error estándar, durante la prueba de ES, en 3 grupos de ratas: SD, FSL y FRL. \*  $p < 0.05$ , según la prueba de Newman-Keuls.

En el IPE se encontraron diferencias significativas entre los grupos en la 2ª SC (promedio  $\pm$  d.e. FRL =  $613 \pm 137$ . FSL =  $605 \pm 107$  vs SD =  $415 \pm 65$  seg.), [H (2) = 9.555  $p < 0.0084$ , ANOVA de Kruskal-Wallis], en la 3ª SC (promedio  $\pm$  d.e. FRL =  $902 \pm 634$ , FSL =  $674 \pm 130$  y SD =  $491 \pm 95$  seg.), [H (2) = 9.029  $p < 0.010$ , ANOVA de Kruskal-Wallis], en la 4ª (promedio  $\pm$  d.e. FRL =  $1057 \pm 567$ , FSL =  $788 \pm 191$  y SD =  $545 \pm 98$  seg.), [H (2) = 10.561  $p < 0.005$ , ANOVA de Kruskal-Wallis] y en la 5ª SC (promedio  $\pm$  d.e. FRL =  $1485.6 \pm 730.4$ , FSL =  $918.3 \pm 229.6$  y SD =  $914 \pm 774$  seg.), [H (2) = 6.653  $p < 0.0359$ , ANOVA de Kruskal-Wallis]. Al realizar las pruebas *post hoc* se encontró que tanto las ratas FRL como FSL tuvieron un IPE más prolongado que el del grupo control SD en la 2ª, 3ª y 4ª SC ( $p < 0.05$ , prueba de Neuman-Keuls), mientras que en la 5ª SC, sólo las ratas FRL tuvieron un IPE más largo que las ratas FSL ( $p < 0.05$ , prueba de Neuman-Keuls).

### **Número de montas y número de intromisiones.**

En el NM y NI se observó un comportamiento bifásico en las ratas SD y FRL (figura 8), con un decremento entre la 1ª a la 2ª SC, y luego un aumento progresivo, siendo este aumento más notable en las ratas FRL (figura 8b). En cambio, en las ratas FSL, sólo se observó un decremento entre la 1ª y 2ª SC, y luego se mantuvo prácticamente sin variación en ambos parámetros. Se encontraron diferencias significativas entre los grupos en la 1ª SC (promedio  $\pm$  d.e. FRL =  $8.8 \pm 5.0$ , FSL =  $5.7 \pm 6.7$ , SD =  $2.5 \pm 2.3$ ), [H (2) = 6.055  $p < 0.048$ , ANOVA de Kruskal-Wallis], la 3ª SC (promedio  $\pm$  d.e. FRL =  $7.2 \pm 4.9$ , FSL =  $1.3 \pm$

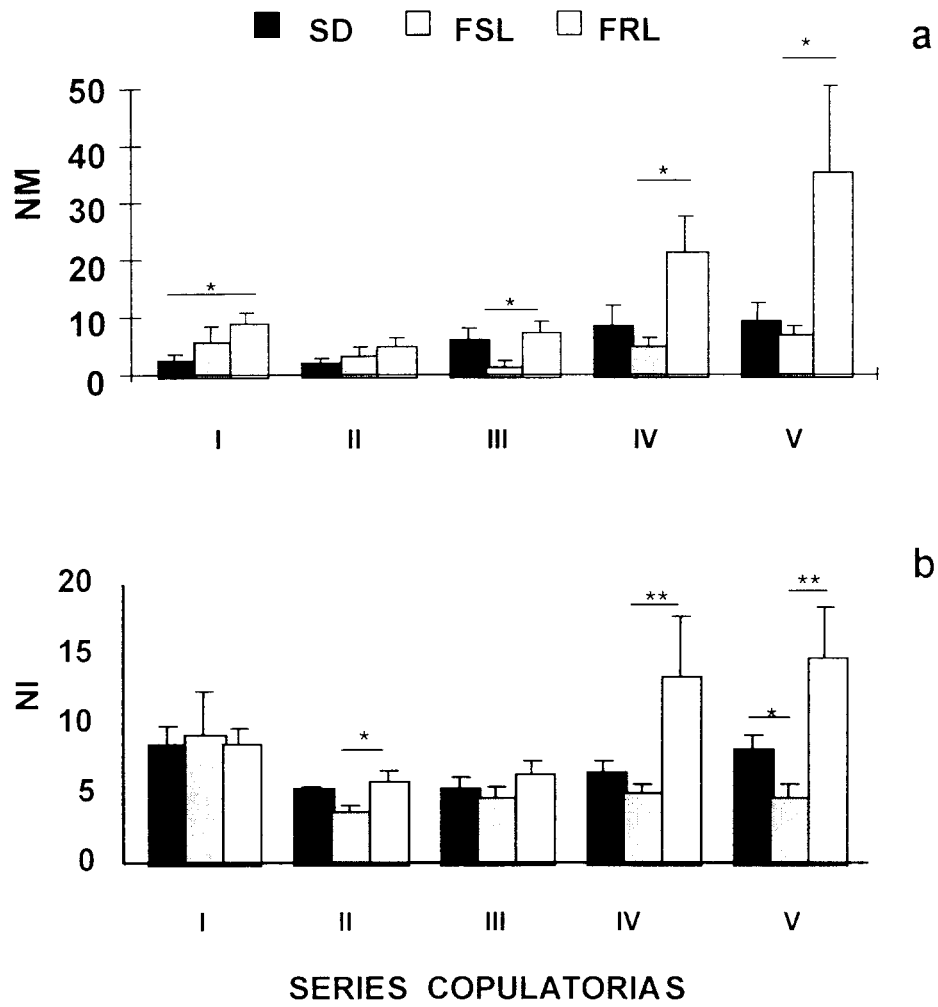


Figura 8. Número de montas (NM) (a) y Número de intromisiones (NI) (b), promedio  $\pm$  error estándar, durante la prueba de ES, en 3 grupos de ratas : SD, FSL y FRL. \*  $p < 0.05$  y \*\*  $p < 0.01$  según la prueba de Newman-Keuls

1.2. SD =  $6.2 \pm 4.4$ ) [H (2) = 6.16  $p < 0.046$ , ANOVA de Kruskal – Wallis ], la 4<sup>a</sup> SC ( promedio  $\pm$  d.e., FRL =  $21.2 \pm 14.6$ , FSL =  $4.7 \pm 4.3$  , SD =  $8.5 \pm 7.8$ ) [H (2) = 6.599  $p < 0.0369$ , ANOVA de Kruskal-Wallis] y la 5<sup>a</sup> SC (promedio  $\pm$  d.e. FRL =  $35.4 \pm 32.7$ , FSL =  $6.7 \pm 4.4$ , SD =  $9.2 \pm 7.3$ ) [H (2) = 6.52  $p < 0.0384$ , ANOVA de Kruskal-Wallis]. El análisis *post hoc* demostró que las ratas FRL tuvieron un NM significativamente mayor que el de las ratas SD, en la 1<sup>a</sup> SC y mayor que el de las ratas FSL en la 3<sup>a</sup> , 4<sup>a</sup> y 5<sup>a</sup> SC ( $p < 0.05$ , prueba de Neuman-Keuls).

En cuanto a las intromisiones, se observaron diferencias significativas entre los grupos en la 2<sup>a</sup> SC, (promedio  $\pm$  d.e. FRL =  $5.8 \pm 1.8$ , FSL =  $3.7 \pm 1.2$ , SD =  $5.3 \pm 0.5$ ) [H (2) = 6.035  $p < 0.0489$ , ANOVA de Kruskal-Wallis], 4<sup>a</sup> SC (promedio  $\pm$  d.e., FRL =  $13.3 \pm 9.7$ , FSL =  $5.0 \pm 1.3$ , SD =  $6.5 \pm 1.9$  ) [H (2) = 7.319  $p < 0.0257$ , ANOVA de Kruskal-Wallis] y 5<sup>a</sup> SC (promedio  $\pm$  d.e. FRL =  $14.6 \pm 8.5$ , FSL =  $4.7 \pm 2.1$ , SD =  $8.2 \pm 2$ ) [H (2) = 0.292.  $p < 0.01$ , ANOVA de Kruskal-Wallis], y las pruebas *post hoc* comprobaron que las ratas FSL tuvieron un NI significativamente menor ( $p < 0.05$ , prueba de Neuman-Keuls) que el de las ratas control SD en la 5<sup>a</sup> SC y que el de las ratas FRL en la 2<sup>a</sup> , 4<sup>a</sup> y 5<sup>a</sup> SC (figura 8b).



### **Intervalo inter-intromisión, intervalo inter-copulatorio y tasa de aciertos.**

El III de las ratas control SD tendió a aumentar ligeramente en cada SC, mientras que el III de las ratas FSL y FRL tuvo un comportamiento más variable (figura 9 a). Las ratas SD fueron las que tuvieron el menor III. comparado con el de las ratas FSL y FRL, sin embargo, sólo en la 1ª SC se encontraron diferencias significativas entre los grupos de ratas (promedio  $\pm$  d.e. FRL =  $89.3 \pm 62$ , FSL =  $61.4 \pm 13.4$ , SD =  $27.3 \pm 16.7$  seg), [H (2) = 7.73  $p < 0.021$ , ANOVA de Kruskal-Wallis] y la prueba *post hoc* permitió determinar que las ratas FSL y FRL tuvieron un III significativamente más prolongado ( $p < 0.05$ , prueba de Neuman-Keuls) que el de las ratas control SD.

Por otro lado, se observó que el IIC del grupo SD en la prueba de ES (figura 9b) fue muy constante y la más baja en todas las SC, mientras que en el grupo FRL se notó una tendencia a disminuir y en el grupo FSL, se encontró una respuesta variable, aunque sus valores fueron los más prolongados en la mayoría de las SC. Se encontraron diferencias entre los grupos en la 1ª SC (promedio  $\pm$  d.e. FRL =  $40.7 \pm 22$ , FSL =  $40.4 \pm 5.8$ , SD =  $19.2 \pm 8.1$  seg) [H (2) = 8.666  $p < 0.0131$ , ANOVA de Kruskal-Wallis] y la 3ª SC (promedio  $\pm$  d.e. FRL =  $27.8 \pm 15.5$ , FSL =  $50.4 \pm 31.2$ , SD =  $18.7 \pm 9.7$  seg), [H(2) = 7.450,  $p < 0.024$ , y las pruebas *post hoc* mostraron que ambas líneas de ratas Flinders tuvieron un IIC significativamente más prolongado que las ratas SD en la 1ª SC ( $p < 0.05$  FRL y  $p < 0.01$  FSL, prueba de Neuman-Keuls), mientras que en la 3ª SC, sólo las ratas FSL tuvieron un IIC

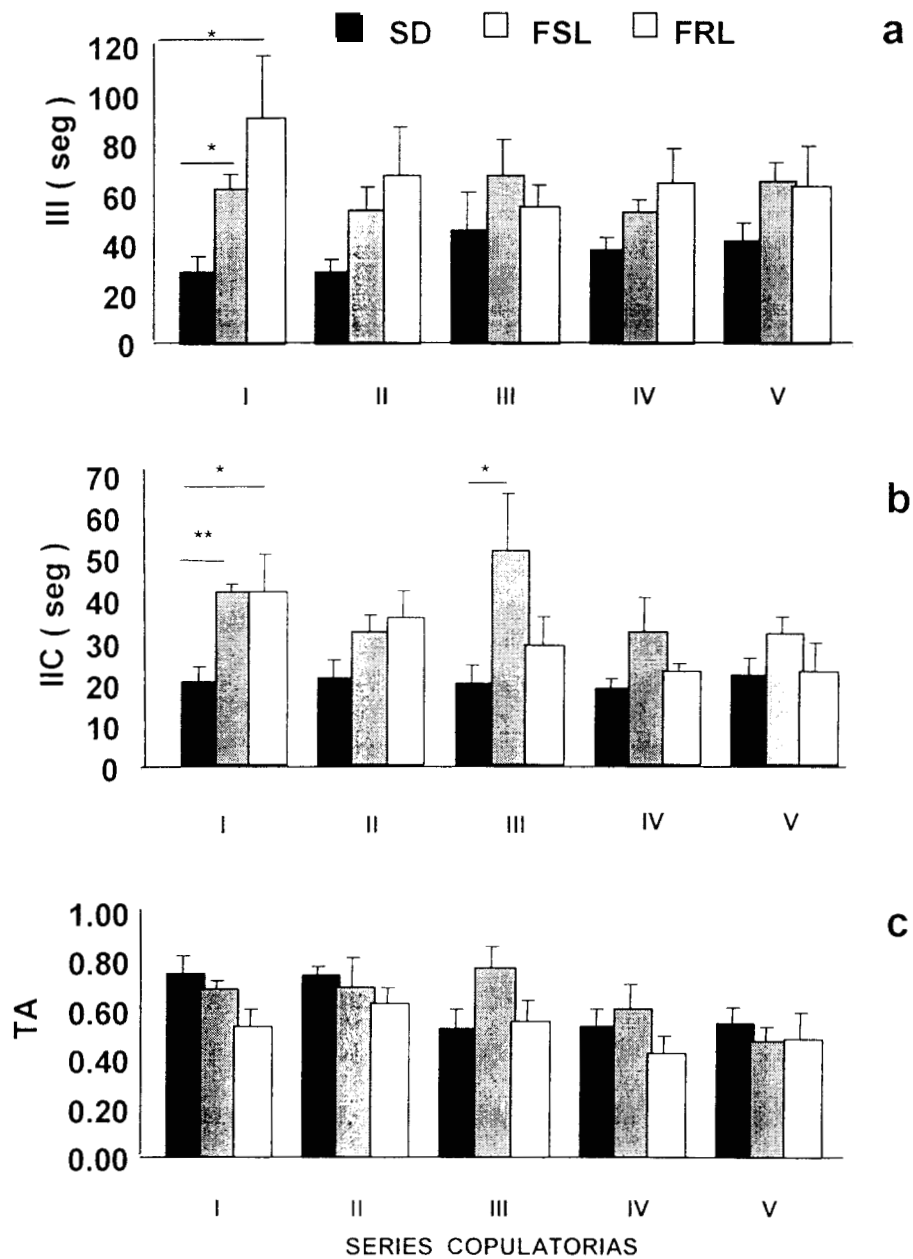


Figura 9. Intervalo Inter-intromisión, III (a), Intervalo Inter-Copulatorio IIC (b) y Tasa de Aciertos TA (c) promedio  $\pm$  error estándar, durante la prueba de ES, en 3 grupos de ratas : SD, FSL y FRL. \*  $p < 0.05$ , de acuerdo con la prueba de Newman-Keuls

significativamente más prolongado ( $p < 0.05$ , prueba de Neuman-Keuls) que el mostrado por las ratas SD.

Por último, en la prueba de ES la TA (figura 9c) tuvo una tendencia a disminuir progresivamente en el grupo control SD en cada SC, correspondiéndole a este grupo el valor promedio más alto en la mayoría de las SC. En cambio, en las ratas Flinders este parámetro tuvo un comportamiento más variable, el cual tendió primero a aumentar y luego a disminuir. En ninguna de las SC se observaron diferencias significativas entre los grupos.

## **8. 6. Discusión.**

Como se mencionó en los antecedentes, se ha propuesto que la línea de ratas FSL se comporta como un animal deprimido, debido a su hipersensibilidad colinérgica genéticamente adquirida (Overstreet, 1993). Si analizamos las características de la CSM que presentan otros modelos animales de depresión (ej. menor %SsA y FE, más prolongadas LM, LI, LE y mayor NM; Bonilla-Jaime et al, 1998; Vogel y Vogel, 1982), podemos notar que algunas de estas características son opuestas a las que manifiestan ratas normales a las que se les estimula el SNT colinérgico en ciertos parámetros (Ej : mayor FE y menor LE y NI (Hull et al, 1986; Retana et al, 1993). De acuerdo con los resultados obtenidos en el presente estudio, tanto las ratas FSL como las FRL mostraron un bajo rendimiento en su CSM, comparada con la observada en las ratas control SD, por lo que presentaron características más semejantes de animales deprimidos, que de aquellos cuyo sistema colinérgico es estimulado. A continuación se analizarán los resultados obtenidos en cada uno de los parámetros, analizando primero los

componentes de la CSM que están vinculados con la motivación, para luego discutir los que tienen que ver con el componente ejecutorio de esta conducta.

### **Porcentaje de sujetos que eyacularon y frecuencia eyaculatoria.**

Debido a las ratas FSL presentan hipersensibilidad colinérgica (Overstreet, 1993), esperábamos que éstas fueran las que tuvieran más eyaculaciones y que por ello fueran las últimas en satisfacer el criterio de ES. Sin embargo, fueron las ratas SD y no las ratas FSL las últimas en hacerlo, y las ratas FRL, las primeras. Además, sólo en las ratas FRL el decremento observado en el %SsE fue significativo comparado con el mostrado por las ratas FSL y SD. El %SsE en los 3 grupos fue del 100 % en las primeras SC, pero a partir de la 5ª SC empezó a disminuir en las ratas FRL, mientras que en las ratas SD y FSL esta reducción ocurrió en la 7ª y 8ª SC respectivamente. Asimismo, en las ratas FRL 50 % SsE en la 6ª SC, mientras que en las ratas SD y FSL este valor se presentó hasta la 8ª SC. Otros investigadores en un estudio de ES semejante al nuestro, realizado con 25 ratas, encontraron que a partir de la 5ª SC los machos empezaron a dejar de eyacular y que en la 8ª SC sólo el 44 % de los sujetos (11 de 25), aún seguían copulando (Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti, 1995). Por lo tanto, si tomamos en cuenta estos resultados obtenidos en el %SsE, la actividad de las ratas SD y FSL fue semejante a la obtenida por otros investigadores, mientras que la de las ratas FRL fue más baja que la reportada por Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti (1995).

En diversos trabajos en los que se ha comparado la conducta de ambas líneas de ratas Flinders con la de la cepa SD en diferentes condiciones, la conducta de las ratas FRL

generalmente ha sido muy semejante a la que presentan las ratas SD y, en muchas ocasiones, su comportamiento ha sido estadísticamente diferente del presentado por las ratas FSL (Overstreet, 1993). El este caso, resultado que obtuvimos con las ratas FRL en el %SsE, FE así como en otros parámetros de la CSM que se describirán más adelante, son de las pocas evidencias que existen hasta ahora de que esta línea de ratas FRL se comporta de manera diferente a las ratas control SD (Overstreet, 1993).

En cuanto a la actividad sexual que presentaron los machos 24 horas después de la prueba de ES, obtuvimos diferencias notables a las mencionadas por otros investigadores. Por ejemplo, se ha mostrado que 24 horas después de la prueba de ES, solamente el 33 % de los sujetos son capaces de continuar copulando hasta la eyaculación y sólo el 10 % es capaz de reanudar la cópula (Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti, 1995). En nuestro caso, 24 horas después de la prueba de ES, el 100 % de las ratas SD, el 66 % de las FSL y el 50 % de las FRL, pudieron realizar la primera eyaculación, lo que significa que todos los grupos de machos tuvieron un rendimiento por arriba del valor reportado anteriormente por Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti (1995). Además, en la 2<sup>a</sup> SC, en los tres grupos de ratas, más del 10 % de los sujetos reanudaron la cópula y eyacularon. Incluso, en el caso de las ratas SD este porcentaje fue bastante alto (80%). Más aún, en el presente estudio el 50 % de las ratas SD y FSL lograron eyacular por tercera vez, mientras que en la 4<sup>a</sup> SC el 16 % de las ratas FSL y FRL (1 individuo) eyaculó, por lo que las ratas Flinders fueron las últimas en dejar de eyacular. Para determinar si las ratas FSL y FRL habían tenido mayor número de eyaculaciones en la segunda prueba, por haber tenido menor FE el día anterior, se analizaron individualmente los resultados de los sujetos; sin embargo no se encontró esta correlación, ya

que algunos de los machos FSL y FRL que eyacularon más en la primera prueba, también lo hicieron en la segunda.

Por otra parte, el hecho de que los tres grupos de machos tuvieran en la segunda prueba de ES, una actividad sexual mayor a la reportada en otros estudios, quizás se deba al reducido número de machos que empleamos, comparados con los empleados en el estudio de Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti (1995) (6 vs. 25) y a la variabilidad que suele haber en la CSM de los machos. De cualquier forma, esperábamos que el rendimiento de los machos de la línea FSL en la segunda prueba fuera mayor que el del grupo control y el reportado por Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti (1995), por la hipersensibilidad colinérgica que tienen; sin embargo, no ocurrió así con las ratas control, pero fue mayor que el porcentaje mencionado por dichos autores.

En otros estudios se ha observado que las ratas requieren 7 eyaculaciones en promedio para obtener el criterio de ES, con un rango entre 5 y 12 eyaculaciones (Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti, 1994 y 1995). Comparado con estos datos, los resultados que obtuvimos en la FE, en los 3 grupos de machos, se mantuvieron dentro del rango reportado. No obstante, en las ratas FRL, la FE fue significativamente menor que el de las ratas SD y FSL.

### **Latencia de monta, intromisión, eyaculación e intervalo posteyaculatorio.**

Como ya se mencionó, la LM, LI y el IPE son parámetros que permiten valorar el componente motivacional de la CSM (Meisel y Sachs, 1994). En este estudio, las ratas FSL y,

principalmente, las ratas FRL se caracterizaron por presentar LM, LI e IPE, más prolongados. Sin embargo, sólo en el caso de la LI y el IPE, ambas líneas tuvieron valores significativamente mayores ( $p < 0.05$ ) que el grupo control SD, lo que nos permite inferir que ambas tuvieron una menor motivación sexual. Cabe agregar que el incremento en el tiempo observado en estos dos parámetros en ambas líneas de ratas Flinders, no estuvo asociado a deficiencias en la actividad locomotora que se pudieran observar a simple vista, aunque no se realizaron pruebas apropiadas para valorarlo cuantitativamente y poder afirmarlo.

Por otro lado, se ha reportado en la prueba de ES, que el IPE tiende a aumentar progresivamente, mientras que la LE tiene un comportamiento bifásico, ya que disminuye entre la 1ª y la 2ª SC, para aumentar después (Larsson, 1979; Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti, 1995). Lo anterior se pudo corroborar en los 3 grupos de ratas en este estudio. Asimismo, sólo las ratas FRL tuvieron una LE significativamente más prolongada que las ratas SD en la 1ª y 4ª SC, mientras que el IPE de ambas ratas Flinders fue significativamente más prolongado que el de las ratas SD, en la 2ª, 3ª y 4ª SC.

### **Número de montas y de intromisiones.**

El NM y el NI son parámetros que están relacionados con el componente ejecutorio de la CSM (Meisel y Sachs, 1994). En nuestro estudio, las ratas FRL fueron las que mostraron los valores más altos en el NM y NI en el transcurso de la prueba de ES, mientras que las ratas FSL obtuvieron los valores más bajos. En la mayoría de los estudios sobre ES no se han reportado o encontrado cambios notables en el NM en el transcurso de esta prueba (para una

revisión, ver Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti, 1995). aunque Larsson (1956), encontró que tiende a aumentar. En cambio, otros autores han reportado que el NI tiende a disminuir conforme se aproxima la ES (Beach y Jordan, 1956, Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti, 1995), o que muestra una tendencia bifásica, con una notable disminución después de la 1ª SC, seguida de un ligero aumento en las SC posteriores (Fisher, 1962; Lawrence y Barfield, 1975, Sura et al, 2001). Al igual que lo reportado por estos últimos autores, en este estudio, en los grupos de ratas SD y FRL, se observó un comportamiento bifásico, tanto en el NM como en el NI, ya que disminuyeron entre la 1ª y 2ª SC y luego se incrementaron progresivamente. Este aumento resultó ser más notable y significativo en las ratas FRL.

En las ratas FSL también se presentó comportamiento bifásico, pero más ligero en el NM, mientras que en el NI primero se observó su disminución y luego una tendencia a permanecer constante, lo cual difiere de lo reportado por Fisher (1962), Lawrence y Barfield (1975), Larsson (1979) y Sura et al. (2001). Debido a que fue en el NM y NI donde se encontró un comportamiento significativamente diferente ( $p < 0.05$ ) entre las ratas FSL y FRL, en ambos casos, fueron estos parámetros los que distinguieron mejor a estas dos líneas. Por lo tanto, las ratas FSL se caracterizaron por tener menor NM y NI que las ratas FRL y menor NI que las ratas SD en varias de las SC.

En los primeros estudios de CSM que se realizaron con ratas Flinders, procedentes de un bioterio estadounidense, una de las características más notables que se observaron fue que ambas líneas presentaron más bajo NI que las ratas control (Velázquez-Moctezuma et al, 1989). En el presente estudio, sólo en las ratas FSL se pudo corroborar este decremento



significativo en el NI. con respecto al obtenido por las ratas SD y FRL, y en especial con estas últimas. Debido a que ambas líneas de ratas Flinders se generaron basándose en su opuesta sensibilidad colinérgica (Overstreet, 1993), es posible que las diferencias observadas entre ellas en el NM y NI se deban a su distinta sensibilidad colinérgica. Así, la hipersensibilidad colinérgica de las ratas FSL estaría provocando la reducción en el NM y NI, mientras que la hiposensibilidad colinérgica de las ratas FRL, estaría generando lo contrario. En apoyo a esta idea, se puede mencionar que varios investigadores han encontrado que la estimulación del SNT colinérgico, mediante la administración de agonistas, provoca la reducción en el NI (Hull et al. 1986; Retana et al, 1993; Soulairac y Soulairac, 1975).

En el caso de las ratas FRL, el incremento observado en el NM, pudo haberse debido a problemas motores o de erección, que dificultaron la ejecución de la cópula. A través de la larga prueba de ES, pudimos observar que conforme se sucedían las SC, aumentaba el NM en las ratas FRL y su ejecución se deterioraba, ya que a simple vista se notaba que disminuía su fuerza, así como el número de movimientos pélvicos, al grado de que poco antes de que cesara su actividad sexual, las montas del macho generalmente estuvieron exentas de movimientos pélvicos evidentes o éstos, cuando ocurrieron, fueron pocos, leves y espaciados. El hecho de que esta conducta se repitiera constantemente, permite suponer que quizás estos machos dejaron de copular más pronto, no porque estuvieran saciados sexualmente o menos motivados, sino porque algo les impidió realizar una cópula adecuada y terminaron por desistir en su intento. Sin embargo, tendríamos que haber sometido a estos machos a pruebas más específicas para poder asegurarlo. Cabe señalar que al final de la prueba de ES fue frecuente observar en las hembras que, ante las montas constantes y débiles realizadas por los machos,

dejaban de realizar el patrón de lordosis y de permanecer inmóviles y se volteaban hacia ellos para agredirlos y ya no se dejaban montar por el macho con la misma facilidad. Otro hecho que permite suponer que la motivación de los machos FRL aún era buena, es que en la prueba realizada 24 horas después de la prueba de ES aún pudieron eyacular el 50 % de ellos.

En la mayoría de los estudios en los que se han administrado antagonistas colinérgicos a ratas normales, no se ha observado que aumente el NM (Bignami, 1966; Hull et al.1991; Leavit, 1969; Soulairac y Soulairac, 1975; ver tabla 2). No obstante, Velásquez y colaboradores (1989), después de administrar el antagonista SCO a ambas líneas de ratas Flinders, en las ratas FSL observaron que el NI aumentó a niveles semejantes a los obtenidos por las ratas control sin fármacos, mientras que en las ratas FRL la SCO incrementó el NM y disminuyó la TA. Los resultados anteriores apoyan la idea de que la disminución en el NI observado en las ratas FSL se debió a su hipersensibilidad colinérgica, mientras que el aumento en el NM de las ratas FRL lo causó su hiposensibilidad colinérgica.

### **Intervalo-inter-intromisión, intervalo inter-copulatorio y tasa de aciertos.**

El III refleja el tiempo promedio que ocurre entre cada intromisión en cada SC y su comportamiento no ha sido analizado o presentado una característica sobresaliente en estudios anteriores de ES, como para ser tomado en cuenta (Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti, 1995). Sin embargo, debido a que en esta prueba el NI tiende a disminuir y la LE a aumentar en cada SC (Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti, 1995), es de suponerse que el III también tienda a incrementarse. Este hecho se observó ligeramente en las ratas SD, mientras que en las

líneas Flinders la respuesta fue más variable. Este parámetro también refleja la motivación del macho, ya que cuando está muy motivado sexualmente, el intervalo entre cada intromisión se reduce. Cabe señalar que este intervalo también depende del componente ejecutorio del macho, y puede prolongarse cuando la receptividad de la hembra no es buena. En nuestro caso, aunque en ambas líneas de ratas Flinders el III fue marginalmente superior al de las ratas SD, esta diferencia sólo fue significativa en la 1ª SC, debido a la gran variabilidad que presentaron en este parámetro.

El IIC tampoco ha sido evaluado en los estudios previos de ES, con excepción del trabajo de Lawrence y Barfield (1975), en el que se demostró que tiene una tendencia bifásica, disminuyendo entre la 1ª y 2ª SC y aumentando después. En el presente estudio, el comportamiento del IIC en los tres grupos, durante las sucesivas SC, fue diferente. En el grupo control SD se mantuvo constante a lo largo de las primeras cinco SC, en el grupo FSL hubo una tendencia a ser bifásica la respuesta, mientras que en las ratas FRL tendió a disminuir. Por lo tanto, el único grupo de machos que se comportó según lo reportado fue el de las ratas FSL. Al igual que sucedió con el III, en la 1ª SC, ambas líneas tuvieron valores significativamente superiores a los mostrados por las ratas SD y sólo es las ratas FSL el IIC fue significativamente más prolongado que el de las ratas SD en la 3ª SC.

La TA refleja la eficiencia copulatoria del sujeto, ya que se calcula dividiendo el número de intromisiones entre el número de intromisiones más el número de montas. Al igual que con el III, no existe mucha información sobre el comportamiento de este parámetro en el transcurso de la prueba de ES, pero puede suponerse que en la medida en que se va

incrementando el NM, la TA va disminuyendo en cada SC. En este estudio se pudo observar, que la TA tuvo una tendencia a disminuir en el grupo control SD en cada SC, mientras que en ambas líneas de ratas Flinders, primero se observó un ligero incremento y luego su disminución. En la mayoría de las SC, la mayor TA correspondió a las ratas SD, pero en ningún caso la diferencia entre los grupos fue significativa. Por tal motivo, la eficiencia copulatoria medida a través de la TA fue semejante en los 3 grupos.

Si comparamos la CSM que presentan otros modelos animales de depresión, como el modelo farmacológico de clomipramina propuesto por Vogel, con la que presentaron las ratas FRL, podemos notar que éstas tuvieron más semejanzas con las ratas deprimidas que con las ratas FSL, por presentar menor %SsE y FE, tener incrementados significativamente la LI, la LE y el NM (Bonilla-Jaime et al. 1998; Vogel y Vogel, 1982). Otras ratas que tienen disminuida la motivación sexual, como lo son las que han satisfecho el criterio de ES, tienen también estas mismas características, aunadas al incremento en el IPE (Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti, 1994). Entre las evidencias que han mostrado que la ES es un fenómeno que ocurre por falta de motivación, más que por un problema en la ejecución por factores periféricos o inespecíficos, como inhabilidad motora o la fatiga, es el hecho de que la ES se ha podido revertir farmacológicamente. Por ejemplo, se ha conseguido que los machos reasuman la cópula y eyaculen después de la ES, mediante la estimulación serotoninérgica (administrando el agonista 5-HT<sub>1A</sub>, el 8-OH-DPAT), la inhibición noradrenérgica (inyectando el antagonista de los receptores adrenérgicos  $\alpha_2$  yohimbina,) o la estimulación dopaminérgica (inyección del agonista dopaminérgico inespecífico apomorfina; Rodríguez-Manzo y

Fernández-Guasti, 1994; Rodríguez-Manzo, 1999a). También es posible reiniciar la CSM en los machos que han satisfecho el criterio de ES mediante la introducción de un nueva hembra receptiva, fenómeno al que se le ha dado el nombre de Efecto Coolidge (Rodríguez-Manzo, 1999b).

Por lo anterior, puede inferirse que las ratas FRL manifiestan una CSM típica de animales que tienen baja motivación. En cambio, las ratas FSL, a pesar de ser un modelo animal de depresión, debido a que sólo presentaron LI e IPE más prolongadas que las ratas control SD, su motivación no fue tan deficiente como la mostrada por las ratas FRL.

Por otro lado, la CSM de las ratas FRL fue comparable con la que presentan ratas normales a las que se les administran antagonistas colinérgicos. Por ejemplo, la administración de atropina o de SCO, ya sea por vía sistémica, directamente en el área preóptica o en el ventrículo lateral, produce el decremento en el %SsA, %SsI, %SsE y en la FE e incrementa significativamente la LM, la LI, la LE y el IPE (ver tabla 3, Bitran y Hull, 1987; Retana et al, 1993). En cambio, al comparar las características de la CSM de ratas a las que se les ha estimulado el sistema colinérgico, con la que presentaron las ratas FSL, podemos notar que éstas sólo fueron similares en la reducción del NI y en el incremento de la LI, pero carecieron del aumento en la FE y la reducción en la LE descrita por otros autores (Ahlenius y Larsson, 1985; Hull et al, 1986; Retana-Márquez y Velázquez-Moctezuma, 1993b).

Considerando la sensibilidad colinérgica opuesta que tienen las ratas Flinders, nosotros esperábamos que aquellos aspectos de la CSM que dependieran de la actividad colinérgica

presentarían resultados opuestos entre las ratas FSL y FRL e intermedios en las ratas SD, lo cual sólo fue posible observarlo en el NI y NM, en los que las ratas FSL tuvieron valores significativamente más bajos que las ratas FRL.

Una posible explicación a esta respuesta contradictoria de las ratas FSL, podría estar en el hecho de que la selección genética de estas ratas, responsable de su mayor sensibilidad colinérgica, ha traído como consecuencia la alteración de otros SNT que también participan en la regulación de la CSM, como son el serotoninérgico, el dopaminérgico y el noradrenérgico. Por ejemplo, en relación al SNT serotoninérgico, se ha mostrado que las ratas FSL tienen un 20% más de receptores  $5\text{-HT}_{1A}$  y  $5\text{-HT}_2$  que las ratas FRL a nivel hipotalámico (Schiller, 1991) y son significativamente más sensibles que las ratas FRL a los agonistas que estimulan este tipo de receptores, como son el 8-OH-DPAT y la quipazina (Overstreet et al, 1996b; Schiller, 1991; Wallis et al. 1988). Además, se ha mostrado que las ratas FSL tienen niveles de SE y de su metabolito, el ácido 5 hidroxí-indolacético (5-HIAA) 3 a 8 veces más alto que las ratas FRL en el NAcc, corteza prefrontal, hipocampo e hipotálamo y la relación 5-HIAA/SE es significativamente más baja que en las ratas FRL, en el NAcc e hipotálamo (Zangen et al, 1997). Para comprender mejor el efecto que podrían tener estas modificaciones del SNT serotoninérgico en la CSM de las ratas FSL, analizaremos otros estudios que se han hecho al respecto. Por ejemplo, recientemente, Overstreet y colaboradores (1996b) han generado líneas de ratas que tiene alta (HDS) o baja sensibilidad (LDS) al agonista 8-OH-DPAT. Las ratas HDS, además de presentar alta sensibilidad al 8-OH-DPAT, como las ratas FSL, tienen mayor cantidad de receptores  $5\text{-HT}_{1A}$  a nivel de la corteza frontal (Overstreet et al, 1996b). En estas mismas ratas se ha investigado el efecto de estas alteraciones

serotoninérgicas, en la CSM (Sura et al. 2001). En dicho estudio, la línea de ratas HDS se caracterizó por presentar una FE significativamente menor y tener LE, IPE e IIC significativamente más prolongados que las ratas control. Por otro lado, existen evidencias de que alteraciones en el SNT serotoninérgico provocan el incremento en el IPE. Por ejemplo, la lesión del lemnisco ventromedial del cerebro medio, a través del cual el hipotálamo recibe información serotoninérgica, provoca el decremento en el IPE (Barfield et al, 1975), mientras que las lesiones de vías serotoninérgicas del rafé y del cerebro medio, así como inyecciones en el ventrículo cerebral de la neurotoxina 5-7 dihidroxitriptamina que lesiona las neuronas serotoninérgicas, producen también el decremento en el IPE, lo que sugiere que la liberación de SE tiene un efecto inhibitorio sobre este índice (McIntosh y Barfield, 1984).

Considerando lo anterior, los incrementos en el IPE e IIC observados también en las ratas FSL, podrían deberse a las alteraciones que presentan en el SNT serotoninérgico, tal y como sucede con las ratas HDS. Por otro lado, el hecho de que en las ratas HDS no se haya presentado la disminución en el NM y NI que se observó en las ratas FSL, permiten suponer que esto se debió a que las ratas HDS no presentan la hipersensibilidad colinérgica de las ratas FSL.

Hasta aquí se ha discutido cómo pudieron haber influido en la CSM de las ratas FSL, las alteraciones que presentan en otros SNT pero, ¿ es posible que en la CSM mostrada por las ratas FRL en la prueba de ES hayan influido alteraciones en otros SNT como las observadas en las ratas FSL? Debido a que las ratas FSL han sido consideradas como modelo animal de depresión, la atención sobre los cambios que pudieran existir en otros SNT se ha centrado en

ellas y no en las ratas FRL, por lo que existen pocos datos al respecto. No obstante, se ha propuesto que el menor umbral para alarmarse o asustarse ante ciertos estímulos auditivos que presentan las ratas FRL hipocolinérgicas, comparado con el que muestran las ratas SD y FSL, posiblemente se debe a que las ratas FRL tienen alterado el sistema de receptores 5-HT<sub>2</sub>, ya que presentan una baja sensibilidad a las drogas que actúan sobre este tipo de receptores (Markou et al, 1994) y porque se ha visto que la administración de agonistas 5-HT<sub>2</sub> disminuyen el tiempo de habituación que requieren ratas normales para dejar de alarmarse con el estímulo auditivo (Geyer y Braff et al. 1982). Desafortunadamente, en el estudio en el que se evaluaron los niveles de SE en las ratas Flinders, no se incluyeron a las ratas SD como grupo control, sino que se asumió que las ratas FRL podrían fungir como controles, en virtud de la semejanza que han mostrado tener con las respuestas de las ratas SD en otras investigaciones. Por lo tanto, no hay un punto de referencia que permita comparar si existen o no anomalías en el SNT serotoninérgico de las ratas FRL además de las ya mencionadas. Sin embargo, existe la posibilidad de que así como la selección genética afectó a las ratas FSL, haya alterado también a las FRL y ésta también sea la responsable de los niveles opuestos de SE que se han encontrado en ambas líneas de ratas y que por ello, los niveles de SE que presentaron las ratas FRL no correspondan necesariamente a los niveles normales que tienen ratas SD reproducidas al azar en las mismas áreas cerebrales ya mencionadas. Una evidencia que apoya lo anterior, es un trabajo en el que se administró el agonista serotoninérgico 5-HT<sub>1A</sub> buspirona a ratas FSL, FRL y Wistar, como control, para valorar el efecto hipotérmico que producía esta droga (Overstreet et al. 1992). En los resultados que se obtuvieron en este estudio, las ratas FSL presentaron hipersensibilidad a esta droga, porque produjo un efecto hipotérmico significativamente mayor ( $p < 0.001$ ;  $- 3.06$  vs  $- 1.84$  °C) al mostrado por las



ratas FRL, mientras que el efecto hipotérmico que tuvo esta droga en el grupo control fue significativamente menor ( $p < 0.05$  :  $-1.41$  vs  $-1.84$  °C) al de las ratas FRL. Lo anterior muestra que las ratas FRL, aunque mostraron subsensibilidad a la buspirona en comparación con las ratas FSL, tuvieron mayor sensibilidad que las ratas Wistar a este mismo agonista. Este hecho sugiere que las ratas FRL como las FSL, pueden tener también alterado el sistema serotoninérgico en ciertas áreas del cerebro.

Más aún, recientemente en ratas FSL y FRL hembras ovariectomizadas, se analizaron los niveles del RNAm que participan en la transcripción de los receptores a  $5\text{-HT}_{1A}$  y  $5\text{-HT}_{2A}$  en áreas relacionadas con el sistema límbico (Osterlund et al, 1999). Comparadas con las ratas FRL, las ratas FSL expresaron niveles inferiores del RNAm que transcribe receptores  $5\text{-HT}_{2A}$  en la corteza perirrinal, amígdala anterodorsal medial y niveles más altos en la región CA 2-3 del hipocampo. Si bien este estudio se realizó con hembras, existe la posibilidad de que en los machos también se presenten niveles opuestos de receptores  $5\text{-HT}_{2A}$  entre las líneas Flinders y que los niveles de estos receptores en las ratas FRL sean diferentes de los que tienen las ratas SD reproducidas al azar, aspecto que sólo se podrá dilucidar cuando se comparen simultáneamente los tres grupos de ratas.

Si las ratas FRL tienen alteraciones en el receptor  $5\text{-HT}_2$ , el efecto que estas modificaciones podrían tener en su CSM, podrían ser semejantes a las que induce la administración crónica de fluoxetina (FLX). La FLX es un inhibidor selectivo de la recaptura de SE, que de manera inmediata aumenta la disponibilidad de este neurotransmisor a nivel sináptico, pero su administración crónica reduce las concentraciones de SE en el cerebro

(Gobbi et al, 1997; Trouvin et al, 1993), al alterar la sensibilidad de los receptores serotoninérgicos en discretas áreas del cerebro y al incrementar la cantidad de receptores 5-HT<sub>2A/2C</sub> en el hipotálamo (Li et al, 1997 a y b; Neumaier et al, 1996).

## 227411

En un estudio en el que se administró FLX durante 14 días a machos a los que se les dejó eyacular 3 veces consecutivas y en machos que fueron sometidos a una prueba de ES, se analizó su CSM un día después de haber terminado el tratamiento (Frank et al, 2000). En el caso de la prueba que sólo evaluó la CSM de los machos durante tres eyaculaciones, los machos tuvieron un bajo %SsE, ya que sólo el 56.24 % de las ratas tratadas con FLX (4 de 9 machos) eyacularon 3 veces, comparado con el 100% del grupo control; además se incrementó significativamente el NM, NI, LE e III en la 3ª SC y se redujo el IPE. Las ratas que sólo tuvieron 2 eyaculaciones, continuaron tratando de montar a las hembras, a pesar de no poder eyacular una vez más, tal y como se observó en las ratas FRL al final de la prueba de ES. De igual manera, en la prueba de ES, en las ratas tratadas con FLX se incrementó en el NM, NI, LE y en la última SC, los machos continuaron tratando de montar a las hembras como lo hicieron las ratas FRL. Debido a que se sabe que la entrada de información sensorial es crítica en la rata macho para lograr la intromisión (Adler y Bermant, 1966; Contreras y Agmo, 1993; Sachs y Barfield, 1970), es posible pensar que tanto en las ratas tratadas con FLX como las ratas FRL tienen alguna alteración en esta entrada de información sensorial que les impide intromitir. Lo anterior permite suponer que alteraciones en el sistema serotoninérgico, pudieron haber influido en la CSM de ambas líneas de ratas Flinders, junto con las que tienen en el sistema colinérgico.

En la discusión del segundo experimento se ampliará el análisis del efecto que pudieron haber tenido las modificaciones en otros SNT en la CSM de las ratas Flinders, en virtud de que en ese experimento se confirmaron algunas de los hallazgos obtenidos en la prueba de ES en estas ratas.

### **8.7 Conclusiones.**

Con base en los resultados obtenidos en este estudio podemos concluir que:

1. La CSM de las ratas FRL se caracterizó por ser la más baja de los tres grupos de ratas macho, debido a que tuvieron menor %SsE, FE y mayor LI, LE, IPE, III e IIC. Esto indica que tienen disminuido tanto el componente motivacional como el ejecutorio, probablemente por presentar menor cantidad de receptores colinérgicos en ciertas áreas del SNC como lo han sugerido Overstreet et al. (1984), Pepe et al. (1988), Overstreet (1991) y Daws y Overstreet (1999).

2. Las ratas FSL presentaron bajo umbral eyaculatorio, es decir, requirieron menor número de intromisiones que las ratas FRL y control para eyacular, posiblemente por presentar menor cantidad de receptores muscarínicos en ciertas áreas cerebrales como lo han propuesto Overstreet et al. (1984), Pepe et al. (1988), Overstreet (1991) y Daws y Overstreet (1999). Además, la reducción en el NI fue similar a la que presentan las ratas control cuando se estimulan los receptores colinérgicos muscarínicos (Ahlenius y Larson, 1985; Hull et al, 1998; Retana-Márquez et al, 1993).

3. La CSM de las ratas FSL fue semejante a la de las ratas FRL por tener incrementada la LI, IPE, III e IIC con respecto al grupo control. Esta disminuida actividad en la CSM de las ratas FSL que posiblemente influyó para que consiguieran el criterio de extenuación sexual antes que las ratas control, no puede explicarse por la hipersensibilidad colinérgica que las caracteriza sino a las alteraciones en otros sistemas de neurotransmisión como el serotoninérgico.

## **9. SEGUNDO EXPERIMENTO :**

Caracterización de la Conducta Sexual Masculina Espontánea de las Ratas Flinders, en Pruebas Semanales.

### **9.1. Antecedentes.**

El desarrollo de la CSM en la rata ha sido objeto de algunos estudios (Baum, 1972; Beach, 1942 a y b; Goldfoot y Baum, 1972; Larsson, 1978; Meisel y Sachs, 1994; Södersten y Larsson, 1975). De acuerdo con estas investigaciones se sabe que el patrón copulatorio completo del macho (monta, intromisión y eyaculación) se presenta entre los 50 y 75 días de edad, dependiendo de la cepa o línea de estudio. Así por ejemplo, las ratas de la cepa Long Evans tienen su primera monta a los 41 días de edad, la primera intromisión a los 44 y la primera eyaculación a los 48 (Meisel y Sachs, 1994); en cambio las ratas de la cepa Royal Victoria tienen la primera intromisión y eyaculación a los 58 días (Baum, 1972.). Por último, los machos de la cepa Dutch Wistar tienen su primera monta, intromisión y eyaculación a los 75 días (Goldfoot y Baum, 1972). En general, el primer patrón de la CSM que aparece es la monta, mientras que la primera intromisión y eyaculación se presentan algunos días después y suelen ocurrir el mismo día (Meisel y Sachs, 1994). Por lo anterior, se puede considerar que a los 3 meses de edad los machos han alcanzado la madurez sexual y que, a partir de esta edad, la CSM se mantiene con pocas variaciones hasta la vejez, edad en la que empieza haber un decremento en esta conducta (Knoll, 1997; Meisel y Sachs, 1994). No obstante, la variabilidad que se presenta en la ejecución de la CSM en las ratas adultas jóvenes, ha

permitido seleccionar machos con alta actividad sexual y machos con baja actividad sexual (Knoll, 1997). Todo esto muestra que pueden existir diferencias significativas en la ejecución de la CSM entre diferentes cepas, como dentro de una misma cepa.

En el estudio de ES que realizamos previamente en las ratas Flinders, pudimos demostrar que en la CSM existen diferencias significativas entre las ratas FSL y FRL y con respecto a las ratas control SD. Ambas líneas Flinders resultaron tener disminuida su CSM, por presentar LI, IPE, III e IIC significativamente más prolongados que los mostrados por las ratas SD. Además, las ratas FSL tuvieron un NI y NM significativamente menor que las ratas FRL. Debido a que en la prueba de ES, las diferencias entre los grupos ocurrieron generalmente después de la 1ª SC en la mayoría de los parámetros, la intención de este estudio fue determinar si estas diferencias aún se reproducen en pruebas semanales más cortas de 30 min. al evaluar sólo los resultados de la 1ª SC.

En un estudio preliminar, realizado en E.U.A. con las dos líneas de ratas Flinders, se pudo demostrar en pruebas cortas de 30 minutos que ambas líneas tuvieron un NI significativamente más bajo que el grupo control (FSL = 5.8 y FRL = 4.6 intromisiones en promedio), sin que por ello la LE fuese más corta (Velázquez-Moctezuma, 1989). En este mismo estudio, con el objeto de demostrar si la reducción en el NI se debía a la hiperactividad colinérgica que tienen las ratas FSL, se les administró a ambas líneas el antagonista colinérgico SCO, lo que provocó en las ratas FSL un aumento en NI semejante al mostrado por las ratas control (8.2 intromisiones en promedio), sin provocar ninguna otra modificación en los demás parámetros evaluados. En cambio, en las ratas FRL la SCO causó el incremento

en el NM y el decremento en la TA. Los resultados anteriores sugieren que la disminución en el NI de las ratas FSL se debe a la hiperactividad colinérgica, mientras que la reducción del NI observado en las FRL en condiciones basales, no parece depender de factores colinérgicos.

### **9.2. Objetivo particular.**

Caracterizar la conducta sexual masculina espontánea en las ratas Flinders, mediante pruebas semanales de 30 minutos.

### **9.3. Hipótesis particular.**

Debido a que en la prueba de extenuación sexual, en ambas líneas de ratas Flinders, hubo un aumento significativo en parámetros como son LI, IPE, III, IIC y tuvieron diferente NM y NI, se espera que estas mismas características que se presentaron en dichos parámetros se confirmen en las pruebas semanales de 30 minutos.

#### **9.4. Metodología particular.**

##### **9.4.1. Obtención y manejo de los animales antes del experimento.**

Los machos empleados en el experimento anterior de ES, fueron nuevamente utilizados 4 semanas después. Durante este periodo uno de los machos SD enfermó y murió, por lo que su número se redujo a 5 machos, mientras que los grupos de machos FSL y FRL continuaron siendo de 6 individuos cada uno. Durante el periodo comprendido entre las semanas 22 y 30 de edad, se les registró su CSM semanalmente en nueve ocasiones consecutivas, en pruebas de 30 minutos. En la quinta semana de este experimento, uno de los machos FSL también enfermó y murió, por lo que su grupo se redujo también a 5 individuos. Las condiciones en que se mantuvieron los animales y se les apareó con hembras receptoras fueron las mismas que se describieron en la metodología general y en el experimento anterior. Las pruebas de conducta se hicieron el mismo día en los tres grupos, empleando para ello las mismas hembras, de modo que los machos de los tres grupos estuvieran sometidos a condiciones equivalentes en cuanto a receptividad de las hembras, así como cualquier otro factor ambiental. Asimismo, el orden en el que se observó cada grupo de machos en cada registro, fue al azar. Los parámetros que se emplearon para evaluar la CSM fueron los mismos que en el experimento anterior.

Durante los 30 minutos de registro se intercambiaron las hembras cada 5 minutos, con el fin de eliminar la habituación que se presenta en los machos poco activos cuando son apareados con una misma hembra. Lo anterior se hizo con el fin de lograr una mayor



estimulación en los sujetos. Con excepción de la FE y el %SsE, el resto de los parámetros que se obtuvieron se evaluaron únicamente para la 1ª SC, debido a que el reducido número de machos que se empleó, en ocasiones no permitió que se tuvieran datos suficientes para promediarlos en las SC subsecuentes.

#### **9.4.2. Análisis estadístico.**

Se comparó la CSM mostrada en cada registro semanal entre los diferentes grupos. (SD, FSL y FRL). Para cada parámetro se aplicó un análisis de varianza de Kruskal-Wallis, seguido de la prueba de Dunn para grupos con un número de sujetos desigual. Los porcentajes de sujetos que eyacularon se compararon mediante la prueba de Fisher (Zar, 1994)

#### **9. 5. Resultados.**

Porcentaje de sujetos que eyacularon.El 100% de los machos, en los tres grupos, eyacularon durante la 1ª SC en todas las pruebas y debido a que no hubo diferencias entre ellos, los resultados no se muestra en la figura 10, pero si se incluyen los obtenidos en la 2ª, 3ª, y 4ª SC durante los nueve pruebas semanales de CSM.

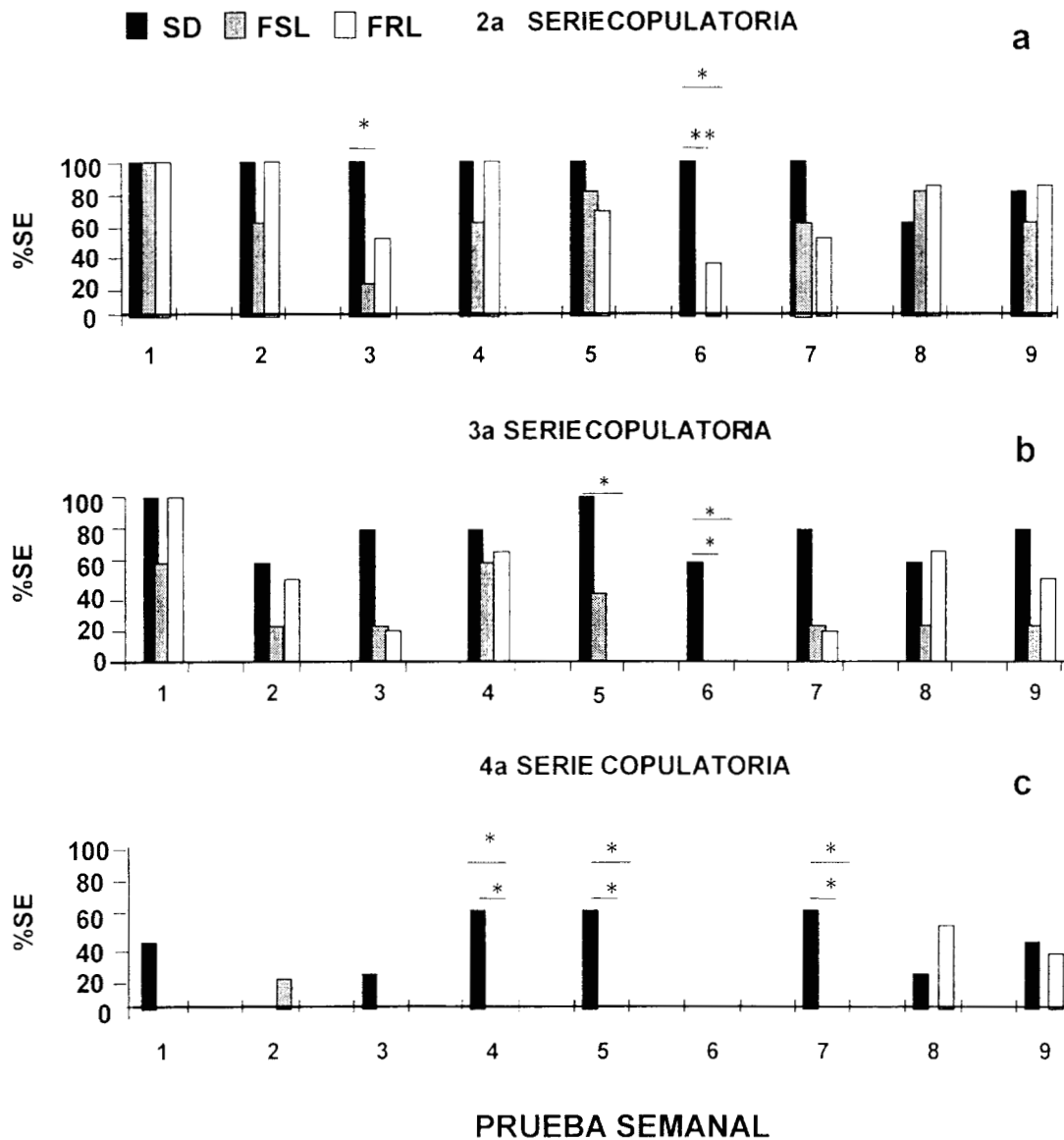


Figura 10. Porcentaje de sujetos que eyacularon (%SE) en la 2ª (a), 3ª (b) y 4ª (c) serie copulatoria, durante nueve pruebas semanales consecutivas de 30 minutos, en tres grupos de ratas macho adultas SD, FRL y FSL. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , según la prueba de Fisher.

Los machos FSL tuvieron un %SsE significativamente menor que el grupo control SD ( $p < 0.05$  y  $0.01$ , según la prueba de Fisher) en la 2ª SC. en la 3ª y 6ª semana, en la 3ª SC. en la 6ª semana y en la 4ª SC. en la 4ª, 5ª y 7ª prueba. Por su parte, las ratas FRL tuvieron un %SsE significativamente menor al del grupo control SD ( $p < 0.05$ , según la prueba de Fisher) en la 2ª SC, en la 6ª semana, en la 3ª SC, en la 5ª y 6ª semana, y en la 4ª SC, en la 4ª, 5ª y 7ª semana de registro. Si bien la baja actividad de las ratas en la 6ª semana podría atribuirse a la menor receptividad que se observó en las hembras, la de las otras semanas no, debido a que la receptividad de las hembras fue buena.

### **Frecuencia Eyaculatoria.**

La actividad copulatoria del grupo control SD durante el periodo de registro (de la semana 22 a la 30 de edad), fue muy uniforme, con ligeras variaciones en la FE (figura 11). Debido a que los tres grupos de machos se observaron el mismo día con las mismas hembras, todos estuvieron sujetos a las mismas variaciones que se presentaron las hembras en su receptividad, la cual, en general, tuvo el nivel deseado, con excepción de la 6ª semana en la que decreció y por ello los 3 grupos de machos mostraron una baja CSM. No obstante, en esta semana el decremento en la receptividad de las hembras no impidió que el 100 % de las ratas SD eyacularan por lo menos dos veces. En cambio, las ratas Flinders, al parecer resultaron ser más sensibles a la baja en la receptividad de las hembras, ya que sólo una de las seis ratas FSL y cuatro de las seis ratas FRL eyacularon en esa semana. Con excepción de esta ocasión, no se notaron anomalías en la receptividad de las hembras, por lo que puede considerarse que esta variable no afectó de manera importante el resto de las pruebas.

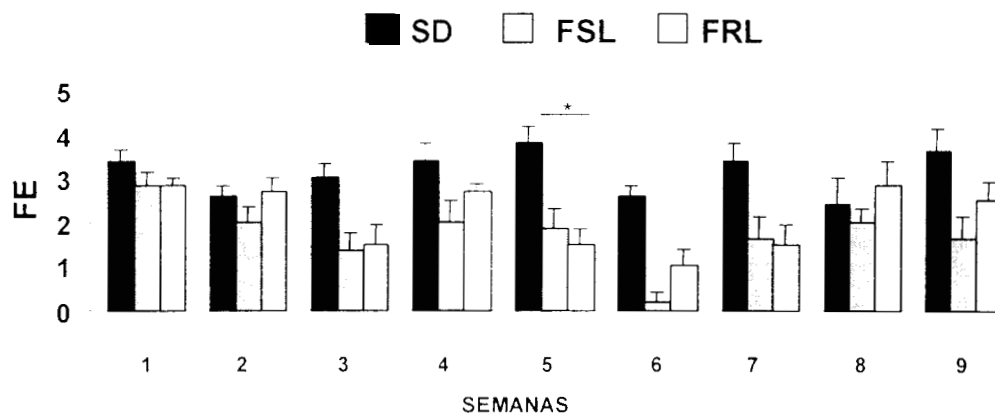


Figura 11. Frecuencia eyaculatoria (FE) , promedio  $\pm$  error estándar, de la primera serie copulatoria presentada por tres grupos de ratas macho adultas SD, FRL y FSL en las pruebas de 30 minutos realizadas semanalmente. \*  $p < 0.05$  de acuerdo a la prueba de Dunn.

Como se puede observar en la figura 11, sólo en la 5ª semana, se hallaron diferencias significativas entre los grupos (promedio  $\pm$  d.e. FRL =  $1.5 \pm 0.8$ , FSL =  $1.8 \pm 1.2$ , SD =  $3.8 \pm 0.8$ ), [H ( 2 ) = 9.037, p < 0.010, ANOVA de Kruskal-Wallis ]. El análisis *post hoc* demostró que las ratas FRL tuvieron una FE significativamente más baja que el de las ratas SD en esta SC (p < 0.05, según la prueba de Dunn).

### **Latencia de monta y latencia de intromisión.**

La figura 12 muestra los valores de LM (a) y LI (b) obtenidos en los nueve pruebas semanales consecutivas de la CSM realizada por los tres grupos de machos. Tanto la LM como la LI de las ratas control SD fue muy semejante en todos los pruebas, en cambio, las ratas Flinders mostraron una mayor variación en estos parámetros. Sin embargo, sólo hubo diferencias significativas en la LM entre los grupos en la 6ª SC (promedio  $\pm$  d.e. FRL =  $496 \pm 231$ , FSL =  $196 \pm 215$  y SD =  $31.8 \pm 22.5$  seg.) [H ( 2 ) = 8.113, p < 0.0173, ANOVA de Kruskal-Wallis] y en la 9ª SC (promedio  $\pm$  d.e. FRL =  $79.3 \pm 45$ , FSL =  $230 \pm 181$  y SD =  $12.6 \pm 5.2$  seg.) [H ( 2 ) = 8.704, p < 0.0129, ANOVA de Kruskal-Wallis] y el análisis *post hoc* demostró que en la 6ª semana de registro la LM de las ratas FRL fue significativamente más prolongada que la del grupo control SD (p < 0.05, prueba de Dunn), mientras que en la 9ª semana, fue la LM de las ratas FSL la que tuvo un valor significativamente mayor que el de las ratas SD (p < 0.05, prueba de Dunn).

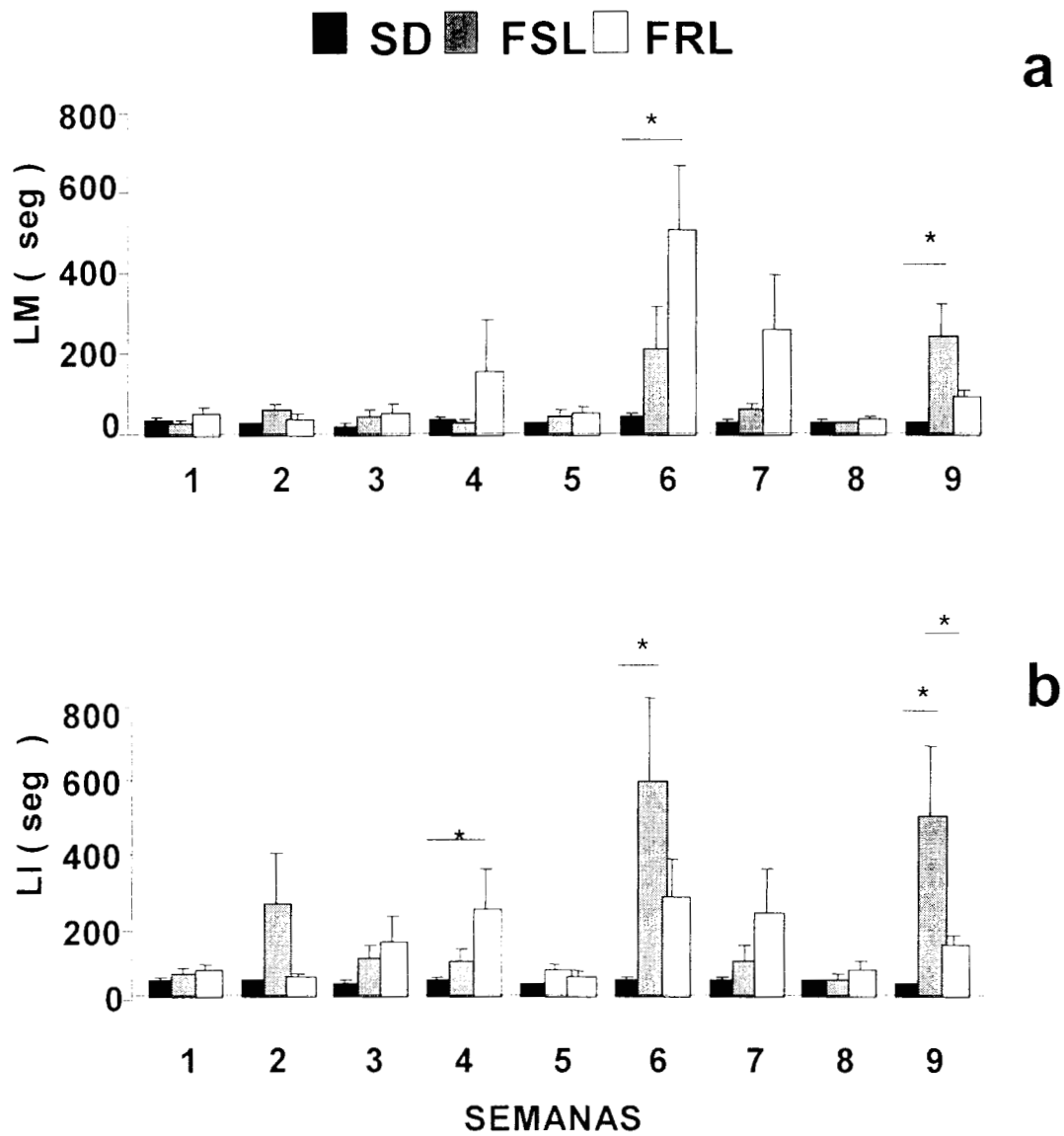


Figura 12. Latencia de monta (LM)(a), Latencia de Intromisión (LI)(b) de la primera serie copulatoria, promedio  $\pm$  error estándar, de tres grupos de ratas macho adultas SD, FRL y FSL, obtenidos en pruebas de 30 minutos realizados semanalmente. \*  $p < 0.05$ , la prueba de Dunn.

En la figura 12b es posible observar que las ratas Flinders presentaron una gran variación en la LI registrada en la 1ª SC. No obstante, sólo se encontraron diferencias significativas entre los grupos en la LI en la 4ª semana (promedio  $\pm$  d.e. FRL =  $213 \pm 281$ , FSL =  $80.5 \pm 81.7$  y SD =  $28 \pm 21.4$  seg.) [H ( 2 ) = 6.180,  $p < 0.0173$ , ANOVA de Kruskal-Wallis], en la 6ª semana (promedio  $\pm$  d.e. FRL =  $249 \pm 208$ , FSL =  $560 \pm 320$  y SD =  $25.2 \pm 12.7$ ), [H ( 2 ) = 8.113,  $p < 0.0173$ , ANOVA de Kruskal-Wallis] y en la 9ª semana (promedio  $\pm$  d.e. FRL =  $123 \pm 58$ , FSL =  $465 \pm 430$  y SD =  $15.6 \pm 7.5$  seg.) [H ( 2 ) = 10.27,  $p < 0.0059$ , ANOVA de Kruskal-Wallis]. Al realizar las pruebas *post hoc* se encontró que las ratas FRL tuvieron la LI más prolongada que la de las ratas SD en la 4ª y 9ª semana ( $p < 0.05$ , prueba de Dunn), mientras que las ratas FSL presentaron la LI más larga que el grupo SD control en la 6ª y 9ª semana ( $p < 0.05$ , prueba de Dunn).

### **Latencia de eyaculación e intervalo posteyaculatorio.**

La LE en los tres grupos de machos fue muy variable a lo largo del periodo de estudio, aunque no tan notable como sucedió con la LM y LI (figura 13a). En general, el grupo de ratas SD presentó valores de LE más bajos. Cabe señalar que casi todos los grupos obtuvieron su valor mínimo en la 4ª semana de registro, pero no se encontraron diferencias significativas entre los grupos de machos en las distintas semanas de observación.

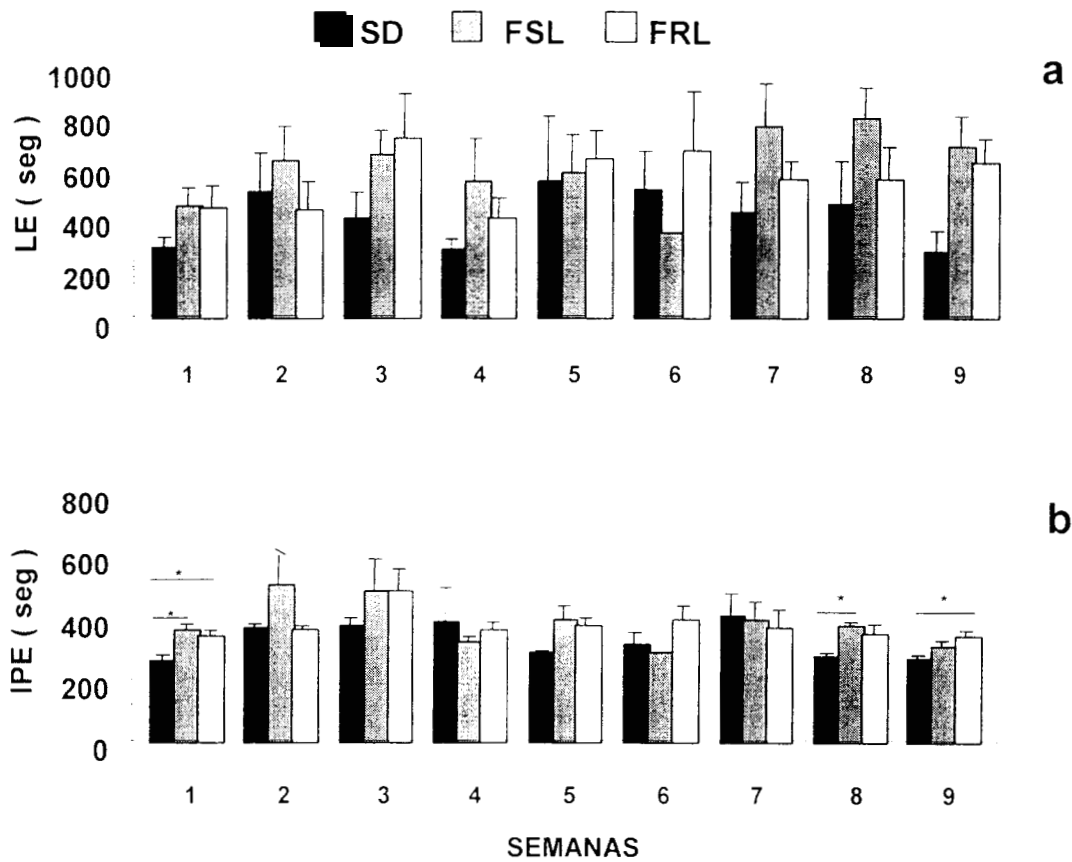


Figura 13. Latencia de eyaculación (LE) (a) y periodo refractario posteyaculatorio (IPE) (b), promedio  $\pm$  error estándar, de la primera serie copulatoria en tres grupos de ratas macho adultas SD, FRL y FSL durante pruebas semanales de 30 minutos. \*  $p < 0.05$ , según la prueba de Dunn.



En el caso del IPE de la 1ª SC. hubo menos variaciones en los tres grupos de machos (figura 13b). Se encontraron diferencias significativas entre los grupos en la 1ª semana (promedio  $\pm$  d.e. FRL =  $529.5 \pm 464$ , FSL =  $355.8 \pm 49.9$ , SD =  $261 \pm 32.4$  seg), [H ( 2 ) = 9.396,  $p < 0.009$ , ANOVA de Kruskal-Wallis], 8ª semana ( promedio  $\pm$  d.e. FRL =  $345 \pm 80.9$ , FSL =  $368 \pm 28.6$ , SD =  $270.6 \pm 37.2$  seg.), [H ( 2 ) = 6.665,  $p < 0.0357$ , ANOVA de Kruskal-Wallis], y 9ª semana ( promedio  $\pm$  d.e. FRL =  $338 \pm 41.8$ , FSL =  $302 \pm 41.7$ , SD =  $265.6 \pm 19.2$  seg) [H ( 2 ) = 6.98,  $p < 0.030$ , ANOVA de Kruskal-Wallis].

Las pruebas *post hoc* demostraron que en la 1ª y 9ª semanas de registro las ratas FRL tuvieron un IPE significativamente mayor al de las ratas SD, mientras que el IPE de las ratas FSL fue mayor que el de las ratas SD en la 1ª y 8ª semana ( $p < 0.05$ , prueba de Dunn).

#### **Número de montas y número de intromisiones.**

En la figura 14 se observa que tanto el NM (a) como el NI (b) de la 1ª SC presentaron variaciones en los tres grupos de machos, pero solamente en la primera semana se encontraron diferencias significativas entre ellos en el NI (promedio  $\pm$  d.e. FRL =  $8.5 \pm 2.1$ , FSL =  $5.8 \pm 1.7$ , SD =  $10.2 \pm 3.3$ ) [H ( 2 ) = 7.788,  $p < 0.020$ , ANOVA de Kruskal-Wallis] y la prueba *post hoc* mostró que las ratas FSL tuvieron el NI significativamente menor al mostrado por las ratas SD ( $p < 0.05$ , Dunn).

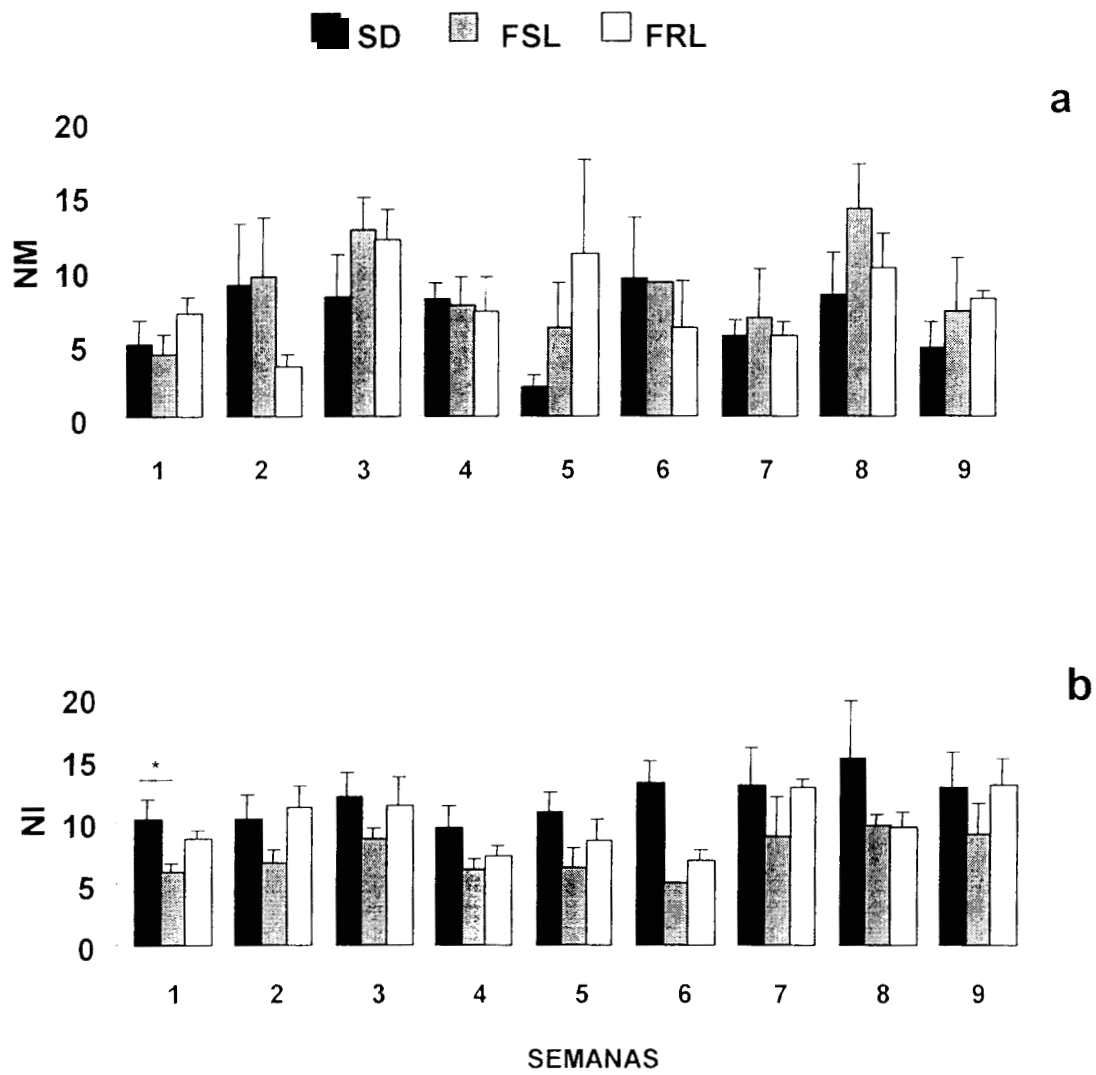


Figura 14. Número de montas (NM)(a) y número de intromisiones (NI)(b), promedio  $\pm$  error estándar, de la primera serie copulatoria de tres grupos de ratas macho adultos SD, FRL y FSL en pruebas semanales de 30 minutos.

### Intervalo inter-intromisión e intervalo inter-copulatorio.

La figura 15 muestra los resultados del III (a) e IIC (b) en los tres grupos de machos. En la tabla 4 se observan los resultados del III de cinco de las nueve semanas en las que se encontraron diferencias significativas entre los grupos, al realizar la ANOVA de Kruskal-Wallis.

**Tabla 4. Resultado del intervalo inter-intromisión (III) de los grupos de ratas macho Sprague-Dawley (SD), Flinders Sensitiva (FSL) y Resistente (FRL), únicamente de aquellas semanas en donde la ANOVA de Kruskal-Wallis demostró que existieron diferencias significativas entre los grupos. Los valores del III se expresan en segundos (promedio  $\pm$  desviación estandar).**

SEMANA	SD	FSL	FRL	ANOVA
1 <sup>a</sup>	26.7 $\pm$ 7.4 seg	80.6 $\pm$ 34.9 seg	49.1 $\pm$ 20.3 seg	H (2) = 10.14 , p < 0.006
3 <sup>a</sup>	30.7 $\pm$ 9.3 seg	73.6 $\pm$ 14.9 seg	61.0 $\pm$ 9.1 seg	H (2) = 10.22, p < 0.006
4 <sup>a</sup>	29.7 $\pm$ 8.9 seg	80.7 $\pm$ 33.4 seg	54.1 $\pm$ 24.3 seg	H (2) = 9.44 , p < 0.009
7 <sup>a</sup>	33.6 $\pm$ 16.6 seg	68.7 $\pm$ 11 seg	42 $\pm$ 10.9 seg	H (2) = 8.69 , p < 0.013
9 <sup>a</sup>	20 $\pm$ 9.5 seg	58.5 $\pm$ 13.3 seg	49.6 $\pm$ 20.4 seg	H( 2 ) = 9.493 , p < 0.009

Las pruebas *post hoc* demostraron que el III de las ratas FSL fue significativamente más prolongado que el de las ratas control SD en la 1<sup>a</sup>, 3<sup>a</sup>, 4<sup>a</sup>, 7<sup>a</sup> y 9<sup>a</sup> semana de registro ( p < 0.05).

prueba de Dunn), mientras que entre los otros dos grupos de ratas Flinders no se observaron diferencias.

Al igual que se presentó con el III. al aplicar la ANOVA de Kruskal-Wallis también se encontraron diferencias significativas en el IIC entre los grupos, mismas que se muestran en la tabla 5.

**Tabla 5. Resultado del intervalo inter-copulatorio (IIC) de los grupos de ratas macho Sprague-Dawley (SD), Flinders Sensitiva (FSL) y Resistente (FRL), únicamente de aquellas semanas en donde la ANOVA de Kruskal-Wallis demostró que existieron diferencias significativas entre los grupos. Los valores del IIC se expresan en segundos (promedio  $\pm$  desviación estandar).**

SEMANA	SD	FSL	FRL	ANOVA
1ª	20.0 $\pm$ 9.2 seg	48.5 $\pm$ 24.7seg	27.4 $\pm$ 12.2 seg	H (2) = 6.76, p < 0.0341
3ª	19.6 $\pm$ 4.8 seg	29.6 $\pm$ 2.0 seg	31.8 $\pm$ 8.0 seg	H (2) = 8.66, p < 0.0132
4ª	15.9 $\pm$ 4.9 seg	36.9 $\pm$ 10.6 seg	28.6 $\pm$ 5.8 seg	H (2) = 10.78, p < 0.0046
7ª	22.2 $\pm$ 9.8 seg	40.3 $\pm$ 7.6 seg	29.3 $\pm$ 6.2 seg	H (2) = 6.40, p < 0.0406
9ª	15.1 $\pm$ 7 seg	34.1 $\pm$ 6.6 seg	31.5 $\pm$ 10.9 seg	H(2) = 7.62, p < 0.0221

En el análisis *post hoc* se encontró que el IIC de las ratas FSL fue significativamente más prolongado que el de las ratas SD en la 1ª, 3ª, 4ª, 7ª y 9ª semana (p < 0.05, prueba de Dunn). Además, el IIC de las ratas FRL fue significativamente mayor que el de las ratas SD en la 3ª semana ( p < 0.05, prueba de Dunn).

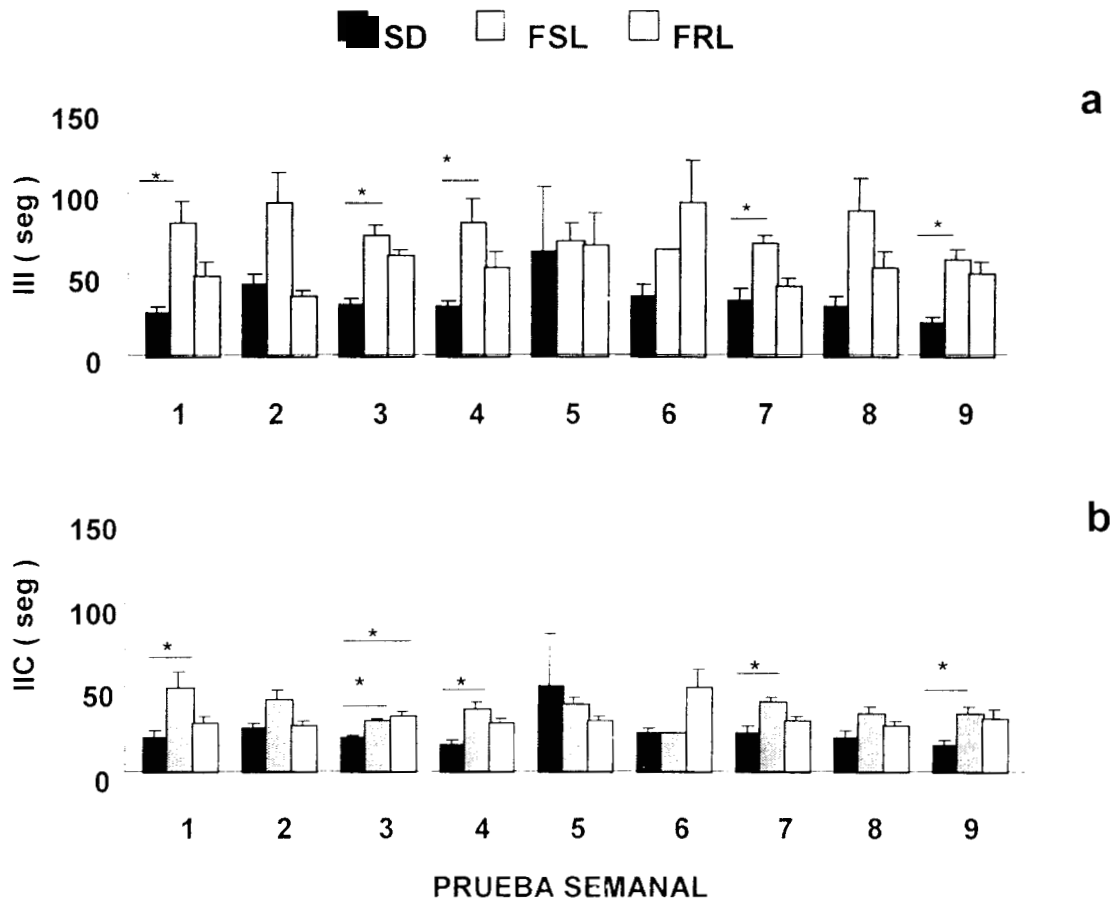


Figura 15. Intervalo Interintromisión (III) (a) e Intervalo Intercopulatorio (IIC) (b) de la primera serie copulatoria de tres grupos de ratas macho adultas SD, FRL y FSL, obtenidos en pruebas semanales de 30 minutos. \*  $p < 0.05$ , según la prueba de Dunn.

### Tasa de aciertos.

En el caso de la TA de la 1ª SC (figura 16), se pudo observar que se presentaron variaciones en los 3 grupos de machos a lo largo de las nueve semanas, obteniéndose diferencias significativas entre ellos (ANOVA de Kruskal-Wallis) solamente en algunas semanas, mismas que se muestran en la tabla 6.

Tabla 6. Resultado de la tasa de aciertos (TA) de los grupos de ratas macho Sprague-Dawley (SD), Flinders Sensitiva (FSL) y Resistente (FRL), únicamente de aquellas semanas en donde la ANOVA de Kruskal-Wallis demostró que existieron diferencias significativas entre los grupos. Los valores de la TA se expresan como promedio  $\pm$  desviación estandar.

SEMANA	SD	FSL	FRL	ANOVA
2ª	0.59 $\pm$ 0.12 seg	0.46 $\pm$ 0.18 seg	0.77 $\pm$ 0.13 seg	H (2) = 6.33, p < 0.0421
3ª	0.67 $\pm$ 0.21 seg	0.42 $\pm$ 0.10 seg	0.53 $\pm$ 0.15 seg	H (2) = 6.185, p < 0.0454
9ª	0.76 $\pm$ 0.07 seg	0.61 $\pm$ 0.20 seg	0.61 $\pm$ 0.07 seg	H(2) = 6.187, p < 0.045

Las pruebas *post hoc* mostraron que las ratas FSL tuvieron una TA significativamente menor ( p < 0.05, prueba de Dunn), a la que presentaron las ratas FRL y SD en la 2ª y 3ª semana de registro, respectivamente. En cambio, las ratas FRL tuvieron una TA significativamente menor a la de las ratas SD ( p < 0.05, prueba de Dunn) en la 9ª semana.

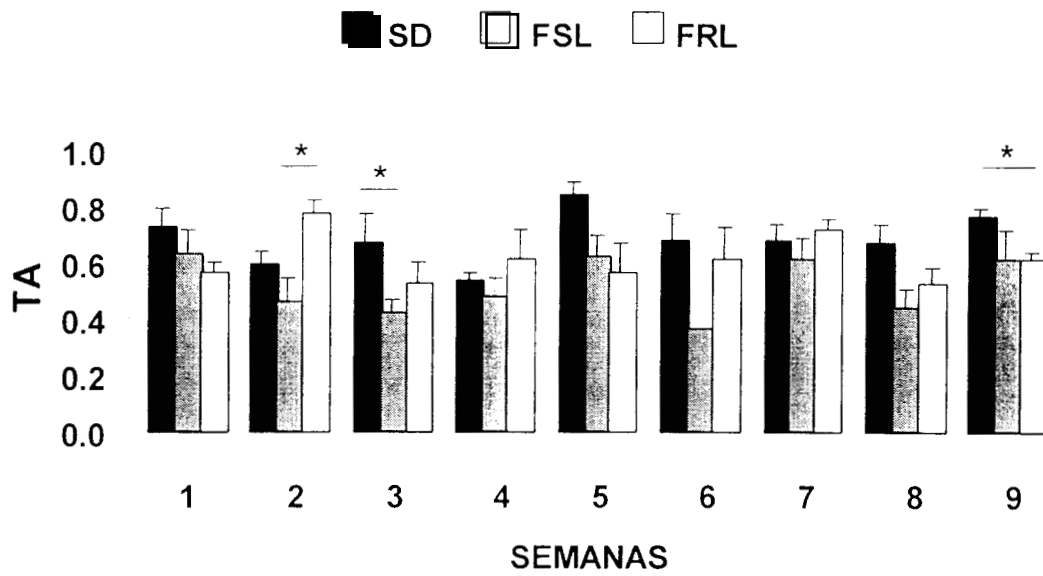


Figura 16. Tasa de aciertos (TA) de la primera serie copulatoria de tres grupos de ratas macho adultas SD, FRL y FSL, obtenidos en pruebas semanales de 30 minutos. \*  $p < 0.05$ , según la prueba de Dunn.

## 9.6. Discusión.

Durante las pruebas semanales de 30 minutos sólo se pudieron observar diferencias entre los grupos de machos en algunas ocasiones, a pesar de haber utilizado los mismos sujetos que en la prueba de ES. No obstante, en este experimento se volvió a corroborar que ambas líneas de ratas Flinders tuvieron una CSM menor a la mostrada por las ratas SD. Por ejemplo, en algunas semanas el %SsE fue significativamente menor en ambas líneas de ratas Flinders, y sus LM, LI e IPE más prolongados que los del grupo control. Además, tal y como sucedió en la prueba de ES, las ratas FRL tuvieron una FE significativamente menor a la de las ratas SD (5ª semana), mientras que las ratas FSL presentaron un decremento en el NI (1ª semana), con respecto a la obtenida por el grupo control. Aunado a lo anterior, las pruebas semanales de 30 minutos hicieron más evidente en las ratas FSL, el incremento en el III e IIC con respecto al grupo control SD en varias semanas (5 de 9), mientras que las ratas FRL solamente presentaron un IIC significativamente mayor en una de las semanas de registro (la 3ª). Por último, las ratas FRL tuvieron una TA significativamente menor a la de las ratas SD en la 9ª semana de registro, mientras que las ratas FSL tuvieron una TA significativamente menor a la del grupo FRL y control SD en la 2ª y 3ª semana de registro, respectivamente.

De todas las diferencias que se observaron en la CSM de las ratas Flinders, durante las nueve semanas, el incremento significativo del III e IIC de la 1ª SC que ocurrió en las ratas FSL respecto a los obtenidos por el grupo control fue el más consistente, ya que se presentó en 5 de las 9 semanas. Además, este mismo hecho se presentó en la 1ª SC durante la prueba de ES, en ambas líneas de ratas Flinders. En cambio, en las ratas FRL, el IIC fue



significativamente más prolongado que el del grupo control sólo en una de las nueve semanas analizadas.

Si tomamos en cuenta que el incremento en el III e IIC puede deberse tanto al aumento en la LE como a la reducción en el NI y NM, es posible que el incremento en el III e IIC observado en las ratas FSL se haya debido, principalmente, a la reducción en el NI y NM, causado por su hipersensibilidad colinérgica, mientras que el incremento observado en las ratas FRL en el IIC, se haya debido, principalmente, al aumento en la LE, provocado por su hiposensibilidad colinérgica. Lo anterior estaría fundamentado en el hecho de que se ha mostrado que la estimulación colinérgica en ratas normales produce un decremento en el NI (Ahlenius y Larsson, 1985; Hull et al. 1986; Retana et al, 1993), mientras que la administración de antagonistas colinérgicos provoca el incremento en la LE (Duran et al, 2000, ver Tabla 2).

Como ya se mencionó en la discusión del experimento de ES, en un estudio previo realizado en las ratas Flinders, la administración del antagonista colinérgico SCO-HCl produjo en las ratas FSL que el bajo NI que caracteriza a estas ratas aumentara al nivel que tuvieron las ratas del grupo control, mientras que en las ratas FRL la SCO-HCl produjo un aumento en el NM, lo que apoya la participación del SNT colinérgico en la regulación de estos parámetros (Velázquez-Moctezuma et al, 1989).

El incremento observado en el III también se ha podido inducir si se administra el agonista muscarínico OXO en el ventrículo lateral de la rata, pero cuando se aplica en el APO,

no ocurre tal aumento, pero si la reducción en el NI (Hull et al, 1986). Lo anterior significa que el sistema que determina la ejecución de las intromisiones esta vinculado al APO, mientras que el que regula la rapidez con que ocurren estos eventos, esta localizado fuera del APO en zonas contiguas al ventrículo lateral y que ambas son susceptibles de la estimulación colinérgica (Hull et al, 1986).

Por otra parte, se ha mostrado que la hipersensibilidad colinérgica inducida mediante la administración crónica de antagonistas colinérgicos, ha producido, en algunos parámetros de la CSM, resultados semejantes a los que se observaron en las ratas FSL durante las pruebas semanales de 30 minutos Retana-Marquez y cols. (1993), basándose en la evidencia de que el bloqueo de receptores colinérgicos en la rata induce temporalmente hipersensibilidad colinérgica, porque aumenta los receptores colinérgicos en el cerebro (Majocha y Baldessarini, 1984), trataron de inducir en dos grupos de ratas Wistar hipersensibilidad colinérgica, como la que presentan las ratas FSL, mediante la administración sistémica y crónica (durante 17 días), de los antagonistas colinérgicos SCO-HCl (que actua tanto a nivel central como periférico) y de SCO-HBr (que actúa sólo periféricamente). Cuarenta y ocho horas después de este tratamiento, se les inyectó a los dos grupos de machos SCO-HBr y 15 minutos después, una dosis baja del agonista colinérgico OXO, para que actuara sólo centralmente, con el objeto de analizar el efecto de estos tratamientos en la CSM. En lugar de obtenerse el incremento en la CSM que se ha mostrado que produce la administración de OXO, tanto el bloqueo colinérgico central con SCO-HCl, como el periférico, con SCO-MBr, produjeron el decremento significativo de la FE y TA, así como el aumento significativo en la LE, NM e III (Retana et al, 1993). Comparada con la respuesta que mostraron las ratas FSL durante las pruebas

semanales, la CSM de las ratas Wistar a las que se les indujo hipersensibilidad colinérgica, fue semejante en el decremento en la TA y en el incremento del III; además, aunque en las pruebas semanales no se observó que disminuyera significativamente la FE en las ratas FSL, el %SsE fue significativamente menor en varias semanas. No obstante, en las ratas Wistar tratadas crónicamente con agonistas colinérgicos, no se observaron los incrementos en el IPE, IIC, ni la disminución en el NI que ocurrió en las ratas FSL. La CSM que mostraron las ratas Wistar ante la estimulación con OXO, después de haber sido tratadas crónicamente con antagonistas colinérgicos, fue diferente de la estimulación aguda con OXO, posiblemente porque el tratamiento crónico con agonistas modificó otros SNT, además del colinérgico, de la misma manera que lo hizo en las ratas FSL la selección genética que causó su hipersensibilidad colinérgica (Overstreet et al. 1996).

En cuanto a las características que presentaron las ratas FRL en las pruebas de 30 minutos, sólo en algunas de las semanas mostraron un decremento significativo en el %SsE y FE, así como un incremento significativo en la LM, LI, IPE e IIC. Con excepción del incremento en la LM, estos mismos resultados se han observado luego de la administración de diferentes antagonistas (Bignami, 1966; Duran et al, 2000; Hull et al, 1986; Leavit, 1969; Retana et al 1993; Soulairac y Soulairac, 1975). Lo anterior permite suponer que la CSM mostrada por las ratas FRL en ambos experimentos, fue congruente con lo que se esperaba de ellas, dada su hiposensibilidad colinérgica. Cabe agregar que, debido a que el incremento en el IIC sólo se ha descrito con la administración intratecal de antagonistas (Duran et al, 2000), pero no con la inyección intraventricular o en el APO (Hull et al. 1991), es posible que este

efecto se haya debido a que las ratas FRL también presentan una hiposensibilidad colinérgica a nivel periférico.

Es posible que algunas de las características de la CSM que mostraron las ratas Flinders, tanto en la prueba de ES, como en las semanales de 30 minutos, se deban no sólo a su diferente sensibilidad colinérgica, sino también a las alteraciones que han sufrido estas ratas en otros SNT, en áreas del cerebro involucradas en la regulación de la CSM. Por ejemplo, el aumento en la LI e IPE, así como la disminución NI observada en las ratas FSL tanto en la prueba de ES, como en las pruebas semanales, podría estar relacionada con las alteraciones del SNT serotoninérgico que tienen estas ratas en la corteza prefrontal, que consisten en niveles intracelulares de SE tres veces más altos que los de las ratas control y una mayor cantidad de sitios de unión a receptores 5-HT<sub>1A</sub> (Schiller, 1991; Zangen et al, 1997). Se sabe que la corteza prefrontal está involucrada en la motivación y el aprendizaje, así como en muchas respuestas motoras y autonómicas. Además, se ha observado que su lesión produce el decremento de la FE y del NI en la 1ª SC, así como el incremento en la LM y LI. (Agmo et al, 1995), lo que sugiere que la corteza prefrontal participa en la regulación del inicio de la CSM.

Por otra parte, las ratas HDS que muestran como las ratas FSL una alta sensibilidad al 8-OH-DPAT, por poseer una mayor concentración de receptores 5-HT<sub>1A</sub> en la corteza prefrontal, se asemejan a las ratas FSL por presentar una menor FE y LI, IPE y IIC más prolongados (Knapp et al.1998; Sura et al, 2001). Debido a que la corteza prefrontal recibe proyecciones recíprocas de áreas autonómicas del tallo cerebral (Neafsey, 1986; Terreberry y

Neafsey, 1987) y que durante la eyaculación se incrementa el ritmo respiratorio y cardiaco y cambia el flujo sanguíneo (Fox y Fox, 1971), estas respuestas podrían ser las que determinaran la duración del IPE. Una posible vía para que este efecto ocurra, podría ser la del hipotálamo lateral, ya que recibe información de la corteza y se proyecta hacia áreas del tallo cerebral que controlan reflejos cardiacos y respiratorios (Allen y Cechetto, 1993; Holstege, 1987). De acuerdo con lo anterior, las modificaciones serotoninérgicas que presentan las ratas FSL en la corteza prefrontal podrían ser las responsables de que se prolongue la LI, el IPE y el IIC en ellas.

Al parecer el problema que tienen las ratas FSL en el sistema serotoninérgico, radica en su incapacidad para liberar SE, lo que provoca que los niveles intracelulares de este neurotransmisor sean significativamente más altos que los de las ratas FRL en el NAcc, corteza prefrontal, hipocampo e hipotálamo (Zangen et al, 1997). Lo anterior se dedujo porque en este estudio, la relación 5-HIAA / SE de las ratas FSL, fue significativamente más baja en el NAcc y en el hipotálamo que en otras áreas cerebrales, lo que indica que el metabolismo de la SE fue más bajo. Apoyados en estos resultados, estos autores han propuesto que el aumento en los niveles de SE en las ratas FSL, se debe principalmente a un decremento en su liberación, más que a una menor actividad de la enzima monoamino oxidasa, que transforma a la SE en 5-HIAA. Otra evidencia que confirma esta idea, es el hecho de que en este mismo trabajo se demostró que la administración de desipramina, un inhibidor de la recaptura de NE que aumenta la liberación de SE, normalizó los niveles intracelulares altos de SE y la baja relación 5-HIAA / SE en las ratas FSL (Zangen et al, 1997).

A las alteraciones que tienen las ratas FSL en el sistema serotoninérgico, podrían haberse agregado también las que presentan en el sistema dopaminérgico (DA) y haber influido en su CSM. Se ha observado que las ratas FSL tiene también problemas en la liberación de DA. Por ejemplo, las ratas FSL, comparadas con las ratas SD, tienen niveles intracelulares de DA dos veces más altos en el estriado, hipocampo e hipotálamo y 6 veces más altos en el NAcc (Zangen et al, 1999), mientras que sus niveles extracelulares de DA en este último núcleo son 40% más bajos que los de las ratas control SD y no producen la liberación de DA que ocurre en las ratas control SD, cuando se les administra SE en el NAcc (Zangen et al. 2001). En este mismo estudio, debido a que la administración del antidepresivo desipramina produjo en las ratas FSL la normalización en los niveles de DA en el NAcc y reanudó las interacciones SE-DA observadas en las ratas controles, estos autores propusieron que la falta de motivación que presentan las ratas FSL, que las hace comportarse como un animal deprimido, podrían deberse a la incapacidad de su sistema serotoninérgico para estimular la liberación de DA en el NAcc (Zangen et al, 2001).

Lorrain y colaboradores han propuesto que en la motivación sexual existe una interacción SE-DA en el NAcc que apoya lo anteriormente expuesto (Lorrain et al, 1999). Se sabe que el NAcc es la principal área terminal del sistema mesolímbico, cuya función es crítica para la expresión de las conductas apetitivas y de reforzamiento: tales como cópula, comer, beber, auto-administración de drogas y autoestimulación intracerebral (Hull et al.1999). En cuanto a su papel en la regulación de la CSM, se ha observado que varias de las condiciones que motivan la cópula en el macho, como son la exposición del macho al olor de una hembra en estro o bien su presentación a través de una barrera que impide el acceso del

macho a ella, incrementan la liberación de DA en el NAcc (Damsma et al, 1992), en cambio la presencia de hembras que no están en estró no desencadenan esta misma respuesta (Fumero et al,1994; Mas et al. 1990; Wenkstern et al. 1993). Además, se ha observado que los niveles de DA se incrementan en el NAcc durante la cópula hasta que ocurre la eyaculación, para luego decrecer durante el IPE (Lorrain et al. 1999). Este incremento en los niveles de DA durante la actividad sexual es muy específico, ya que otro tipo de actividades que realiza la rata que dependen de la motivación, como comer o presentar actividad locomotora voluntaria no lo desencadenan (Mogenson et al, 1980). Aunado a lo anterior, Fiorino et al (1997) han propuesto que la ES es un fenómeno que se origina por la inhabilidad de la hembra en estró para incrementar precisamente los niveles de DA en el NAcc. Todos estos resultados parecen indicar que el aumento en la DA que produce el NAcc es esencial para originar la motivación sexual que finaliza el IPE, mientras que su decremento origina el establecimiento de la ES.

Por otro lado, recientemente se ha mostrado en ratas normales que los niveles de SE que se incrementan después de la eyaculación en el hipotálamo lateral, al parecer están involucrados con la inactividad sexual que ocurre durante el IPE, debido a que ejercen un efecto inhibitorio sobre la liberación de DA en el NAcc (Lorrain et al, 1999). La incapacidad del sistema serotoninérgico de las ratas FSL para estimular la liberación de DA en el NAcc podría ser la responsable del deterioro observado en la CSM, en parámetros que reflejan el componente motivacional, como son el aumento significativo observado en la LM, LI y el IPE.

En cuanto a la posibilidad de que hayan influido alteraciones del SNT serotoninérgico, en la CSM que mostraron las ratas FRL en las pruebas semanales de 30 minutos. no parece factible. ya que durante la conducta desarrollada por ellas en la 1ª SC no se observaron los aumentos en el NM y NI que ocurrieron en la prueba ES y que se asemejan con los problemas que tienen en la cópula las ratas tratadas crónicamente con FLX (Frank et al, 2000). Por tal motivo. las deficiencias en la CSM que presentaron las ratas FRL en este estudio, se pueden explicar unicamente por la hiposensibilidad colinérgica que tienen.

### **9.7. Conclusiones.**

Luego de evaluar la CSM que presentaron los tres grupos de machos en la 1ª SC de las pruebas de 30 minutos. podemos concluir que:

1. La conducta sexual de ambas líneas de ratas Flinders estuvo más deteriorada que la del grupo control. porque al menos en algunas semanas, presentaron un decremento significativo en el %SsE, así como LM, LI. IPE. III e IIC significativamente más prolongados, lo que corroboró parte de los resultados obtenidos en la prueba de extenuación sexual.

2. En la primera serie copulatoria. las ratas FSL se caracterizaron por tener III e IIC significativamente más prolongados que los de las ratas control, tal y como se observó en la prueba de extenuación sexual. Posiblemente se deba a que tienden a requerir menos intromisiones para eyacular como resultado de su hipersensibilidad colinérgica.



3. Las semejanzas que presentaron ambas líneas de ratas Flinders en su conducta sexual no pueden atribuirse a su diferente sensibilidad colinérgica, por lo que es posible que las alteraciones que se han encontrado principalmente en las ratas FSL, en otros SNT, estén influyendo en la baja CSM que mostraron.

## **10. TERCER EXPERIMENTO.**

### **Efecto de la Castración y de la Terapia Restitutiva en la Conducta Sexual Masculina de las Ratas Flinders.**

#### **10.1. Antecedentes.**

Se ha mostrado que la hormona T. es la principal hormona secretada por los testículos que participa en la regulación de la CSM (Meisel y Sachs, 1994), ya que su eliminación mediante la castración del macho, provoca, en diferentes especies de mamíferos (como la rata, el conejo, el mono y el humano, entre otros), la disminución de la CSM hasta perderse al cabo de algunas semanas (Agmo, 1976a; Davidson, 1966b; Larsson, 1956; Meisel y Sachs, 1994). En cambio, el tratamiento con T en los machos castrados, restablece la CSM (Beach, 1942a; Sodersten y Larsson, 1975; Morali et al. 1977; Meisel y Sachs, 1994; Retana-Márquez y Velásquez-Moctezuma, 1997).

El decremento de la CSM como consecuencia de la castración es un fenómeno documentado desde la antigüedad y en la rata se han realizado varios estudios sistemáticos al respecto (Beach y Holtz, 1946 y 1949; Davidson, 1966b; Larsson, 1966, Morali et al, 1977, Södersten y Larsson, 1975; Whalen et al, 1961). La castración provoca la pérdida paulatina de la CSM. El primer patrón conductual que se afecta por la castración es la eyaculación, ya que se prolonga la latencia de eyaculación y algunas ratas dejan de eyacular pocos días después de la operación. El segundo patrón que desaparece por la castración es la intromisión (Beach,

1942b, Larsson, 1979), aunque otros autores señalan que la eyaculación y la intromisión desaparecen simultáneamente (Beach y Nucci, 1970: 21, Bloch y Davidson, 1968, Davidson, 1966b, Madlafousek et al, 1976). El último patrón en desaparecer es la monta y las conductas que preceden el apareamiento, como son el olfateo y el tacto (Larsson, 1979).

En el trabajo sobre castración realizado por Davidson (1966b), el 42 % de los machos expertos empleados aún eyaculan cuatro semanas después de la castración y solo el 10 % aún lo continuó haciendo ocho semanas después. Cabe señalar, que el decremento más notable en la CSM ocurre una semana después de la castración (Larsson, 1979). En un estudio realizado por Retana-Márquez y Velázquez-Moctezuma (1997) con ratas Wistar, en el que se procedió a castrar a machos adultos expertos para evaluar la desaparición de la CSM, en todos sus parámetros, se encontró que a los veintinueve días después de la castración aún eyaculaban el 45 % de los sujetos y sólo después de 123 días el 100% de los machos dejaron de eyacular. Además, la castración produjo, en los primeros días posteriores a la operación, que se incrementara significativamente la LM, LI y NM, y que disminuyera significativamente la FE y el NI. Una vez que desapareció completamente la CSM en estos animales, se demostró que la administración de OXO es incapáz de estimular, por sí sola, esta conducta. Sin embargo, si se les da una terapia reitutiva de andrógenos mediante la administración diaria de 1 mg/kg de propionato de testosterona (PT) por 21 días, la OXO sí es capaz de incrementar significativamente el %SsE, la FE y disminuir significativamente la LE y el NI, en comparación con los valores obtenidos por los machos control, a los que se les dio salina en lugar del OXO después del tratamiento con PT.

Entre los factores que afectan el mantenimiento de la actividad sexual después de la castración se encuentra el genotipo. Los primeros estudios realizados al respecto fueron los de Young (1961), en los que se demostró que ratas de baja actividad sexual, no tuvieron montas después de un mes de la castración, en cambio, ratas sexualmente más activas, antes de la castración, tuvieron incluso eyaculaciones 75 días después de la operación. También en cobayos y ratones se ha mostrado que en sujetos de alta actividad sexual, permanece por más tiempo esta conducta que en los animales menos activos (Grunt y Young 1953; Manning y Thompson, 1976; McGill y Tucker, 1964). Otro factor que influye en el mantenimiento de la CSM después de la castración es la experiencia sexual preoperativa. En varias especies, incluyendo la rata, la experiencia preoperativa hace que la CSM se mantenga por un mayor tiempo que en los machos inexpertos (Larsson, 1979; Meisel y Sachs, 1994; Retana-Márquez y Velázquez-Moctezuma, 1997).

Como ya se mencionó, el efecto de la castración sobre la conducta sexual puede ser revertido por medio del tratamiento con T (Larsson, 1979; Meisel y Sachs, 1994). Esta reversión es más rápida entre menor sea el tiempo transcurrido entre la castración y la administración de T (Davidson, 1966b). Se ha supuesto que la continua exposición de T en el sistema nervioso y tejidos periféricos, mantienen el nivel de respuesta de estos tejidos a la hormona, de manera que se necesita una mayor cantidad de T para inducir la conducta sexual conforme pasa más tiempo después de la castración (Meisel y Sachs, 1994). Actualmente, se sabe que la T producida a nivel del testículo viaja a través de la circulación sanguínea hasta llegar al cerebro, donde actúa en diversos sistemas neuronales promoviendo la expresión de la CSM. Entre estos SNT se encuentran el colinérgico, noradrenérgico, dopaminérgico,

serotoninérgico, etc. (Meisel y Sachs, 1994). Cada uno de estos SNT pueden tener una participación facilitatoria o inhibitoria en la expresión de la CSM o de alguno de sus patrones, como sucede con el sistema colinérgico que se ha mostrado que tiene un papel facilitatorio en la CSM, en virtud de que su estimulación con agonistas colinérgicos reduce el NI que precede a la eyaculación, la LE y aumenta el potencial copulatorio, incrementando la FE (Ahlenius y Larsson, 1985; Hull et al, 1986; Retana et al. 1993).

En estudios previos (Velázquez-Moctezuma, 1989), así como en los dos experimentos expuestos anteriormente, hemos podido demostrar que las ratas Flinders FSL y FRL tienen en su CSM características semejantes a las que presentan otros modelos animales de depresión como son: menor FE, %SsE, mayor LI e IPE (Bonilla-Jaime et al, 1988; Vogel y Vogel, 1982). Pero también poseen otras características en su CSM que posiblemente están relacionadas con su opuesta sensibilidad colinérgica, como son un menor NI en las ratas FSL hipercolinérgicas y mayor NM en las ratas FRL, hipocolinérgicas.

En virtud de lo anterior, existe la posibilidad que la hipersensibilidad colinérgica de las ratas FSL modifique la actividad sexual que se manifiesta en el macho después de la castración. Estudios recientes realizados en ratas Flinders hembras apoyan esta hipótesis. Por ejemplo, Dohanich y colaboradores (1998), han descrito que hembras FSL ovariectomizadas tratadas con diferentes dosis de estrógenos, pero con la misma cantidad de progestágenos como terapia reconstitutiva, requieren de menor cantidad de estrógenos, que las ratas FRL y las SD para que el 100 % de las hembras presente la conducta de lordosis. Más aún, a las hembras

FSL y FRL ovariectomizadas y tratadas de esta manera, se les administró el antagonista colinérgico SCO, con lo que se logró inhibir, de manera dosis dependiente, la conducta de lordosis en las FRL, pero no en las FSL. Lo anterior muestra que la sensibilidad colinérgica de las ratas Flinders modifica la sensibilidad que tienen a las hormonas gonadales, así como su conducta sexual en ratas ovariectomizadas, esto permite suponer que en el macho también podría pasar lo mismo.

### **10.2 Objetivo particular.**

Evaluar la pérdida de la conducta sexual masculina después de la castración y durante la terapia restitutiva con andrógenos en las ratas FSL y SD.

### **10.3. Hipótesis particular.**

- Dado que la administración de agonistas colinérgicos incrementa la conducta sexual masculina durante la terapia restitutiva con andrógenos en machos castrados, se espera que las ratas FSL castradas, debido a su hipersensibilidad colinérgica, también presenten un incremento en su conducta sexual luego de la terapia hormonal restitutiva.

Se reprodujeron hembras y machos de la línea FSL y de la cepa SD, en las condiciones de temperatura, humedad, fotoperíodo, agua y alimento descritas en los métodos generales. De estos apareamientos se obtuvieron machos FSL (n = 9) y SD (n = 10), los cuales fueron destetados y separados a los 30 días de edad. A las 7 semanas de edad sólo se seleccionaron a los machos que heredaron las características de la línea FSL mediante el procedimiento descrito. No se emplearon machos FRL, debido problemas de infertilidad por endogamia.

A partir de los 100 días de edad los machos fueron apareados, cada semana en pruebas de 30 minutos en cuatro ocasiones, con hembras SD aproximadamente de la misma edad. La forma para inducir la receptividad a las hembras y los parámetros que se evaluaron en el registro de la conducta sexual fueron los mismos que se describieron en los métodos generales. Se seleccionaron a aquellos machos que tuvieron por lo menos dos eyaculaciones en cada una de las pruebas de 30 minutos. Estos machos de 200 a 250 gramos de peso, fueron anestesiados con éter y castrados. Una semana después de la castración, los machos expertos se aparearon nuevamente cada semana, con hembras estrogenizadas, hasta que los machos dejaron de montar, lo que ocurrió en las tres semanas posteriores a la castración.

Una vez que los machos perdieron la conducta sexual, se les administró 1 mg / Kg de PT diariamente a cada animal y cada semana se realizó una prueba conductual de 30 minutos, hasta que los machos volvieron a presentar la eyaculación.

### **10.5. Análisis Estadístico.**

Se aplicó la prueba de Fisher para comparar la proporción de animales que copularon en su primera serie eyaculatoria en cada grupo. La comparación entre los grupos de cada parámetro específico se hizo mediante un análisis de varianza de Kruskal-Wallis, seguida de la prueba de U de Mann-Whitney, en virtud que sólo fueron dos grupos de machos los empleados en este experimento (Zar,1984). En la comparación de la CSM de cada grupo de machos, una semana antes y una semana después de la castración se empleó la prueba de pares igualados de Wilcoxon ( Zar,1984).

### **10.6. Resultados.**

#### **Pérdida de la conducta sexual por la castración.**

La figura 16 muestra los resultados del efecto de la castración en la CSM de las ratas SD y FSL, con respecto al porcentaje de sujetos que montaron (%SsM), intromitieron (%SsI) y eyacularon (%SsE), en pruebas sucesivas de conducta. Como se puede observar la CSM disminuyó más rápidamente en las ratas SD que en las ratas FSL. De los tres parámetros conductuales estudiados, fue la eyaculación el patrón que desapareció primero seguido por la intromisión y luego la monta. Con respecto a la eyaculación, desde la 1ª semana postcastración, solo el 27 % de los machos SD eyacularon, en comparación con el 78 % de los machos FSL, sin llegar a ser estadísticamente significativas estas diferencias en el %SsM y el %SsI. En cambio, en la 2ª semana de la castración ninguno de los machos SD eyaculó, lo que



resultó ser diferente significativamente ( $p < 0.001$  según la prueba de Fisher) con respecto al 78 % de los machos FSL, porcentaje que resultó ser el mismo que tuvieron la semana anterior. Además las ratas FSL, tardaron 6 semanas en dejar de eyacular, en comparación con las 4 semanas que requirieron los machos SD .

Las intromisiones también disminuyeron más rápidamente en los machos SD que en los FSL; esta diferencia comenzó a ser significativa ( $p < 0.01$ ) a partir de la 2ª semana de la castración, en la que sólo el 10 % de los machos SD presentaron intromisiones en comparación con el 78 % de los machos FSL. En las ratas SD, las intromisiones desaparecieron a partir de la 4ª semana, mientras que en los machos FSL esto continuó hasta la 10ª semana postcastración.

Con respecto a las montas, su número también disminuyó significativamente ( $p < 0.01$ ) desde la 2ª semana hasta la 5ª semana postcastración en las SD, con un 27 %, en comparación con el 100 % de los machos FSL. Lejos de observarse un decremento en las ratas FSL con respecto a la actividad de la primera semana, se observó un ligero incremento (figura 16). Si bien la desaparición de las montas en todos los sujetos se observó a partir de la 4ª semana en las ratas SD y en la 7ª semana en las ratas FSL, este patrón reapareció semanas después en ambos grupos, para perderse definitivamente en la 8ª semana postcastración en las ratas SD y en la 13ª en las ratas FSL.

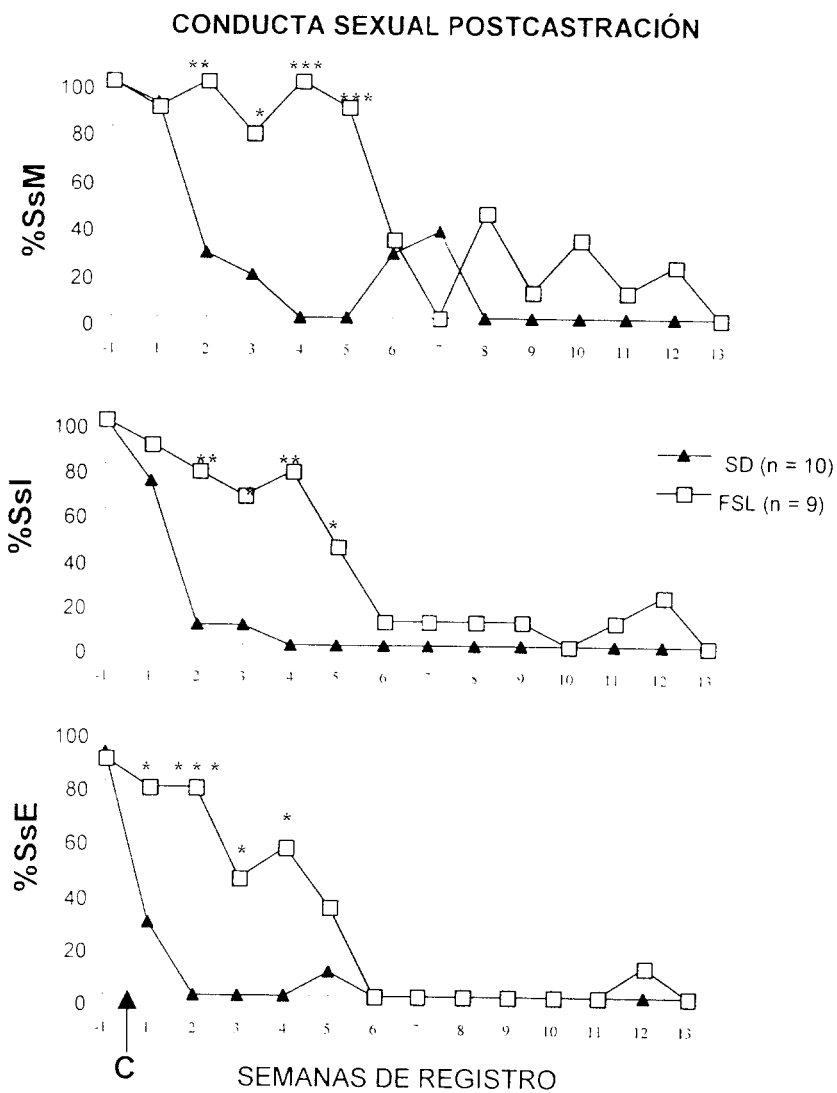


Figura 16. Porcentaje de sujetos que montaron, %SsM (a), que intromitieron, %SsI (b) y que eyacularon, %SsE (c) en dos grupos de ratas machos SD y FSL una semana antes y semanas después de la castración. C = momento de la castración. \* =  $p < 0.05$ , \*\* =  $p < 0.01$ , \*\*\* =  $p < 0.001$ , según prueba de Fisher.

### **Restablecimiento de la Conducta Sexual.**

La figura 17 muestra el resultado del efecto de la terapia hormonal para el restablecimiento de la CSM de los machos castrados SD y FSL, consistente en la administración de 1 mg diario de PT, durante tres semanas consecutivas, una vez que cumplieron el criterio de dejar montar, intromitir y eyacular. Como se puede observar, la recuperación en ambos grupos fue muy semejante y las diferencias entre los dos grupos no resultaron ser estadísticamente significativas, a pesar de que las ratas SD sólo requirieron un total de 6 días de tratamiento para que se recuperaran el 100 % de los sujetos, en comparación con los 8 días de tratamiento con PT que requirieron los machos FSL.

### **Frecuencia eyaculatoria.**

En la figura 18 se observa la FE que presentaron las ratas SD y FSL dos semanas antes de la castración y tres semanas después de esta operación. La FE de ambos grupos de ratas, antes de la operación, no mostró diferencias significativas en las pruebas de 30 minutos; pero la castración produjo que este parámetro disminuyera significativamente ( $p < 0.01$ , según la prueba de Wilcoxon), en ambos grupos. Además, en las tres semanas posteriores a la castración, en ambos grupos se presentó un decremento en la FE, que fue significativamente mayor en las ratas SD que la mostrada por las ratas FSL, en la primera y segunda después de la castración ( $p < 0.05$  y  $p < 0.01$ , según la prueba de U de Mann-Whitney).

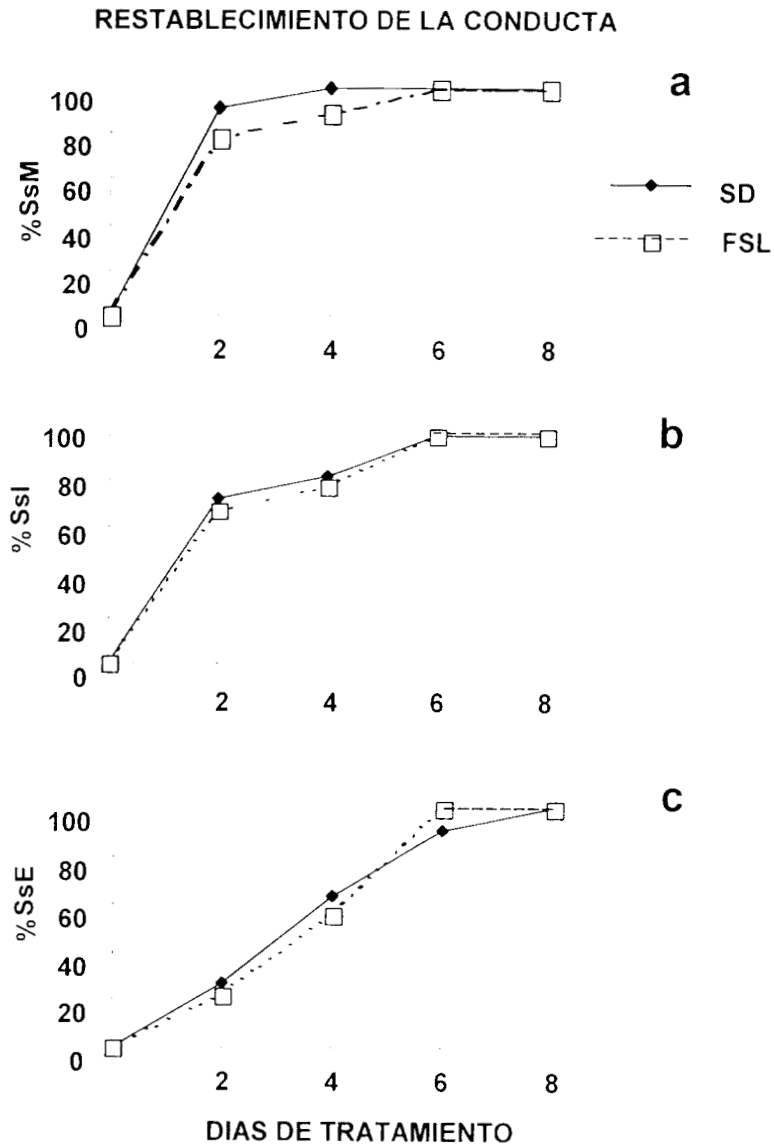


Figura 17. Porcentaje de sujetos que montaron, %SsM (a), intromitieron, %SsI (b) y eyacularon, %SsE (c), en 2 grupos de ratas SD y FSL, a partir del momento en que se les administró 1 mg diario de propionato de testosterona, después de que se comprobó que perdieron totalmente dicha conducta. Las pruebas para evaluar la recuperación de su conducta sexual se realizaron cada tercer día.

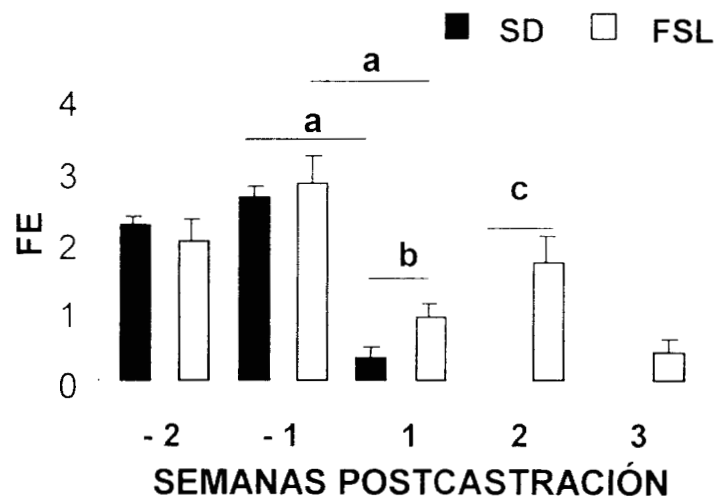


Figura 18. Frecuencia Eyaculatoria (FE), antes y después de la castración en los grupos de ratas SD y FSL. a =  $p < 0.01$ , según prueba de Wilcoxon; b =  $p < 0.05$  y c =  $p < 0.01$  según la prueba de U de Mann-Whitney.

### **Latencia de monta y latencia de intromisión.**

Los resultados de la LM y latencia de intromisión LI que presentaron los dos grupos de machos SD y FSL antes y después de la castración se muestran en la figura 19. En general, no hubo diferencias importantes en las latencias de ambos grupos de ratas antes y después de la castración, con excepción de la 2ª semana antes de la castración, en la que la LM de las ratas SD fue significativamente ( $p < 0.05$ , U de Mann-Whitney) mayor a la mostrada por las ratas FSL. Después de la castración las LM y LI aumentaron significativamente en las ratas SD ( $p < 0.05$ , prueba de Wilcoxon) y aún más en las ratas FSL ( $p < 0.01$ , prueba de Wilcoxon).

### **Latencia de eyaculación e intervalo posteyaculatorio.**

La LE y el IPE de los dos grupos de ratas antes y después de la castración se muestra en la figura 20. La LE y el IPE de ambos grupos fue muy similar en las dos semanas previas a la castración; sin embargo, en la primera semana después de esta operación se observó que la LE de las ratas FSL fue significativamente menor ( $p < 0.05$ , prueba de U de Mann-Whitney) de la mostrada por las ratas SD. Esta diferencia se debe a que en las ratas SD, la castración aumentó la LE, mientras que en las ratas FSL no. Debido a que las ratas SD perdieron la CSM más rápidamente que las ratas FSL después de la castración, solamente algunas de ellas eyacularon una semana después de esta operación, por lo que sólo en las ratas FSL se pudo registrar la actividad de estos parámetros, en las tres semanas postcastración.

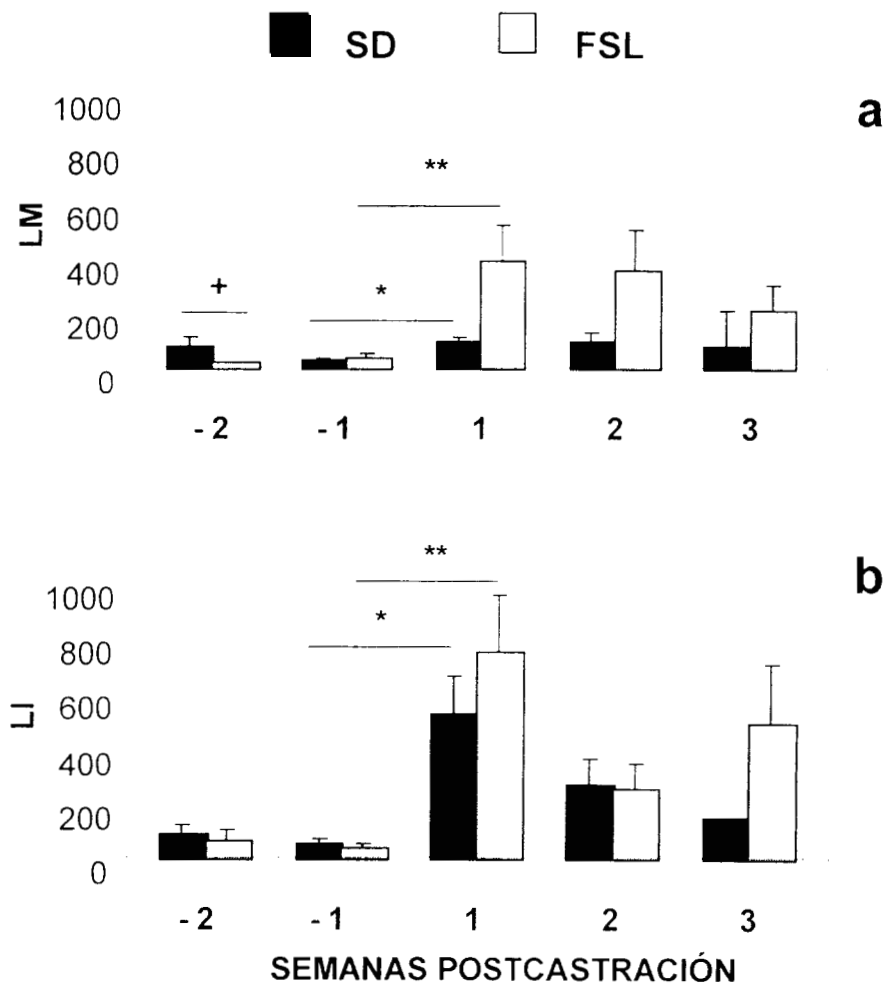


Figura 19. Latencia de Monta, LM (a), Latencia de Intromisión, LI (b) antes y después de la castración de los grupos de ratas SD y FSL. \*\* =  $p < 0.01$ , \* =  $p < 0.05$ , según prueba de Wilcoxon, + =  $p < 0.05$ , según la prueba de U de Mann-Whitney.

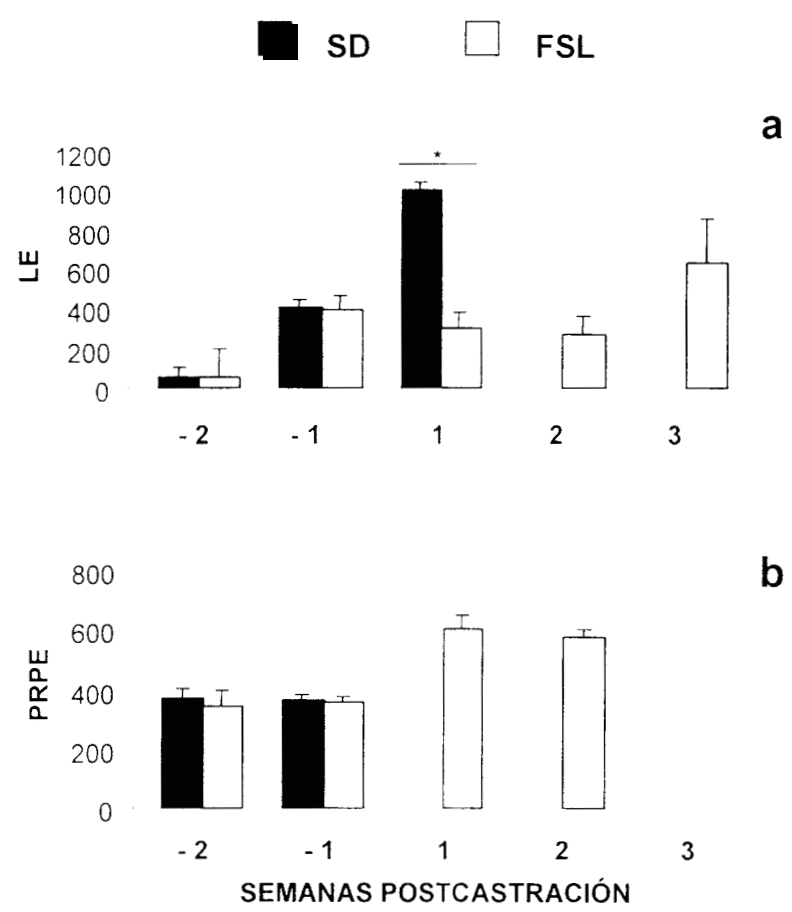


Figura 20. Latencia de Eyaculación, LE (a) y Periodo Refractario Posteyaculatorio, IPE (b) antes y después de la castración en los grupos de ratas SD y FSL . \* =  $p < 0.05$  según la prueba de U de Mann-Whitney.



### **Número de montas y número de intromisiones.**

El resultado del NM y de NI de las ratas SD y FSL se muestra en la figura 21. El NM que presentaron ambos grupos fue muy similar antes de la castración, así como una semana después de la operación. (figura 21 a). En el caso del NI (figura 21 b), una semana antes, como una después de la castración, las ratas FSL tuvieron valores significativamente menores ( $p < 0.05$ , prueba de U de Mann-Whitney) a los mostrados por las ratas SD. Por otro lado, mientras que en ambos grupos se incrementó el NM después de la castración, el NI disminuyó en las ratas FSL, mientras que en las ratas SD no se observó tal decremento.

### **Intervalo inter-intromisión e intervalo inter-copulatorio.**

El III y el IIC de las ratas SD y FSL antes de la castración, así como una semana después de esta operación fue muy semejante entre los grupos (figura 22 a y b). Después de la primera semana de castración, al no presentar actividad las ratas SD, sólo se registró la actividad de las ratas FSL. Por otro lado, en el caso del III, la castración promovió en las ratas SD su aumento, hecho que no se observa en las ratas FSL, mientras que en el IIC la gonadectomía provocó su disminución en las ratas FSL, lo que no ocurrió en las ratas SD.

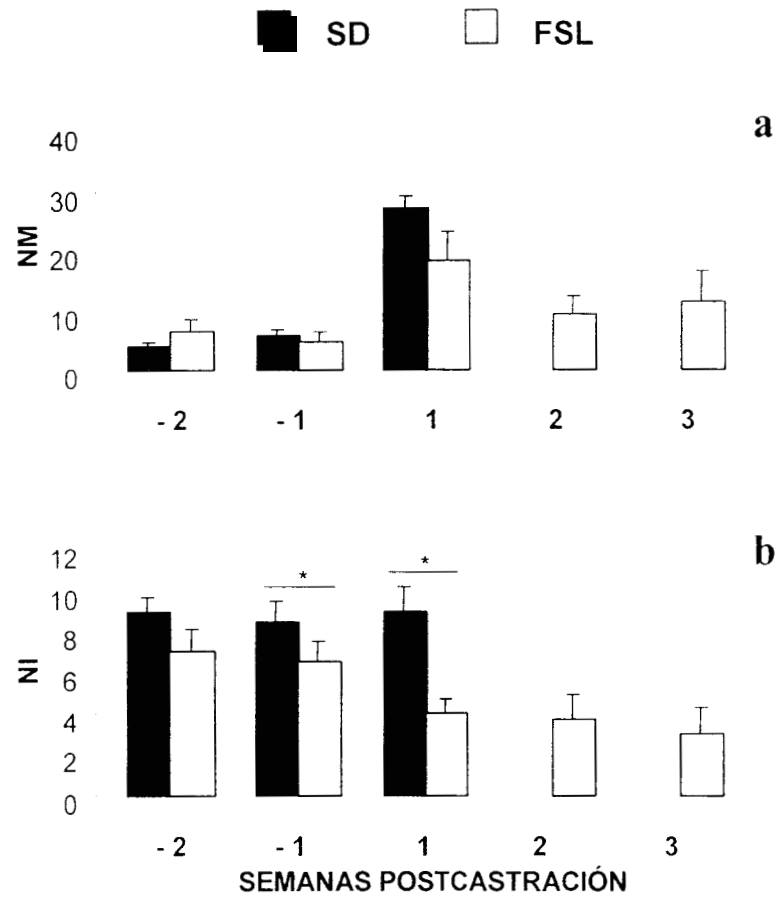


Figura 21. Número de Montas, NM (a) y Número de Intromisiones, NI (b) antes y después de la castración de los grupos de ratas SD y FSL. \* =  $p < 0.05$  según la prueba de U de Mann-Whitney.

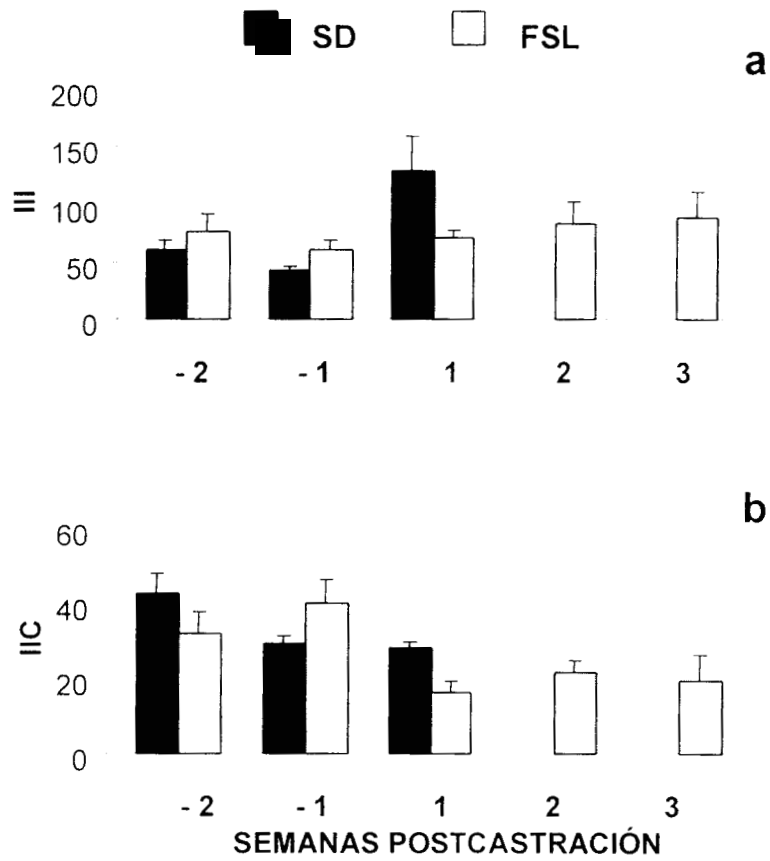


Figura 22. Intervalo Inter.-intromisión, III (a) e Intervalo Inter-copulatorio, IIC (b) antes y después de la castración de 2 grupos de ratas SD y FSL

### Tasa de Aciertos.

La TA en ambos grupos fue muy semejante tanto antes como después de la castración; sin embargo, esta operación hizo que disminuyera este índice en ambos grupos (figura 23), aunque esta reducción no fue estadísticamente significativa.

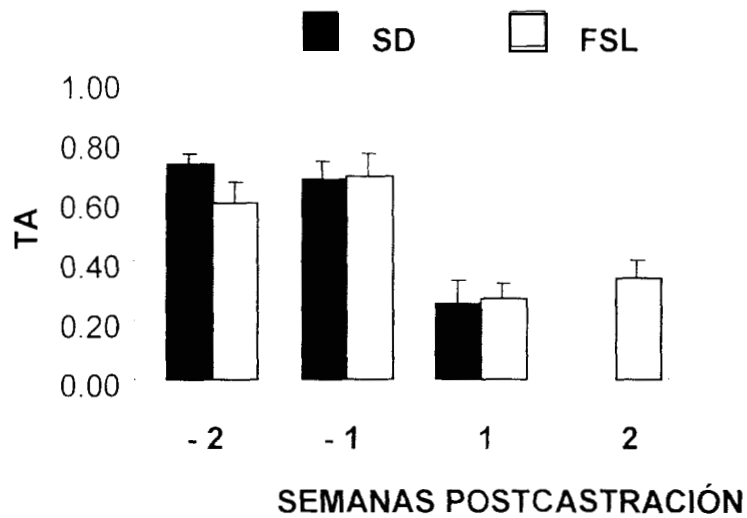


Figura 23. Tasa de Aciertos (TA) antes y después de la castración de 2 grupos de ratas SD y FSL

## 10. 7. Discusión.

De acuerdo con los resultados obtenidos, tanto en las ratas SD control, como en las ratas FSL, el primer parámetro que desapareció a consecuencia de la castración fue la eyaculación, seguida de la intromisión y, por último, la monta. lo cual concuerda con lo descrito por otros autores (Beach y Holtz, 1946; Beach y Holtz, 1949; Davidson, 1966b; Larsson, 1979). Sin embargo, al comparar los resultados de la ratas SD con los de los otros estudios, resulta notable que éstas hayan dejado de eyacular en la segunda semana después de la castración, ya que se ha indicado que ratas con experiencia, continúan eyaculando cuatro semanas después de la castración, mientras que el 10 % aún siguen eyaculando ocho semanas después de la castración (Davidson, 1966b). Incluso en un estudio realizado por nuestro grupo con ratas de la cepa Wistar, bajo las mismas condiciones en las que estuvieron las ratas del presente experimento, el 48 % de los machos castrados aún eyaculaban 29 días después de esta operación (Retana-Márquez y Velázquez-Moctezuma, 1997).

Más aún, en el estudio realizado por Parrot (1975), se describe que machos SD, con experiencia sexual, mantuvieron un alto nivel de eyaculación después de la castración, ya que el 50% de ellos aún eyacularon cinco semanas después de esta operación, a diferencia de los machos SD de nuestro experimento, en los que sólo el 30 % de ellos eyacularon que una semana después de la castración. Por tal motivo, los resultados que mostraron los machos SD en este estudio deben tomarse con reserva, ya que pudieron deberse a que la mayoría de ellos fueran machos de baja actividad sexual y que ésta fuera la causa de la rápida pérdida de la CSM después de la castración. En apoyo a lo anterior, se ha encontrado que entre las ratas de

una misma cepa existe cierta variabilidad en la desaparición de la CSM que produce la castración (Beach y Holtz, 1949; Bloch y Davidson, 1968; Södersten y Larsson, 1975).

Estudios realizados en ratas (Larsson, 1966; Rasia-Filho y Lucion, 1996) y ratones (McGill y Tucker, 1964), han mostrado que existen ciertos machos que pierden rápidamente el reflejo de la eyaculación después de la castración, mientras que otros lo presentan por más tiempo. Asimismo, se ha observado que la pérdida de este reflejo ocurre más rápidamente en aquellos machos que son menos activos sexualmente antes de esta operación. (Larsson, 1979). Además, en algunos ratones se ha observado que el reflejo eyaculatorio puede desaparecer inmediatamente después de la castración (McGill y Manning, 1976) y se ha sugerido que la experiencia adquirida antes de esta operación no previene su desaparición, sino que puede prolongar su presencia (Larsson, 1966; Larsson, 1979; McGill y Tucker, 1964; McGill y Manning, 1976, Rasia-Filho y Lucion, 1996). Por lo anterior, se puede inferir que la CSM que presentaron varios de los machos del grupo SD de nuestra estudio, probablemente se debió a la baja actividad sexual que heredaron, ya que la experiencia sexual que adquirieron antes de la operación, debió haber prolongado esta conducta.

Por otro lado, se ha mostrado que la administración del agonista muscarínico colinérgico OXO, incrementa el potencial eyaculatorio aumentando la FE (Retana-Márquez et al, 1993). Considerando que las ratas FSL tienen hipersensibilidad colinérgica, esperábamos que su FE fuera más alta. Sin embargo, en el primer estudio que realizamos, en el que se caracterizó la CSM de las ratas FSL en condiciones de ES, se observó que la FE de estas ratas fue menor que la mostrada por las ratas control SD. Después de la castración, esperábamos que la CSM

desapareciera más rápidamente en las ratas FSL que en las SD, debido a la baja actividad sexual que mostraron en la prueba de ES y porque se ha mostrado que ratas con baja actividad sexual pierden el reflejo eyaculatorio más rápidamente después de la castración (Larsson, 1979).

Respecto a la recuperación de la CSM que presentaron los machos castrados con el tratamiento hormonal de PT, ambos grupos tuvieron una recuperación muy semejante. Esperábamos que los machos FSL se recuperaran más rápidamente de la castración que los control SD, por la hipersensibilidad colinérgica que presentan y porque se ha mostrado que en este proceso de recuperación de la CSM mediante la administración de PT, la inyección del agonista colinérgico OXO, acelera el proceso de recuperación incrementado la FE y disminuyendo la LE y el NI (Retana-Márquez y Velázquez-Moctezuma, 1997). Además, se ha encontrado que las hembras FSL ovariectomizadas son más sensibles a la acción de las hormonas gonadales exógenas porque requieren de menos dosis de estrógenos para que el 100 % de ellas presenten lordosis, comparadas con las hembras FRL y SD (Dohanich et al, 1998). Aunque no se observaron diferencias entre los machos FSL y SD en la recuperación hormonal con testosterona, no se puede descartar que tal efecto hubiera ocurrido si se hubieran empleado diferentes dosis de testosterona para lograrlo.

En relación con la dosis que se requirió para que el 100% de los machos recuperaran la CSM, se observó que las ratas SD necesitaron 6 mg. de PT en comparación con los 8 mg. que necesitaron las ratas FSL. No obstante, estas diferencias en las dosis no llegaron a ser significativas. Comparado con otros estudios en los que también se ha empleado PT para

restablecer la CSM en machos castrados, la recuperación de los machos SD y FSL de este estudio fue más rápida. Por ejemplo, en varios trabajos en los que se ha administrado diariamente a los machos 1 mg. de PT después de la castración, Morali y colaboradores (Morali et al, 1977) encontraron que sólo el 19 % de los sujetos se recuperó totalmente con una dosis acumulada de 6 mg. de PT, mientras que Sodersten y Larsson (1975) emplearon una dosis total de 27 mg de PT para que el 90 % de los machos se recuperaran totalmente del efecto de la castración.

Con excepción de la LM y el NI, los parámetros copulatorios de los machos SD y FSL antes de la castración fueron muy semejantes. En el caso de la LM, el hecho de que éste parámetro haya sido significativamente más prolongado en las ratas SD que en las ratas FSL, dos semanas antes a la castración, muestra que este grupo de ratas SD ya presentaba signos de baja actividad sexual en comparación con las ratas FSL, a pesar de la experiencia sexual ambos grupos de machos habían acumulado antes de iniciar este estudio. En apoyo a lo anterior, en los experimentos de ES y de evaluación semanal de la CSM, realizados en esta tesis con otro grupo de ratas SD, la LM de las ratas FSL tendió a ser más prolongada que la de las ratas SD.

Por otro lado, el hecho de que las ratas FSL hayan mostrado un NI significativamente menor ( $p < 0.05$ , prueba de U de Mann-Whitney) al de las ratas SD, una semana antes de la castración, confirma el resultado obtenido en la prueba de ES en estas ratas y lo sitúa como la característica más consistente que presentaron las ratas FSL. Además, después de la castración, las ratas FSL continuaron mostrando un NI significativamente menor ( $p < 0.05$ ,



prueba de U de Mann-Whitney ) al de las ratas SD. Sin embargo, dado que la disminución en el NI es uno de los cambios que se han reportado que ocurren en las ratas después de la castración (Bloch y Davidson, 1968; Davidson, 1966b; Retana-Márquez y Velázquez-Moctezuma, 1997), no se puede afirmar si la disminución que ocurrió en las ratas FSL después de esta operación se debió a su hipersensibilidad colinérgica o fue el efecto de la castración. Desafortunadamente, en las ratas control SD no se presentó tal disminución en el NI después de la castración, lo que hace más difícil la interpretación de los resultados y confirma que las ratas control SD tuvieron un comportamiento atípico.

En un estudio semejante al nuestro, realizado con ratas Wistar, la administración del agonista colinérgico OXO durante la terapia reconstitutiva con PT después de la castración, produjo la reducción significativa del NI, en comparación con los machos control tratados con solución salina (Retana-Márquez y Velázquez-Moctezuma, 1997), lo que corrobora que también después de la castración el SNT colinérgico facilita la CSM, reduciendo el umbral eyaculatorio.

En otros trabajos en los que se ha comparado la CSM de ratas machos expertos antes y después de la castración, se ha encontrado que esta operación incrementa significativamente la LM, LI, IPE y NM y disminuye significativamente el NI y la FE (Bloch y Davidson, 1968; Retana-Márquez y Velázquez-Moctezuma, 1997). En el presente estudio, la castración produjo en ambos grupos el decremento en la FE y el incremento en la LM, LI y NM. En IPE sólo se pudo registrar el aumento en las ratas FSL después de la castración. Desafortunadamente debido a que después de esta operación sólo eyacularon 3 machos SD, no fue posible evaluar

el efecto que tuvo la castración en el IPE de las ratas SD, así como en otros parámetros de la CSM. A pesar de ello, se observó que la castración aumentó la LE en las ratas SD, mientras que en las ratas FSL provocó su disminución, siendo significativa ( $p < 0.05$ , prueba U de Mann-Whitney), la diferencia entre los grupos (figura 20). Esta diferencia entre ambos grupos, que no se observó antes de la operación, también podría haberse debido a la hipersensibilidad colinérgica de las ratas FSL, ya que en ratas intactas (Retana-Márquez et al, 1993), como en ratas castradas tratadas con PT (Retana-Márquez y Velázquez-Moctezuma, 1997), la administración de OXO provoca la reducción de la LE comparada con la que presentaron los machos control, lo que sugiere que la estimulación del sistema colinérgico favorece la disminución en este parámetro al disminuir el umbral eyaculatorio.

En otro estudio, realizado por Bloch y Davidson (1968), la LE de machos castrados expertos disminuyó significativamente en comparación con la de machos inexpertos. En este sentido, la conducta de las ratas FSL castradas fue similar a la mostrada por los machos expertos castrados de Bloch y Davidson (1968), a pesar de que la experiencia sexual de ambos grupos, SD y FSL, antes del experimento fue la misma, por lo que no puede atribuirse a la experiencia sexual las diferencias encontradas en estos grupos de machos.

## 10. 8. Conclusiones.

De acuerdo con los resultados obtenidos podemos concluir que:

1. Como resultado de la castración, las ratas control dejaron de presentar conducta sexual más rápidamente que las ratas FSL, posiblemente porque algunos de los machos de este grupo heredaron un bajo rendimiento sexual, que influyó en la rapidez con que perdieron la conducta sexual después de la castración.

2. Las ratas FSL se distinguieron de las ratas control por presentar LM más cortas y menor NI antes de la castración y por tener LE más cortas y menor NI después de la castración. El menor NI que tuvieron las ratas FSL posiblemente se deba a su hipersensibilidad colinérgica, mientras que la LM y LE más prolongadas de las ratas control son consecuencia del bajo rendimiento sexual que heredaron.

3. Ambos grupos de ratas FSL y control requirieron dosis similares de propionato de testosterona para restablecer su conducta sexual. Es posible que la hipersensibilidad colinérgica de las ratas FSL no afectara el restablecimiento de esta conducta inducida por la hormona.

## 11. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES GENERALES.

La expresión de la CSM es el resultado de la interacción de diferentes SNT que actúan de manera coordinada y secuencial. Para conocer cuál es la participación de cada uno de estos sistemas se han empleado diferentes técnicas. Una de ellas es la exploración farmacológica, que ha permitido comprender parte de la complejidad de los procesos involucrados en la regulación de la CSM. Los agonistas o antagonistas específicos de ciertos neurotransmisores, actúan sobre diferentes tipos de receptores presinápticos y postsinápticos, provocando en ocasiones respuestas antagónicas en la CSM, según sea el tipo de receptor que haya sido estimulado. Una de las ventajas que tiene la aplicación de estas drogas, es que, debido a su alta especificidad, es posible conocer de manera más precisa cuál es la participación que tiene un determinado SNT en la regulación de la CSM.

Recientemente, mediante selección genética, se han desarrollado líneas de ratas que tienen mayor o menor sensibilidad a cierto tipo de fármacos y, basándose en estas características, se les ha empleado para analizar su CSM. con el fin de evaluar la participación que tiene en esta conducta el SNT afectado. Tal es el caso de la líneas de ratas HDS y LDS, que tienen diferente sensibilidad al agonista serotoninérgico 8-OH-DPAT que actúa sobre los receptores 5-HT<sub>1A</sub> (Sura et al, 2001). De manera semejante, en el presente estudio, se intentó evaluar el papel que tiene el SNT colinérgico en la regulación de la CSM, mediante el uso de las líneas de ratas las Flinders, aprovechando la diferente sensibilidad que han adquirido a drogas colinérgicas. En términos generales, la CSM mostrada por las ratas FRL en las pruebas de ES y semanales de 30 minutos, fue consistente con la hiposensibilidad colinérgica que presentan, ya que fue semejante a los resultados que se han obtenido con la administración de

antagonistas colinérgicos. lo que permite suponer que la menor cantidad de receptores colinérgicos que tienen en ciertas áreas cerebrales. disminuyen la actividad del sistema colinérgico, lo que a su vez se traduce en una menor actividad sexual.

En cambio, en el caso de las ratas FSL, la evaluación de la influencia que tuvo el SNT colinérgico resultó ser más complicada y menos específica, debido a que la selección genética que produjo su hipersensibilidad colinérgica, alteró también a otros SNT, posiblemente como una respuesta homeostática que compensó el desequilibrio generado por la modificación del SNT colinérgico. Una buena parte de las evidencias que actualmente existen sobre las modificaciones que han sufrido las ratas Flinders en diferentes SNT, además del colinérgico, han aparecido en los últimos años. Por tal motivo, sólo al final de este estudio fue posible explicarnos la CSM de las ratas FSL, a través de la influencia de varios SNT que tiene alterados, además del colinérgico.

En el presente trabajo se intentó caracterizar la CSM de las ratas Flinders en tres condiciones diferentes: en pruebas de ES, de larga duración, pruebas de 30 minutos, realizadas semanalmente y evaluando dicha conducta después de la castración y durante su restitución mediante la administración de PT. Esperábamos que, debido a la sensibilidad colinérgica antagonica genéticamente adquirida por las ratas FSL y FRL, la CSM de ambas líneas fuese opuesta en aquellos parámetros que dependieran de la actividad colinérgica.

Tabla 7. Comparación de la respuesta que tuvieron las ratas Flinders, FSL y FRL en los diferentes parámetros de la CSM, con la respuesta obtenida mediante la estimulación e inhibición colinérgica o la depresión inducida farmacológicamente. + = aumenta; - = disminuye .

PARÁMETRO DE LA CSM	ESTIMULACIÓN COLINÉRGICA MUSCARÍNICA	RATAS FSL CON HIPER-SENSIBILIDAD COLINÉRGICA	INHIBICIÓN COLINÉRGICA MUSCARÍNICA	RATAS FRL CON HIPO-SENSIBILIDAD COLINÉRGICA	ANIMAL DEPRIMIDO FARMACOLÓGICAMENTE
%SsE		-	-	-	-
FE	+		-	-	-
LM	+	+		+	+
LI	+	+	+	+	+
LE	-		+	+	+
IPE		+	+	+	
NM		-		+	+
NI	-	-		+	
III	+	+		+	
IIC	-	+		+	
TA		-			

La tabla 7 resume las características que mostraron en el presente estudio ambas líneas de ratas Flinders en diferentes parámetros e índices de la CSM. Como se puede ver, sólo en parámetros relacionados con el componente ejecutorio de la CSM, como son el NI y NM, se observaron diferencias significativas entre ambas líneas de ratas. Como ya se mencionó, la reducción en el NI que caracterizó a las ratas FSL, fue semejante a la producida por la estimulación del sistema colinérgico (Ahlenius y Larsson, 1985; Hull et al, 1986; Retana et al 1993). Tal reducción podría deberse a la mayor cantidad de receptores muscarínicos que tienen a nivel hipotalámico, ya que la administración de OXO a nivel del APO hipotalámica ha provocado también una reducción semejante en el NI (Hull et al, 1986; Overstreet et al, 1984).

Por otra parte, los incrementos en la LI, el IPE que registramos en las ratas FSL, posiblemente se deban a las alteraciones producidas en otros SNT, mismas que se apoyan en las evidencias resumidas en la tabla 8. De todas ellas, las que han ocurrido en el SNT serotoninérgico, parecen ser las más importantes, de acuerdo con las evidencias que se han obtenido en los últimos años. La vinculación de los sistemas colinérgico y serotoninérgico se ha mostrado en ratas como las FSL (hipercolinérgicas) y las HDS (hiperserotoninérgicas). Las ratas HDS muestran mayor sensibilidad a agonistas colinérgicos muscarínicos como la OXO en su respuesta hipotérmica, mientras que las ratas FSL la tienen para el 8-OH-DPAT, agonista serotoninérgico de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> (Overstreet et al. 1998).

Para explicar la manera en que podrían estar vinculados estos dos sistemas, se ha propuesto la participación de las proteínas G. De acuerdo con varios estudios bioquímicos y moleculares, tanto los receptores muscarínicos M2, como los receptores 5-HT<sub>1A</sub> interaccionan con proteínas Gi que contribuyen a la inhibición del AMP cíclico (Olsen et al. 1988)

Por otro lado, los receptores muscarínicos M1 y 5-HT<sub>2A</sub> están ligados positivamente al sistema de segundo mensajero fosfatidil inositol. De esta manera, si estas proteínas cambiaron como consecuencia de la reproducción selectiva realizadas en las ratas FSL y HDS, esto explicaría los cambios paralelos correlacionados con la sensibilidad a agonistas colinérgicos y al 5-HT<sub>1A</sub> serotoninérgico ocurrida en estas ratas.

Como se puede ver en la tabla 8, además de las modificaciones que tienen las ratas FSL en el SNT serotoninérgico, existen alteraciones en otros SNT que no se han discutido aún y

que pudieron haber influido en la CSM de estas ratas. Por ejemplo, hemos mencionado el papel que podría haber tenido, sobre la CSM de las ratas FSL, el aumento en los niveles endógenos de DA en el NAcc y cómo podría estar influyendo el SNT serotoninérgico en este fenómeno, pero no se mencionaron las posibles repercusiones del aumento en los niveles endógenos de DA, que las ratas FSL tienen con respecto a las ratas SD en el hipocampo e hipotálamo.

El aumento en los niveles endógenos de un neurotransmisor puede deberse al incremento en su tasa de síntesis o a algún problema que impida su liberación. Se ha mostrado que en dos núcleos dopaminérgicos importantes del mesencéfalo, la substancia nigra y el área tegmental ventral, las ratas FSL tienen niveles más altos que las ratas FRL, del RNAm que transcribe la enzima tirosina hidroxilasa (TH) que interviene en la síntesis de catecolaminas DA y NE (Serova et al, 1998). Lo anterior podría significar que en las ratas FSL existe mayor síntesis de catecolaminas, por tener una mayor cantidad de TH, lo que a su vez podría explicar por qué estas ratas tienen niveles más altos de DA en el hipocampo, hipotálamo y estriado, así como niveles endógenos de NE más elevados que las ratas SD en el hipocampo, corteza prefrontal, núcleo medio del rafe y en el NAcc del estriado (Zangen et al, 1999).

Podría existir un vínculo entre los mayores niveles endógenos de las catecolaminas DA y NE en estas áreas del cerebro, con las alteraciones que tienen las ratas FSL en el sistema colinérgico, debido a que varias de estas modificaciones se localizan en los mismos sitios, como son la corteza, el hipocampo, el estriado y el hipotálamo. Por ejemplo: a) las ratas FRL



Tabla 8 . Alteraciones que presentan la línea de ratas Flinders FSL comparada con ratas FRL o SD en diferentes sistemas de neurotransmisión, así como su sensibilidad a diferentes agonistas de estos sistemas. Abreviaturas: ACh : acetilcolina, SE : serotonina, DA : dopamina, NE : Norepinefrina, AChm psi. : receptor colinérgico muscarínico postsináptico,  $\alpha$ NE : receptor alfa adrenérgico,  $\beta$  NE : receptor beta adrenérgico , GABA<sub>A</sub> : receptor GABA A, 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub>: receptores serotoninérgicos, 5-HIAA : ácido 5-hidroxi-indolacético, NAcc : Núcleo Acumbens, TH : Tirosina Hidroxilasa. A : Área, N : Núcleo. (Referencia).

Área Cerebral	Sistema Colinérgico	Sistema Serotoninérgico	Sistema Dopaminérgico	Sistema Noradrenérgico	Sistema Gabaérgico
	Sensibilidad a agonistas muscarínicos FSL > FRL (129,131)	Sensibilidad a Agonistas 5-HT <sub>1A</sub> FSL > FRL (141)  Sensibilidad a agonistas 5-HT <sub>2</sub> FSL > FRL (171)	Sensibilidad a agonistas D1 / D2 FSL < FRL (34, 153)  Receptores D2 : FSL = FRL (153)	Sensibilidad a agonistas $\alpha$ NE: FSL = FRL (126)  $\beta$ NE : FSL = FRL(136)	Sensibilidad a agonistas GABA <sub>A</sub> ( Ej. Muscimol, Diazepam )(147)
Hipocálamo	Receptores AChm psi. FSL > FRL (40, 132)	Niveles Endógenos de SE: FSL > FRL (197)  Relación entre 5-HIAA / SE FSL < FRL (197)	Niveles Endógenos de DA : FSL > SD (198)		
Estríado	Niveles Endógenos de ACh : FSL > FRL (132)  Receptores AChm psi FSL > FRL (132)	Niveles Endógenos de SE: FSL > FRL En el NAcc (197)  Relación entre 5-HIAA / SE FSL < FRL En el NAcc (197)	Niveles Endógenos de DA : FSL > SD En el NAcc (198)	Niveles Endógenos de NE : FSL > SD En e NAcc (198)	Receptores Benzodiazepínicos Ligados a GABA <sub>A</sub> FSL > FRL (147)
Hipocampo  Región CA 2-3	Receptores AChm psi FSL > FRL y SD (132)	Niveles Endógenos de SE: FSL > FRL (197)  Receptores 5-HT <sub>1A</sub> y 5-HT <sub>2</sub> FSL < FRL (171)  RNAm Transcriptor del Receptor 5-HT <sub>2A</sub> FSL < FRL (142)	Niveles Endógenos DA : FSL > SD (198)	Niveles Endógenos NE: FSL > SD (198)	Receptores Benzodiazepínicos Ligados a GABA <sub>A</sub> FSL > FRL (147)
Amígdala Media anterodorsal		RNAm Transcriptor de Receptor 5-HT <sub>2A</sub> FSL < FRL (142)			
Corteza (Piriforme y Peririnal)  Corteza (Prefrontal)	Síntesis de Ach FSL > FRL y SD (132)	RNAm Transcriptor de Receptor 5-HT <sub>2A</sub> FSL < FRL (142)  Niveles Endógenos de SE: FSL > FRL (197)		Niveles Endógenos de NE: FSL > SD (198)	
Mesencéfalo Substancia Nigra  Área Ventral Tegmental			Incremento del RNAm Transcriptor de TH FSL > SD (172)  RNAm Transcriptor de TH FSL > SD (172)		
Tallo cerebral (N del Rafe)				Niveles Endógenos de NE: FSL > SD (198)	

producen menores niveles de ACh endógena que las ratas FSL en el estriado. b) las ratas FSL sintetizan más rápidamente ACh que las ratas FRL y SD en la corteza, y por último, c) las ratas FSL tienen mayor concentración de receptores muscarínicos postsinápticos en el estriado y el hipotálamo que las ratas FRL y mayores concentraciones en el hipocampo, que las ratas FRL y SD (Daws y Overstreet, 1999; Overstreet et al, 1984). Estas estructuras cerebrales: corteza, estriado, hipocampo y, principalmente, hipotálamo son áreas que participan en la regulación de la CSM. De ellas, el hipocampo es el que tiene un papel menos relevante. De hecho, varios estudios en los que se ha realizado la ablación de varias zonas del hipocampo han producido pocos cambios en la expresión de la CSM (Larsson, 1979). Sin embargo, lesiones del hipocampo dorsal acortan el IPE y el IIC (Bermant et al, 1968). De ahí que el incremento que mostraron las ratas FSL en el IPE y el IIC en las pruebas de ES y semanales de 30 minutos, pudieran relacionarse, ya sea con la mayor cantidad de receptores colinérgicos muscarínicos que estas ratas tienen a nivel del hipocampo, o bien con los niveles endógenos incrementados de SE, DA y NE que tienen en esta área.

Por último, están las alteraciones que las ratas FSL presentan a nivel del hipotálamo, donde se ha encontrado que tienen una mayor cantidad de receptores colinérgicos muscarínicos postsinápticos y niveles endógenos de SE y DA más altos (Daws y Overstreet, 1999; Zangen et al, 1997; Zangen et al, 1999). Los niveles endógenos altos de DA en el hipotálamo de las ratas FSL podrían deberse a problemas que evitaran su liberación, su desactivación o que incrementaran su síntesis (Zangen et al, 1997). El efecto que pudo haber tenido a nivel hipotalámico la falta de liberación de DA sobre la CSM de las ratas FSL, podría

compararse con efecto que han tenido sobre esta conducta, la administración de antagonistas dopaminérgicos en el área hipotalámica. En ratas normales, se ha mostrado que la administración del antagonista dopaminérgico cis-flupenthixol en el APO, reduce significativamente el %SsA y la FE y, en aquellos machos que alcanzan a eyacular, se presentan III más prolongados (Pehek et al, 1988). Considerando que en la CSM que mostraron las ratas FSL en este estudio, fue característico que tuvieran III más prolongados en la primera serie copulatoria, los problemas que impiden la liberación de DA en estas ratas sean la causa de tal incremento.

En relación con los niveles altos de SE que se han encontrado en las ratas FSL, estos parecen deberse a algún problema que impide su liberación (Zangen et al, 1997), disminuyendo los niveles de este neurotransmisor a nivel sináptico. El efecto que puede tener sobre la CSM de las ratas FSL, esta reducción en los niveles de SE a nivel sináptico, puede compararse con el efecto que han tenido sobre dicha conducta, drogas que inhiben la síntesis de SE o que provocan la destrucción selectiva de neuronas serotoninérgicas. Por ejemplo, se ha mostrado en ratas normales que la inhibición de la síntesis de SE, mediante la administración sistémica de paraclorofenilalanina, aumenta el %SsA y disminuye el NI y la LE (Ahlenius et al,1971),mientras que la destrucción selectiva de neuronas serotoninérgicas mediante la administración de la neurotoxina 5,7-DHT intraventricularmente o bien en el rafé dorsal acorta la LE, el III y el IPE (McIntosh y Barfield, 1984). Por último, la administración en el APOm del agonista de los receptores 5-HT<sub>1A</sub>, el 8-OH-DPAT, que también disminuye los niveles extracelulares de SE (Lorrain et al, 1998), aumenta la FE y disminuye la LE, el IPE

y el NM (Matuszewich et al. 1999). De todas estas evidencias, únicamente la reducción en el NI y NM producida por la disminución o eliminación de los niveles de SE, es semejante a la que presentan las ratas FSL.

Por otra parte, la administración sistémica del antagonista de los receptores 5-HT<sub>1A</sub>, el WAY-100635, sobre los que actúa también el 8-OH-DPAT, aumenta únicamente el NM (Ahlenius y Larsson, 1999). Lo anterior sugiere que en la reducción del NM y NI que se presentó en la CSM de las ratas FSL, podría haber influido tanto la mayor cantidad de receptores colinérgicos muscarínicos que tienen, como la menor liberación de SE en el hipotálamo que ocurre en estas ratas.

Otro factor que pudo haber causado la baja expresión de la CSM de las ratas Flinders es el efecto degenerativo que provoca la endogamia. Se ha mostrado recientemente que la endogamia causa un problema de infertilidad al que se le ha dado el nombre de depresión endogámica (inbreeding depresión) tanto en mamíferos (Chubb, 1987; Laikre-Linda, 1999; Pillay, 1998), como en seres humanos (Ober et al, 1999). A pesar de que desde que recibimos la donación de las ratas Flinders en 1994, se intentó evitar la consanguinidad, debido al pequeño pie de cría que nos fue donado (6 machos y 6 hembras de cada línea), empezamos a tener problemas de infertilidad después de algunas generaciones y a notar que también la CSM se hacía más deficiente, principalmente en las ratas FRL. El efecto que tiene la depresión por endogamia sobre la conducta sexual ha sido descrita recientemente en una variedad de ratón enano homocigoto para la mutación del gene little (little gen mutation o lit), en el que se ha presentado una marcada incidencia de infertilidad (Chubb, 1987). A pesar de que su

espermatogénesis y esteroidogénesis es normal. estos machos se caracterizan por tener LM, LI y LE significativamente más prolongadas que los ratones normales. Aunado a lo anterior, se ha mostrado que la endogamia puede inducir alteraciones en varios patrones conductuales de la rata. Por ejemplo, Escorihuela y colaboradores (1999), han observado que el entrecruzamiento o reproducción cerrada en las líneas de ratas Roman high y low avoidance (de evitación alta o baja), presentan alteraciones en la conducta exploratoria en campo abierto, en la prueba del laberinto elevado y en la prueba de acicalamiento. Estas alteraciones en la actividad locomotora, exploratoria y de acicalamiento, están aumentadas significativamente en las ratas que tuvieron una reproducción cerrada comparada con las ratas que tuvieron reproducción abierta. Por lo tanto, debido a que la endogamia es capaz de afectar ciertas conductas en las ratas, existe la posibilidad de que ésto haya influido en la CSM deficiente que presentaron ambas líneas de ratas Flinders.

Por otra parte, debido a que las ratas FSL y SD fueron las mismas que se emplearon en la prueba de ES y pruebas semanales y que el número de sujetos fue bajo ( $n = 6$ ), podría cuestionarse si los resultados obtenidos con estas ratas fueron representativos de la CSM de ambas líneas. Al respecto cabría que señalar que desde que se recibió el pie de cría de las ratas Flinders en 1974, se han realizado varios estudios, tanto previos, como posteriores a los que aquí se han presentado y en ellos se ha encontrado siempre deficiencias en la CSM de ambas líneas de ratas Flinders en comparación con la que muestran las ratas SD (Ferreira-Nuño et al, 1997, 1998a, 1999, 2000), o incluso las ratas de la cepa Wistar, que también fueron empleadas como ratas control (Ferreira-Nuño et al, 1996; Velázquez-Moctezuma y Ferreira-Nuño, 1998). Por ejemplo, en un estudio previo en el que también se evaluó el fenómeno de la ES en las

ratas Flinders y SD, pero de manera independiente en cada grupo. no de forma simultánea como se hizo en el primer experimento de esta tesis. se encontró que tanto las ratas FSL y como las FRL tuvieron una FE significativamente menor a las ratas SD (Ferreira-Nuño et al, 1998b).

Por otro lado, el hecho de que en las pruebas semanales de 30 minutos no se hayan encontrado diferencias significativas en tantos parámetros de la CSM como en la prueba de ES. posiblemente se deba a que las deficiencias que tienen las ratas Flinders en su CSM, aparecen después de la primera serie copulatoria, por lo que se necesita evaluar esta conducta en periodos más prolongados para que se hagan notables.

En cuanto al efecto de la castración sobre la CSM. esperábamos que las ratas FSL perdieran más rápidamente esta conducta que las ratas SD y que la recuperaran más pronto que las ratas SD, durante la terapia reconstitutiva con andrógenos, pero ninguna de estas situaciones sucedió. Por el contrario, fueron las ratas SD las que perdieron la CSM más rápidamente que las FSL. incluso más pronto que ratas SD de otros estudios o ratas de otras cepas que han servido como sujetos control, por lo que sería arriesgado decir que, después de la castración. las ratas FSL perdieron la CSM más tardíamente que las ratas SD. por la hipersensibilidad colinérgica que presentan.

Por último. una de las principales aportaciones de este estudio es que se pudo mostrar que las ratas FRL tienen un comportamiento sexual diferente al manifestado por las ratas SD control. Como ya se mencionó, en la mayor parte de los trabajos en los que se han

experimentado con los tres grupos de ratas FSL, FRL y SD, se ha observado que las ratas FRL responden de manera muy similar a las ratas SD, tanto fisiológicamente como conductualmente (Overstreet, 1993), de ahí que se use indistintamente a las ratas SD o FRL como grupo control de las ratas FSL. Junto con el trabajo de Markou y colaboradores (1994) en el que se encontró que las ratas FRL tienen una mayor sensibilidad a estímulos auditivos que las asustan, que las ratas FSL y SD, este es el segundo caso en el que se demuestra que las ratas FRL se comportan de manera diferente a las ratas control SD.

Considerando los resultados que obtuvimos en los tres experimentos que se diseñaron para caracterizar la CSM en las ratas Flinders, podemos concluir que :

1. La CSM de las ratas FRL se caracterizó por ser la más deficiente, en comparación a la que mostraron las ratas FSL y SD, posiblemente por la hiposensibilidad colinérgica que se deriva del menor número de receptores colinérgicos muscarínicos que tienen en ciertas áreas del cerebro que están implicadas en la regulación de esta conducta. De ser esto así, el hecho de que ratas con hiposensibilidad colinérgica, como las FRL, tengan deficiencias en su actividad sexual, es consistente con las evidencias que muestran que la inhibición o la reducción de la actividad del SNT colinérgico disminuye la CSM, mientras que su estimulación, facilita su expresión.

2. La característica más sobresaliente y más constante que presentó la CSM de las ratas FSL fue el reducido NI que requieren para eyacular. Esta característica posiblemente sea la

única que se debió a la hipersensibilidad colinérgica que presentan las ratas FSL, por ser semejante a lo que sucede cuando se estimula el SNT colinérgico en ratas normales.

3. La CSM de las ratas FSL fue casi tan deficiente como la de las ratas FRL, ya que ambas tuvieron resultados semejantes en varios parámetros (Ej. LI, IPE, III e IIC). Estos resultados no pueden ser explicados por la diferente sensibilidad colinérgica que poseen. Es posible, que la baja actividad sexual que mostraron las ratas FSL en dichos parámetros, se deban a las alteraciones que estas ratas han sufrido en otros SNT, además del colinérgico, en áreas cerebrales que participan en la regulación de la CSM.

4. El empleo de ratas que tienen diferente sensibilidad colinérgica, para analizar el papel que tiene el SNT colinérgico en la regulación de la CSM, no aportó tanta información al respecto como la que esperábamos, debido a el proceso de selección que ha generado la hipersensibilidad colinérgica en las ratas FSL, indirectamente ha modificado a otros SNT en áreas cerebrales que participan en la regulación de la conducta sexual.



## 12. REFERENCIAS.

1. Adler N, Bermant G. (1966). Sexual behavior of male rats: effects of reduced sensory feedback. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 61(2) : 240-3.
2. Agmo A. (1976a). Sexual behaviour following castration in experienced and inexperienced male rabbits. *Z. Tierpsychol.*, 40 : 390-395.
3. Agmo A. (1976b). Cholinergic mechanisms and sexual behavior in the male rabbit. *Psychopharmacology*, 51 : 43-45.
4. Agmo A, Villalpando A, Picker Z, Fernández H. (1995). Lesions of the medial prefrontal cortex and sexual behavior in the male rat. *Brain Res.*, 696 (1-2) : 177-86.
5. Agmo A. (1997). Male rat sexual behavior. *Brain Res. Protoc.*, 1 : 203-209.
6. Agmo A. (1999). Sexual motivation – an inquiry into events determining the occurrence of sexual behavior. *Behav. Brain Res.*, 105 : 129-150.
7. Ahlenius S, Eriksson H, Larsson K, Modigh K, Sodersten P. (1971). Mating behavior in the male rat treated with p-chlorophenylalanine methyl ester alone and in combination with pargyline. *Psychopharmacologia*, 20 (4) : 383-8.
8. Ahlenius S, Larsson K. (1985). Central muscarinic receptors and male rat sexual behavior facilitation by oxotremorine but not arecoline or pilocarpine in methscopolamine pretreated animals. *Psychopharmacology*, 87 : 127-129.
9. Ahlenius S, Larsson K. (1999). Synergistic actions of the 5-HT1A receptor antagonist WAY-100635 and citalopram on male rat ejaculatory behavior. *Eur. J. Pharmacol.*, 379 (1) : 1-6.
10. Allen GV, Cechetto DF. (1993). Functional and anatomical organization of cardiovascular pressor and depressor sites in the lateral hypothalamic area. II. Ascending projections. *J. Comp. Neurol.*, 330 (3) : 421-38.
11. Ayensu WK, Pucilowski O, Mason A, Overstreet DH, Rezvani AH, Janowsky DS. (1995). Effects of chronic mild stress on serum complement activity, saccharin preference, and corticosterone levels in Flinders lines of rats. *Physiol. Behav.*, 57 : 165-169.
12. Barfield RJ, Wilson C, McDonald PG. (1975). Sexual behavior: Extreme reduction of postejaculatory refractory period by midbrain lesions in male rats. *Science*, 189 (4197) : 147-9.

13. Baum JM. (1972). Precocious mating in male rats following treatment with androgen or estrogen. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 78 : 356-67.
14. Baum JM. (1992). Neuroendocrinology of sexual behavior in the male. En : Becker JB, Breedlove SM, Crews D. (eds.) *Behavioral Endocrinology* . USA. pp : 97-139.
15. Beach FA. (1942a). Sexual behavior of prepubertal male and female rats treated with gonadal hormones. *J. Comp. Psychol.*, 34 : 285-92.
16. Beach FA. (1942b). Male and female mating behavior in prepuberally castrated female rats treated with androgens. *Endocrinology*, 31 : 673-678.
17. Beach FA. (1967). Cerebral and hormonal control of reflexive mechanisms involved in copulatory behavior. *Physiol. Rev.*, 47 : 289-316.
18. Beach FA, Holtz AM. (1946). Mating behavior in male rats castrated at various ages and injected with androgen. *J. Exp. Zool.*, 101 : 91-142.
19. Beach FA, Holtz AM. (1949). Effects of different concentrations of androgen upon sexual behavior in castrated male rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 42 : 433-453.
20. Beach FA, Jordan L. (1956). Sexual exhaustion and recovery in the male rat. *Q. J. Exp. Psychol.* 8 : 121-133.
21. Beach FA, Nucci LP. (1970). Long-term effects of testosterone phenylacetate on sexual morphology and behavior in castrated male rats. *Horm. Behav.* 1 : 223-234.
22. Bermant G, Glickman SE, Davidson JM. (1968). Effects of limbic lesions on copulatory behavior of male rats. *J. Comp. Psychol.* 65 : 118-125.
23. Beyer C. (1976). Neuroendocrine mechanisms in sexual behavior. En : Naftolin F, Ryan KJ, Davies IJ. (eds.) *Subcellular Mechanisms in Reproductive Neuroendocrinology*. Elsevier, Amsterdam, pp : 471-483.
24. Bignami G. (1966). Pharmacological influences on mating behavior in the male rat : Effect of d-amphetamine, LSD-25, strychnine, nicotine and various anticholinergic agents. *Psychopharmacologia*, 10 : 44-58.
25. Bitran D, Hull E. (1987). Pharmacological analysis of male rat sexual behavior. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 11 : 365-38.
26. Bloch GJ, Davidson JM. (1968). Effects of adrenalectomy and experience on postcastration sex behavior in the male rat. *Physiol. Behav.*, 3 : 461-465.

27. Bonilla-Jaime. H, Retana-Márquez S, Velásquez-Moctezuma J. (1998). Pharmacological features of masculine sexual behavior in an animal model of depression. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 60 : 1-7.
28. Brackett NL, Edwards DA. (1984). Medial preoptic connections with the midbrain tegmentum are essential for male sexual behavior. *Physiol. Behav.* 32 : 79-84.
29. Branchey L, Branchey M, Shaw S, Lieber DS. (1984). Depression, suicide and aggression in alcoholics and their relationship to plasma aminoacids. *Psychiatry Res.*, 12 : 219-226.
30. Carr WJ, Loch LS, Dissinger ML. (1965). Responses of rats to sex odors. *J. Comp. Physiol. Psycho.*, 59 : 370-7.
31. Christensen L, Clemens L. (1974). Intrahypothalamic implants of testosterone or estradiol and resumption of masculine sexual behavior in long-term castrated male rats. *Endocrinology*, 95 : 984-990.
32. Chubb C. (1987). Sexual behavior and fertility of little mice. *Biol. Reprod.*, 37 : 564-9.
33. Contreras JL, Agmo A. (1993). Sensory control of the male rat's copulatory thrusting patterns. *Behav. Neural. Biol.*, 60 (3) : 234-40.
34. Crocker AD, Overstreet DH. (1991). Changes in dopamine sensitivity in rats selectively bred for differences in cholinergic function. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 38 : 105-108.
35. Dail WG, Hamill RW, Minorsky N. (1986). Further evidence of a cholinergic mechanism in the function of the corpora cavernosa penis. *Soc. Neurosci. Abstr.*, 12 : 900.
36. Damsma G, Pfaus JG, Wenkstern D, Phillips AG, Fibiger HC. (1992). Sexual behavior increases dopamine transmission in the nucleus accumbens and striatum of male rats: comparison with novelty and locomotion. *Behav. Neurosci.*, 106 (1) : 181-91
37. Davidson J. (1966a). Activation of the male rats sexual behavior by intracerebral implantation of androgen. *Endocrinology*, 79 : 783-794.
38. Davidson J. (1966b). Characteristics of sex behaviour in male rats following castration. *Anim. Behav.*, 14 : 266-272.
39. Davis PG, Barfield RJ. (1979). Activation of masculine sexual behavior by intracranial estradiol benzoate implants in male rats. *Neuroendocrinology*, 28 : 217-27.
40. Daws LC, Overstreet DH. (1999). Ontogeny of muscarinic cholinergic supersensitivity in the Flinders sensitive line rat. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 62 : 367-380.

41. De Jonge F, Louwerse A, Ooms M, Evers P, Endert E, Van de Poll N. (1989). Lesions of the SDN-POA inhibit sexual behavior of the male Wistar rats. *Brain. Res.Bull.*, 23 : 483-492.
42. Doherty P, Sheridan P. (1981). Uptake and retention of androgen in neurons of the brain of the gold hamster. *Brain Res.*, 219 : 327-334.
43. Dohanich G, Witcher J, Weaver D, Clemens L. (1982). Alteration of muscarinic binding in specific brain areas following estrogen treatment. *Brain Res.*, 241 : 347-350.
44. Dohanich GP, Daniel JM, Fader AJ, Wolff SC, Gallogly PM, Overstreet, DH. (1998). Sexual behavior of Flinders line female rats bred for differential cholinergic sensitivities. *Horm. Behav.*, 33 : 77-84.
45. Duran I, Gil L, Cueva-Rolón R. (2000). Masculine copulatory behavior is facilitated by intrathecally administered muscarine. *Exp. Brain. Res.*, 134 (4) : 490-6.
46. Escorihuela RM, Fernández-Teruel A, Gil L, Aguilar R, Tobeña A, Driscoll P. (1999). Inbred Roman high- and low-avoidance rats: Differences in anxiety, novelty-seeking, and shuttlebox behaviors. *Physiol. Behav.*, 67 : 19-26.
47. Feder HH. (1971). The comparative action of testosterone propionate and 5alfa-androstan, 17beta,ol-3-ona propionato on the reproductive behaviour, physiology and morphology of male rats. *J. Endocrinol.*, 51 : 242-252.
48. Feldman RS, Meyer JS, Quenzer LF. (1997). *Principles of Neuropsychopharmacology*. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Massachussets, pp. 909
49. Ferreira-Nuño A, Becerril-Cortés N, Overstreet DH., Velázquez-Moctezuma J. (1996). Características copulatorias de ratas con hipersensibilidad colinérgica genéticamente adquirida. XXXIX Congreso de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas. Puebla, Puebla, México, del 22 al 26 de septiembre de 1996.
50. Ferreira-Nuño A, Becerril-Cortés N, Overstreet DH, Velázquez-Moctezuma J. (1997). Masculine sexual behavior performance in a genetic animal model of depression. International Behavioral Neuroscience Society, celebrado en la ciudad de San Diego, E.U.A. del 24 al 27 de abril de 1997.
51. Ferreira-Nuño A, Becerril-Cortés N, Morales-Otal A, Overstreet DH, Velázquez-Moctezuma J. (1998a). Evaluación del fenómeno de extenuación sexual en un modelo animal de depresión. XLI Congreso de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, San Luis Potosí. San Luis Potosí, México, del 20 al 24 de septiembre de 1998.

52. Ferreira-Nuño A, Retana-Márquez S, Velázquez-Moctezuma J. (1998b). Conducta sexual masculina: Mecanismos colinérgicos normo e hipersensibles. En: *Biología de la Reproducción*. Javier Velásquez-Moctezuma (Ed.) Universidad Autónoma Metropolitana, México, pp 365-382.
53. Ferreira-Nuño A, Overstreet DA, Velázquez-Moctezuma J. (1999). Efecto de la administración de la escopolamina sobre la conducta sexual masculina en la línea de ratas Flinders con hipersensibilidad colinérgica. XLII Congreso de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas y la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Zacatecas. Zacatecas, Zac. México, del 26 al 30 de septiembre de 1999.
54. Ferreira-Nuño A, Overstreet D, Morales-Otal A, Velázquez-Moctezuma J. (2000). Efecto de la oxotremorina en la conducta sexual masculina de las ratas Flinders: Un modelo animal de depresión. XLIII Congreso de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas y XX Congreso Latinoamericano de Ciencias Fisiológicas. Cancún, Quintana Roo. México, del 3 al 7 de septiembre de 2000.
55. Fiorino DF, Coury A, Phillips AG. (1997) Dynamic changes in nucleus accumbens dopamine efflux during the Coolidge effect in male rats. *J. Neurosci.*, 17 : 4849-4855.
56. Fisher AE.(1962). Effects of stimulus variation on sexual satiation in the male rat. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 55 (4) : 614-620.
57. Frank JL, Hendricks SE, Olson CH. (2000). Multiple ejaculations and chronic fluoxetine: effects on male rat copulatory behavior. *Pharmacol Biochem Behav.*, 66 (2) : 337-42 .
58. Fox CA, Fox B. (1971). A comparative study of coital physiology, with special reference to the sexual climax. *J Reprod Fertil.*, 24 : 319-36.
59. Fumero B, Fernández-Vera JR, Gonzalez-Mora JL, Mas M. (1994). Changes in monoamine turnover in forebrain areas associated with masculine sexual behavior: a microdialysis study. *Brain Res.*, 662 : 233-9.
60. Geyer MA, Braff DL. (1982). Startle habituation and sensorimotor gating in schizophrenia and related animal models. *Schizophr. Bull.*, 13 : 643-668.
61. Gillin JC, Duncan W, Pettigrew KD, Frankel BL, Snyder F. (1979). Successful separation of depressed, normal, and insomniac subjects by EEG sleep data. *Arch.Gen.Psychiatry*, 36 : 85-90.
62. Gillin JC, Duncan W, Murphy DL, Post RM, Goodwin FK, Wyatt RJ, Bunney Jr, WE (1981). Age-related changes in sleep in depressed and normal subjects. *Psychiatry Res.*, 4 : 73-78.

63. Gobbi M, Crespi D, Foddi MC, Fracasso C, Mancini I, Parotti L, Mennini T. (1997). Effects of chronic treatment with fluoxetine and citalopram on 5-HT uptake, 5-HT<sub>1B</sub> autoreceptors, 5-HT<sub>3</sub> and 5-HT<sub>4</sub> receptors in rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.*, 356 (1) : 22-8.
64. Goldfoot DA, Baum MJ. (1972). Initiation of mating behavior in developing male rats following peripheral electric shock. *Physiol. Behav.*, 8 : 857-863.
65. Gower RA, Berendsen HHG, Broekkamp CLE. (1986). Antagonism of drug-induced yawning and penile erections in rats. *Eur. J. Pharmacol.*, 122 : 239-244.
66. Grunt JA, Young WC. (1953). Consistency of sexual behavior patterns in individual male guinea pigs following castration and androgen therapy. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 46 : 138-144.
67. Hammer R, Berrie C, Birdsall N, Burgen A, Hulme E. (1980). Pirenzepine distinguishes between different subclasses of muscarinic receptors. *Nature*, 283: 90-92.
68. Hammer R, Giachetti A. (1982). Muscarinic receptor subtypes : M1 and M2 biochemical and functional characterization. *Life Sci.*, 31 : 2992-2998.
69. Hansen S, Köhler C, Goldstein M, Steinbusch HVM. (1982). Effects of ibotenic acid-induced neuronal degeneration in the medial preoptic area and the lateral hypothalamic area on sexual behavior in the male rat. *Brain Res.*, 239 : 213-32.
70. Hart BL. (1967) . Sexual reflexes and mating behavior in the male dog. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 64 : 388-399.
71. Hart BL. (1968). Sexual reflexes and mating behavior in the male rat. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 65 : 453-460.
72. Heath RG.(1981). The neural basis for violent behavior: Physiology and anatomy. En: Valzelli L, Morgese L. (eds). *Aggression and violence : A psychological and clinical approach*. Rome: Edizione CCC Saint Vicent, pp. 176-194.
73. Heimer L, Larsson K. (1964). Drastic changes in the mating behavior of the male rats following lesions in the junction of diencephalon and mesencephalon. *Experientia*, 20 : 460-461.
74. Heimer L, Larsson K. (1966/1967). Impairment of mating behavior in male rats following lesions in the preoptic-anterior hypothalamic continuum. *Brain Res.*, 3 : 248-263.
75. Hlinak Z. (1983). Precopulatory behavior of male laboratory rats in puberty and adulthood. *Activ. Nerv. Sup.*, 25 : 180-181.

76. Hlinak Z. (1986). Precopulatory behavior of laboratory rat : an ethological approach. *Activ. Nerv. Sup.* 28 : 108-116.
77. Holsboer F, Muller OA, Doerr HG, Sippell WG, Stalla GK, Gerken A, Steiger A, Bolle E, Benkert O. (1984). ACTH and multiesteroid responses to corticotropin-releasing factor in depressive illness: Relationship to multi-steroid response after ACTH stimulation and dexamethasone supresión. *Psychoneuroendocrinology* 9 : 147-160.
78. Holstege G. (1987). Some anatomical observations on the projections from the hypothalamus to brainstem and spinal cord: an HRP and autoradiographic tracing study in the cat. *J. Comp., Neurol.*, 260 (1) : 98-126.
79. Hull EM, Bitran D, Pehek EA, Warner RK, Holmes GM, Band LC, Bazzett T. (1986). Intracranial infusions of a cholinergic antagonist affect male copulatory behavior. *Conference Reprod. Behav. Abstr.*, p 57.
80. Hull EM, Bitran D, Pehek E, Holmes G, Warner R, Band L, Clemens L. (1988a). Brain localization of cholinergic influence on male sexual behavior in rats : agonist. *Pharmacol. Biochem Behav.*, 31 : 169-178.
81. Hull EM, Pehek E, Bitran D, Holmes G, Warner R, Band L, Bazzett T, Clemens L. (1988b). Brain localization of cholinergic influence on male sexual behavior in rats : antagonist. *Pharmacol. Biochem Behav.*, 31 : 175-178.
82. Hull EM, Lorrain DS, Du J, Matuszewich L, Lumley LA, Putnam SK, Moses J. (1999). Hormone-neurotransmitter interactions in the control of sexual behavior. *Behav. Brain Res.*, 105 : 105-116.
83. Hurtazo A. (2000). Análisis de la preferencia olfatoria y el condicionamiento de lugar en ratas macho con lesiones en el área preóptica media del hipotálamo anterior (APM/HA). Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM.
84. Knapp DJ, Overstreet DH, Crews FT.(1998). Brain 5-HT1A receptor autoradiography and hypothermic responses in rats bred for differences in 8-OH-DPAT sensitivity. *Brain Res.*, 782 (1-2) : 1-10.
85. Knoll J. (1997). Sexual performance and longevity. *Exp. Geront.* 32 : 539-552.
86. Krettek JE, Price JL. (1978). Amygdaloid projections to subcortical structures within the basal forebrain and brainstem in the rat and cat. *J. Comp. Neurol.*, 178 : 225-254.
87. Kupfer DJ. (1976). REM latency. A psychobiological marker for primary depressive disease. *Biol. Psychiatry*, 11 : 159-178.

88. Laikre-Linda. (1999). Conservation genetics of Nordic carnivores: Lessons from zoos. *Mammalia*, 30 (3) : 203-216.
89. Larsson K. (1956). Conditioning and sexual behavior in the male albino rat. Almqvist & Wiksell, Stockholm.
90. Larsson K. (1966). Individual differences in reactivity to androgen in male rats. *Physiol. Behav.*, 1 : 255-258.
91. Larsson K. (1978). Experimental factors in the development of sexual behavior. En J. Hutchinson (ed.), *Biological Determinants of Sexual Behavior*, John Wiley & Sons, New York, pp : 55-86.
92. Larsson K. (1979). Features of the neuroendocrine regulation of masculine sexual behavior. En: Beyer C. (ed), *Endocrine Control of Sexual Behavior*, Raven Press, New York, pp : 77-163.
93. Lawrence K, Barfield R. (1975). Differential rates of exhaustion and recovery of several parameters of male rat sexual behavior. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 88 : 693-703.
94. Leavitt F. (1969). Drug induced modifications in sexual behavior and open field locomotion of male rats. *Physiol. Behav.*, 4 : 677-683.
95. Li Q, Battaglia G, Van de Kar LD. (1997a). Autoradiographic evidence for differential G-protein coupling of 5-HT<sub>1A</sub> receptors in rat brain: lack of effect of repeated injections of fluoxetine. *Brain Res.*, 769 (1) :141-51.
96. Li Q, Muma NA, Battaglia G, Van de Kar LD. (1997b). Fluoxetine gradually increases [125I] DOI-labelled 5-HT<sub>2A/2C</sub> receptors in the hypothalamus without changing the levels of Gq- and G11-proteins. *Brain Res.*, 775 (1-2) : 225-8.
97. Lorrain DS, Matuszewich L, Hull EM. (1998). 8-OH-DPAT influences extracellular levels of serotonin and dopamine in the medial preoptic area of male rats. *Brain Res.*, 790 (1-2) : 217-23.
98. Lorrain DS, Riolo JV, Matuszewich L, Hull EM. (1999). Lateral hypothalamic serotonin inhibits nucleus accumbens dopamine: implications for sexual satiety. *J. Neurosci.*, 19 (17) : 7648-52.
99. Lucio-Lucio RA, Zempoalteca-Ramírez R, Rodríguez-Antolín J, Aguilar F, Flores-Rojas G, Velázquez-Moctezuma J. (1998). Erección, emisión y eyaculación. En : Velázquez-Moctezuma J. (Coordinador). *Biología de la Reproducción*. UAM-I. México. pp : 305-333.



100. Luine V, Park D, Tong J, Reis D, McEwen B. (1980). Immunocytochemical demonstration of increased choline acetyltransferase concentration in rat preoptic area after estradiol administration. *Brain Res.* 191 : 273-7.
101. Madlafousek J, Hliňák Z, Beran J. (1976). Decline of sexual behavior in castrated male rats: Effects of female precopulatory behavior. *Horm. Behav.*, 7 : 245-252.
102. Maeda N, Matsuoka N, Yamaguchi I. (1990). Septohippocampal cholinergic pathway and penile erections induced by dopaminergic and cholinergic stimulants. *Brain Res.*, 537 : 163-8.
103. Majocha R, Baldessarini RJ. (1984). Tolerance to anticholinergic agents is paralleled by increased binding to muscarinic receptors in rat brain and increased behavioral responses to a centrally active cholinomimetic. *Life Sci.*, 35 : 2247-2255.
104. Manning A, Thompson ML. (1976). Postcastration retention of sexual behaviour in the male BDF mouse: the role of experience. *Anim. Behav.*, 24 : 523-533.
105. Markou A, Matthews K, Overstreet DH, Koob GF, Geyer MA. (1994). Flinders resistant hypocholinergic rats exhibit startle sensitization and reduced startle thresholds. *Biol. Psych.*, 36 : 680-688.
106. Mas M, Rodríguez del Castillo A, Guerra M, Davidson J, Battaner E. (1987). Neurochemical correlates of male sexual behavior. *Physiol. Behav.*, 41 : 341-345.
107. Mas M, González-Mora JL, Louilot A, Sole C, Guadalupe T. (1990). Increased dopamine release in the nucleus accumbens of copulating male rats as evidenced by in vivo voltammetry. *Neurosci Lett.* 110 (3) : 303-8.
108. Mas M, Fumero B, Perez-Rodríguez I. (1994). Induction of mating behavior by apomorphine in sexually sated rats. *Eur. J. Pharm.*, 280 : 331-334.
109. Matuszewich L, Lorrain DS, Trujillo R, Dominguez J, Putnam SK, Hull EM. (1999). Partial antagonism of 8-OH-DPAT'S effects on male rat sexual behavior with a D2, but not a 5-HT1A, antagonist. *Brain Res.*, 820 (1-2) : 55-62.
110. Mc Allister TW. (1981). Cognitive functioning in affective disorders. *Comp. Psychiatry* 22 : 572-586.
111. McGill TE, Tucker GR. (1964). Genotype and sex drive in intact and in castrated male mice. *Science*, 145 : 514-515.
112. McGill TE, Manning A (1976). Genotype and retention of the ejaculatory reflex in castrated male mice. *Anim. Behav.*, 24 : 507-518.

113. McIntosh TK, Barfield RJ. (1984). Brain monoaminergic control of male reproductive behavior. I. Serotonin and the post-ejaculatory refractory period. *Behav. Brain Res.*, 12 (3) : 255-65.
114. Meisel RL, Sachs BD. (1994). *The Physiology of Male Sexual Behavior*. En : Knobil E, Neil J. (eds.) *The Physiology of Reproduction*. Raven Press, Ltd., New York. Capitulo 35, pp: 3-106.
115. Merari A, Ginton A. (1975). Characteristics of exaggerated sexual behavior induced by electrical stimulation of the medial preoptic area in the male rats *Brain Res.*, 86 : 97-108.
116. Morali G, Larsson K, Beyer C. (1977). Inhibition of testosterone induced sexual behavior in the castrated male rat by aromatasa blockers. *Horm. Behav.*, 9 : 203-213.
117. Morali G, Carrillo L, Beyer C. (1985). Neonatal androgen influences sexual motivation but not the masculine copulatory motor pattern in the rat. *Physiol. Behav.*, 34 : 267-275.
118. Mogenson G, Jones D, Yim L. (1980). From motivation to action : functional interface between the limbic system and the motor system. *Prog. Neurobiol.*, 14 : 69-97.
119. Neafsey EJ, Hurley-Gius KM, Arvanitis D. (1986). The topographical organization of neurons in the rat medial frontal, insular and olfactory cortex projecting to the solitary nucleus, olfactory bulb, periaqueductal gray and superior colliculus. *Brain Res.*, 377 (2) : 561-70.
120. Nemeroff C, Owens MJ, Bissette G, Andorn AC, Stanley M. (1988) Reduced corticotropin-releasing factor (CRF) binding sites in the frontal cortex of suicides. *Arch. Gen. Psychiatry* 45 : 577-579.
121. Neumaier JF, Root DC, Hamblin MW. (1996) Chronic fluoxetine reduces serotonin transporter mRNA and 5-HT<sub>1B</sub> mRNA in a sequential manner in the rat dorsal raphe nucleus. *Neuropsychopharmacology* (5):515-22
122. Ober C, Hyslop T, Hauck WW. (1999). Inbreeding effects on fertility in humans: Evidence for reproductive compensation. *Am. Hum. Genet.*, 64 (1) : 225-231.
123. Odagaki Y, Fuxe K. (1995). 5-HT<sub>1A</sub>, GABA<sub>B</sub>, and pirenzepine-insensitive muscarinic receptors are functionally coupled to distinct pools of the same kind of G protein in rat hippocampus. *Brain. Res.*, 689 : 129-135.
124. Olsen K, Edwards E, Schetcher N, Whalen R. (1988). Muscarinic receptors in preoptic area and hypothalamus: effects of cyclicity, sex and estrogen treatment. *Brain Res.*, 448 : 223-229.

125. Overstreet DH. (1986). Selective breeding for increased cholinergic function: Development of a new animal model of depression. *Biol. Psychiatry.* 21 : 49-58.
126. Overstreet DH. (1989). Correlations of ethanol-induced hypothermia in FSL and FRL rats with hypothermia induced by other drugs. XIII Annual Symposium of the North Carolina Alcoholism Research Authority, Raleigh, N.C .
127. Overstreet DH. (1991). Commentary: A behavioral, psychopharmacological and neurochemical update on the Flinders Sensitive Line rat a potential animal model of depression. *Behav. Genet.*, 21 : 67-74.
128. Overstreet DH. (1993). The Flinders Sensitive Line Rats: A genetic animal model of depression. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 17 : 51-68.
129. Overstreet DH, Russell RW, Vázquez BJ, Daghlish FW. (1974). Involvement of muscarinic and nicotinic receptors in behavioral tolerance to DFP. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 2 : 45-54.
130. Overstreet DH, Russell RW, Helps SC, Messenger JM. (1979). Selective breeding for sensitivity to the anticholinesterase, DFP. *Psychopharmacology*, 65 : 15-20.
131. Overstreet DH, Russell RW. (1982). Selective breeding for sensitivity to DFP. Effects of cholinergic agonists and antagonists. *Psychopharmacology* 78 : 150-4.
132. Overstreet DH, Russell RW, Crocker AD, Schiller GD. (1984). Selective breeding differences in cholinergic function: Pre-and post-synaptic mechanisms involved in sensitivity to the anticholinesterase, DFP. *Brain Res.*, 294 : 227-232.
133. Overstreet DH, Measday M. (1985). Impaired active avoidance performance in rats with cholinergic supersensitivity : Its reversal with chronic imipramine . Fourth International Congress of Biological Psychiatry, Philadelphia, P.A.; September.
134. Overstreet DH, Booth RW, Dana R, Risch SD, Janowsky DS. (1986). Enhanced elevation of corticosterone following arecoline administration to rats selectively bred for increased cholinergic function. *Psychopharmacology* 88 : 129-130.
135. Overstreet DH, Russell RW, Crocker AD, Gillin JC, Janowsky DS. (1988). Genetic and pharmacological models of cholinergic supersensitivity and affective disorders. *Experientia*, 44 : 465-472.
136. Overstreet DH, Schiller GD, Double K. (1989). Antidepressant effects of rolipram in a genetic animal model of depression: Cholinergic supersensitivity and weight gain. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 34 : 691-696.

137. Overstreet DH, Janowsky DS. (1991). A cholinergic supersensitivity model of depression. En: Boulton, A. Baker, G.; Martin-Iverson, M., (eds.) *Neuromethods* vol. 19 : Animal models in psychiatry. II. Clifton, N.J., Humana Press. pp : 81-114.
138. Overstreet DH, Rezvani AH, Janowsky DS. (1992). Genetic animal models of depression and ethanol preference provide support for cholinergic and serotonergic involvement in depression and alcoholism. *Biol. Psychiatry.*, 31 : 919-936.
139. Overstreet DH, Miller CS, Janowsky DS, Russell RW. (1996a). Potential animal model of multiple chemical sensitivity with cholinergic supersensitivity. *Toxicology*, 111 : 119-134.
140. Overstreet DH, Rezvani AH, Knapp DJ, Crews FT, Janowsky DS. (1996b). Further selection of rat lines differing in 5-HT<sub>1A</sub> receptor sensitivity : Behavioral and functional correlates. *Psychiatr. Genet.*, 6 : 107-117.
141. Overstreet DH, Daws LC, Schiller GD, Orbach J, Janowsky DS. (1998). Cholinergic / serotonergic interactions in hypothermia: implications for rat models of depression. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 59 (4) : 777-85.
142. Osterlund MK, Overstreet DH, Hurd YL (1999). The flinders sensitive line rats, a genetic model of depression, show abnormal serotonin receptor mRNA expression in the brain that is reversed by 17beta-estradiol. *Brain Res. Mol. Brain Res.*, 74 (1-2) : 158-66.
143. Owens M, Overstreet DH, Knight DL, Rezvani AH, Ritchie JC, Bissette G, Janowsky DS, Nemeroff CB. (1991). Alterations in the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in a proposed animal model of depression with genetic muscarinic supersensitivity. *Neuropsychopharmacology*, 4 : 87-93.
144. Paredes RG, Highland L, Karam P. (1993). Socio-sexual behavior in male rats after lesions of the medial preoptic area: evidence for reduced sexual motivation. *Brain Res.*, 618 : 271-6.
145. Paredes RG, Tzschentke T, Nakach N. (1998) Lesions of the medial preoptic area/anterior hypothalamus (MPOA/AH) modify partner preference in male rats. *Brain Res.*, 813 : 1-8.
146. Parrot RF. (1975). Aromatizable and alpha 5 reduced androgens : differentiation between central and peripheral effects on male rat sexual behavior. *Horm. Behav.*, 6 : 99-108.
147. Pepe S, Overstreet DH, Crocker AD. (1988). Enhanced benzodiazepine responsiveness in rats with increased cholinergic function. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 31 : 15-20.

148. Pehek EA, Warner RK, Bazzett TJ, Bitran D, Band LC, Eaton RC, Hull EM. (1988). Microinjection of cis-flupenthixol, a dopamine antagonist, into the medial preoptic area impairs sexual behavior of male rats. *Brain Res.* 443 (1-2) : 70-76.
149. Pichot P, López-Ibor Aliño J, Valdés Miyar M. (1995). *DMS IV Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales*, Masson, S.A. Barcelona, pp : 909.
150. Pillay N. (1998). The effects of inbreeding in two otomyine rodents. *Mammalia*. 62 (4) : 521-528.
151. Portillo-Martínez M, Paredes-Guerrero R. (1998). Control neural de la conducta sexual masculina. En: Javier Velásquez Moctezuma (ed.). *Biología de la Reproducción*. UAM-Iztapalapa, México, pp : 335-364.
152. Price JL, Russchen FT, Amaral DG. (1987). The limbic region. II. The amygdaloid complex. En: Björklud A, Hökfelt T. (eds.) *Handbook of chemical neuroanatomy : integrated systems of the CNS*. Elsevier, Amsterdam. pp : 279-388.
153. Pucilowski O, Eichelman BS, Overstreet DH, Rezvani AH, Janowsky DS. (1991). Enhanced affective aggression in genetically bred hypocholinergic rats. *Neuropsychobiology*, 24 : 37-41.
154. Pucilowski O, Overstreet DH, Rezvani AH, Janowsky DS. (1993). Chronic mild stress-induced anhedonia : Greater effect in a genetic rat model of depression. *Physiol. Behav.*, 54 : 1215-1220.
155. Rasia-Filho AA, Lucion AB (1996). Effects of 8-OH-DPAT on sexual behavior of male rats castrated at different ages. *Horm. Behav.*, 30(3) : 251-8.
156. Retana-Márquez S, Domínguez-Salazar E, Velázquez-Moctezuma J. (1993a). Muscarinic and nicotinic influences on masculine sexual behavior in rats: Effects of oxotremorine, scopolamine and nicotine. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 44 : 913-917.
157. Retana-Márquez S, Velázquez Moctezuma J. (1993b). Evidence that the M1 muscarinic receptor subtype mediates the effects of oxotremorine on masculine sexual behavior. *Neuropsychopharmacol.* 4 : 267-270.
158. Retana-Márquez S, Velázquez-Moctezuma J. (1997). Cholinergic-androgenic interaction in the regulation of male sexual behavior in rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 56 (3) : 373 - 378.
159. Rees H, Michael R. (1982). Brain cells of the male rhesus monkey accumulate 3H-testosterone or its metabolites. *J. Comp. Neurol.* 206 : 273-277.

160. Rodríguez-Manzo G, Fernández-Guasti A. (1994). Reversal of sexual exhaustion by serotonergic and noradrenergic agents. *Behav. Brain Res.*, 62 : 127-134.
161. Rodríguez-Manzo G, Fernández-Guasti A. (1995). Saciedad sexual. En: Velázquez-Moctezuma, J. (ed.) *Temas selectos de neurociencias*. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, México, pp : 228-48.
162. Rodríguez-Manzo G. (1999a). Yohimbine interacts with the dopaminergic system to reverse sexual satiation: further evidence for a role of sexual motivation in sexual exhaustion. *Eur. J. Pharmacol.*, 372 (1) : 1-8.
163. Rodríguez-Manzo G. (1999b). Blockade of the establishment of the sexual inhibition resulting from sexual exhaustion by the Coolidge effect. *Behav. Brain Res.*, 100 (1-2) : 245-54.
164. Russel RW, Warburton DM, Segal DS. (1969). Behavioral tolerance during chronic changes in the cholinergic system. *Communication in Behavioral Biology*, 4 : 121-128.
165. Russell RW, Overstreet DH, Cotman CW, Carson VG, Doyle L, Dalglish FW, Vázquez BJ. (1975). Experimental test of hypothesis about neurochemical mechanisms underlying behavioral tolerance to the anticholinesterase, D.F.P. *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 192 : 73-85.
166. Russell RW, Overstreet DH, Messenger M, Helps SC. (1982). Selective breeding for sensitivity to DFP. Generalization of effects beyond criterion variables. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 17 : 885-891.
167. Russell RW, Overstreet DH. (1987). Mechanisms underlying sensitivity to organophosphorus anticholinesterase compounds administered acutely or chronically. *Prog. Neurobiol.*, 28 : 97-129.
168. Sachs BD, Barfield RJ. (1970) Temporal patterning of sexual behavior in the male rat. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 73 (3) : 359-641.
169. Sar M, Stumpf W. (1973). Autoradiographic localization of radioactivity in the rat brain after the injection of 1,2-3 H testosterone. *Endocrinology*, 92 : 251-256.
170. Schiller GD, Byrne C, Orbach J, Overstreet DH. (1989). Regulation of muscarinic receptors in the two lines of rats genetically selected for differential cholinergic sensitivity. *Australian Neurosciences Society*, Melbourne; Feb. 1989.
171. Schiller GD. (1991). Altered behavioral sensitivity to serotonergic agonist in an animal model of depressive disorders: receptor binding correlates and cholinergic-serotonergic systems interaction. *J. Neurochem.*, 57 : S138.

172. Serova L, Sabban EL, Zangen A, Overstreet DH, Yadid G. (1998). Altered gene expression for catecholamine biosynthetic enzymes and stress response in rat genetic model of depression. *Brain Res. Mol. Brain Res.*, 63 (1) :133-8
173. Sheridan PJ. (1984). Autoradiographic localization of steroid receptors in the brain. *Clin Neuropharmacol.* 7 : 281-95.
174. Shimura T, Shimokochi M. (1990). Involvement of the lateral mesencephalic tegmentum in copulatory behavior of male rats : Neuron activity in freely moving animals. *Neurosci. Res.* 9 : 173-183.
175. Shimura T, Yamamoto T, Shimokochi M. (1994). The medial preoptic area is involved in both sexual arousal and performance in male rats: re-evaluation of neuron activity in freely moving animals. *Brain Res.*, 640 : 215-22.
176. Shiromani PJ, Gillin JC, Hendrickson P. (1987). Acetylcholine and the regulation of REM sleep. Basic mechanisms and clinical implications for affective illness and narcolepsy. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 27 : 137-156.
177. Shiromani PJ, Overstreet DH, Levy D, Goodrich CA, Campbell SA, Gillin JC. (1988). Increased REM sleep in rats selectively bred for cholinergic hyperactivity. *Neuropsychopharmacology*, 1 : 127-133.
178. Slob AK, vander Werff JJ, Bosch T (1977). The fundamental role of gonadal steroids in sexual behavior. *Bailliere's Clin Psychiatry.* 3 : 1-24.
179. Södersten P, Larsson K. (1975). Lordosis behavior and mounting behavior in male rats: Effects of castration and treatment with estradiol benzoate or testosterone propionate. *Physiol. Behav.*, 14 : 159-164.
180. Soulairac ML. (1963). Étude expérimentale des régulations hormone-nerveuses du comportement sexuel du rat male. *Ann. Endocrinol.* 166 : 798-802.
181. Soulairac A., Soulairac M. (1975). Monoaminergic and cholinergic control of sexual behavior in the male rat. En : M. Sandler, G.L. Gessa (eds.), *Sexual Behavior : Pharmacology and Biochemistry*, Raven Press. New York, pp : 99-116.
182. Swanson LW. (1979). An autoradiographic study of the efferent connections of the preoptic region in the rat. *J. comp. Neurol.* 167 : 227-256.
183. Sura A, Overstreet DH, Marson L. (2001) Selectively bred male rat lines differ in naive and experienced sexual behavior. *Physiol. Behav.*, 72 (1-2) : 13-20.

184. Terreberry RR, Neafsey EJ. (1987). The rat medial frontal cortex projects directly to autonomic regions of the brainstem. *Brain Res Bull.*, 19 (6) : 639-49.
185. Trouvin JH, Gardier AM, Chanut E, Pages N, Jacquot C. (1993) .Time course of brain serotonin metabolism after cessation of long-term fluoxetine treatment in the rat. *Life Sci.*, 52 (18) : PL187-92.
186. Velázquez-Moctezuma J, Gillin JC, Overstreet DH, Shiromani PJ. (1989). Sexual behavior in male rats selectively bred for cholinergic supersensitivity. XXI Conference on Reproductive Behavior. Saratoga Springs, N.Y. June 11-14.
187. Velázquez-Moctezuma J, Ferreira-Nuño A. (1998). Sexual behavior differences in rat strains / lines. International Behavioral Neuroscience Society. Annual Conference. Richmond, Virginia, USA. June 11-14, 1998.
188. Vogel G, Vogel FA. (1982). A new animal model of human endogenous depression. *Sleep Res.*, 11: 222<sup>a</sup>.
189. Wallis E, Overstreet DH, Crocker AD. (1988) Selective breeding for increased cholinergic function: increased serotonergic sensitivity. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 31(2) : 345-350.
190. Wenkstern D, Pfaus JG, Fibiger HC. (1993). Dopamine transmission increases in the nucleus accumbens of male rats during their first exposure to sexually receptive female rats. *Brain Res.*, 618 (1) : 41-6.
191. Whalen, RE, Beach FA, Kuehn RE. (1961). Effects of exogenous androgen on sexual responsive and unresponsive male rats. *Endocrinology*, 69 : 373-380.
192. Whybrow PG, Akiskal HS, McKinney WT. (1984) Mood disorders: Toward a new psychobiology. Plenum Press, New York .
193. Willner P. (1991) Animal models as simulations of depression. *Trends Neurosci.*, 12: 131-136.
194. Winn P. (1991). Cholinergic stimulation of substantia nigra : Effects on feeding, drinking, and sexual behaviour in the male rat. *Psychopharmacology* 104 : 208-214.
195. Yadid G, Nakash R, Deri I, Tamar G, Kinor N, Gispan I, Zangen A. (2000). Elucidation of the neurobiology of depression: insights from a novel genetic animal model. *Prog. Neurobiol.*, 62 : 353-378.
196. Young WC. (1961). The hormones and mating behavior. En: Young WC (ed.) *Sex and Internal Secretions* . Williams & Wilkins, Baltimore, pp : 1173-1239.



197. Zangen A, Overstreet D, Yadid G. (1997). High serotonin and 5-hydroxyindolacetic acid levels in the limbic brain regions in a rat model of depression: normalization by chronic antidepressant treatment. *J. Neurochem.*, 69 : 2447-2483.
198. Zangen A, Overstreet DH, Yadid G. (1999). Increased catecholamine levels in specific brain regions of a rat model of depression: normalization by chronic antidepressant treatment. *Brain Res.*, 824 : 243-250.
199. Zangen A, Nakash R, Overstreet DH, Yadid G. (2001). Association between depressive behavior and absence of serotonin-dopamine interaction in the nucleus accumbens. *Psychopharmacology* 155 (4) : 434-9.
200. Zar JH. (1984). *Biostatistical analysis*. 2<sup>nd</sup> Ed. Englewood Cliffs. NJ: Prentice Hall.

## ANEXO

Research report

## Masculine sexual behavior features in the Flinders sensitive and resistant line rats

A. Ferreira-Nuño<sup>a</sup>, D.H. Overstreet<sup>b</sup>, A. Morales-Otal<sup>a</sup>, J. Velázquez-Moctezuma<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Biología de la Reproducción, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Mexico City, CP 09340, Mexico

<sup>b</sup> Center for Alcohol Studies, CB # 7178, University of North Carolina, Chapel Hill, NC 27599-7178, USA

Received 16 January 2001; received in revised form 2 June 2001; accepted 4 June 2001

### Abstract

The Flinders sensitive (FSL) and resistant (FRL) lines of rats have been selectively bred for their differences in cholinergic sensitivity. The FSL rats display hypersensitive responses to agonists of muscarinic receptors. In addition, the FSL rats display behavioral alterations that support the notion that this strain could be useful as an animal model of depression. These abnormalities include increase in rapid eye movement sleep, decrease of saccharin consumption after stress, and reduced exploratory behavior in a novel open field. On the other hand, sexual behavior is a pleasure-seeking behavior that should be altered in a mood disorder characterized by anhedonia. In the present study, spontaneous masculine sexual behavior features were analyzed, both during 30-min tests as well as during a satiety test. Results showed that, compared to outbred Sprague–Dawley (SD) rats, both the FSL and the FRL rats displayed some behavioral impairment, like a marked decrease of the ejaculatory frequency. During the satiety tests, both the FSL and the FRL rats became exhausted sooner than their SD controls. In addition to considering the present results in terms of alterations in specific neurotransmitter systems, endogamy is proposed as a possible source of the behavioral alterations. © 2002 Elsevier Science B.V. All rights reserved.

**Keywords:** Masculine sexual behavior; Animal models of depression; Flinders rats

### 1. Introduction

The Flinders sensitive (FSL) and resistant (FRL) lines of rats are derived from the Sprague–Dawley (SD) strain and have been selectively bred for differences in cholinergic sensitivity (for review see [17]). Originally, both lines were separated by their hyper-(FSL) or hypo-(FRL) sensitivity to an anti-cholinesterase agent, Diisopropylfluorophosphate [12]. Subsequently, FSL rats were determined to demonstrate exaggerated responses to muscarinic agonists also [13,27]. In addition, it has been shown that FSL rats have more muscarinic receptors in the hippocampus and striatum [14,18].

The FSL rats also exhibit a number of behavioral alterations (for review see [17]), including decreases of exploratory behavior in novel open field tests [15], decrease in saccharin consumption after chronic mild stress [21], increased immobility time in the forced swim test [27] and increased rapid eye movement (REM) sleep [28,29]. These behavioral alterations have been observed in a number of studies dealing with animal models of human depression. Thus, it has been suggested that the FSL rat could be a reliable animal model of human depression [17].

The decreased frequency of pleasure-seeking behaviors (anhedonia) is one of the main characteristics of depression [31]. Therefore, it would be expected that, in an animal model of depression, all the pleasure seeking behaviors, including sexual behavior, should be diminished. Moreover, as sexual behavior has been divided into motivational and executive components, all the

\* Corresponding author. Tel.: +52-525-8044701; fax: +52-525-8044704.

E-mail address: jvm@xanum.uam.mx (J. Velázquez-Moctezuma).

parameters of sexual performance can be placed into one of these two components. Thus, it would be expected that those parameters linked to the motivational component, such as mount and intromission latencies as well as the post-ejaculatory interval [25], will be impaired in the FSL rat. On the other hand, however, it has been reported that cholinergic stimulation in rats elicits the facilitation of several parameters of masculine sexual behavior [22,23]. In these apparent contradictory expectancies, it must be noted that many characteristics and differences between FSL and FRL rats are expressed mainly after a pharmacological challenge and not during the expression of their basal behavior.

In the present study, we intended to establish the basal characteristics of spontaneous masculine sexual behavior in both the FSL and the FRL rats as well as in outbred Sprague–Dawley rats, the strain from which the FSL and FRL rats were derived. In addition, because repeated copulation could reveal more accurately impairments of sexual motivation, subjects were also studied in satiety tests. These satiety tests consist of allowing the male rat to copulate repeatedly with the same female until it reaches sexual satiety, defined as 30 min without sexual activity or 90 min without ejaculation.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Animals

Adult FSL, FRL and SD males from our own colonies were used in this study. Subjects were always kept in group cages (five per cage), within a room with temperature and ventilation controlled, with a 12/12 reversed light–dark cycle (lights off: 11:00 a.m.). Adult SD females were used as stimulus rats in sexual behavior tests and they were brought into estrous by a sequential treatment with estradiol benzoate (10 µg SC) followed 44 h later by progesterone (5 mg SC) that was applied 4 h before the onset of the behavioral test.

### 2.2. Apparatus

Sexual behavior tests were performed using a Plexiglas cylinder (45 cm diameter) arena in which the male was introduced 5 min before the presentation of the stimulus female. Once the female was introduced, the following parameters were recorded: mount, intromission and ejaculation latencies; number of mounts and intromissions preceding each ejaculation; ejaculatory frequency, post-ejaculatory refractory period, hit rate (no. of intromissions/no. of intromissions plus no. of mounts) and inter-intromission intervals. The test lasted for 30 min.

### 2.3. Procedure

At 16 weeks of age, males were tested for spontaneous sexual activity during four sessions and only those subjects that displayed at least one ejaculation in three tests were included in the study. The activity displayed by the males during these preliminary observations was not included in the final analysis of data. Once the preliminary selection tests were concluded, six males from each group (FSL, FRL, and SD) were assigned to A – the analysis of the development of satiety and later B – to the analysis of spontaneous sexual behavior.

Sexual behavior exhaustion tests were performed at 20 weeks of age using one male and one female that were kept together in the arena. The test ended when the male met one of the following criteria: 30 min without sexual activity or 90 min without ejaculation. The same pair of animals was then tested again 24 h later, using the same criteria to end the observation.

For the analysis of spontaneous sexual behavior, the same males were tested weekly (starting at 22 weeks of age) for nine times, in 30-min tests. To avoid differences in female receptivity or the so-called ‘Coolidge effect’, stimulus females were changed every 5 min, so the males were exposed to six different females. In brief, the Coolidge effect refers to the decline of male sexual activity after repeatedly copulating with the same female. Once the female is changed, male sexual activity recovers immediately [32].

### 2.4. Statistical analyses

Data were analyzed using the Kruskal–Wallis test, followed when significant by the Newman–Keuls analog test [33]. Percentages were analyzed using the Chi square probability test.

## 3. Results

During the selection tests, 100% of the SD and of the FSL rats complied with the inclusion criteria (one ejaculation in three tests). Only around 60% of the FRL rats showed the required activity level to be included.

### 3.1. Sexual satiety

Mount, intromission and ejaculation latencies obtained during the first satiety test are shown in Fig. 1. Both Flinders lines had higher values on mount latencies (A) and intromission latencies (B) than SD rats. These differences reached statistical significance only on the intromission latencies for both FRL and FSL rats ( $P < 0.05$ ). Panel C shows the ejaculatory latency of several copulatory series. As can be seen, there were

significant ( $P < 0.05$ ) differences between FRL and SD male rats on ejaculatory latencies displayed in the first, third, and fourth copulatory series.

Fig. 2 shows mount (A) and intromission (B) number as well as the post-ejaculatory interval (C) obtained in five copulatory series of the first satiety test. As can be seen, FRL rats had significantly more mounts than the SD and the FSL males in several copulatory series (IV and V) ( $P < 0.05$ ) (A). The differences in the number of intromissions obtained in FRL rats were more pronounced in the IV and V copulatory series (B). Concerning the post-ejaculatory interval, both Flinders lines spent significantly ( $P < 0.05$ ) more time than SD rats to re-establish their sexual activity in several copulatory series (II, III, IV and V), with the FRL rats taking longer than the other two groups (C).

The ejaculatory frequency during the first satiety test was significantly lower in the FRL group, when compared both to FSL and to SD group. No significant differences were observed, when FSL rats were compared to SD rats (Fig. 3). On the other hand, there were

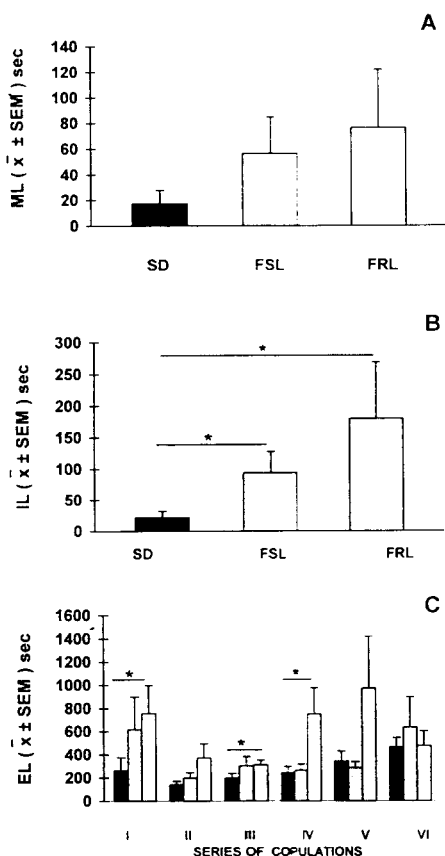


Fig. 1. (A) Mount (ML), (B) intromission (IL), and (C) ejaculatory (EL), latencies of the three strains: Sprague-Dawley (SD), Flinders sensitive line (FSL) and Flinders resistant line (FRL) obtained from six copulatory series during the satiety test ( $\bar{x} \pm S.E.M.$  = mean  $\pm$  standard error mean). When significant, the Kruskal-Wallis ANOVA test was followed by the Newman-Keuls analog test to determine the source of significance.  $*P < 0.05$ .

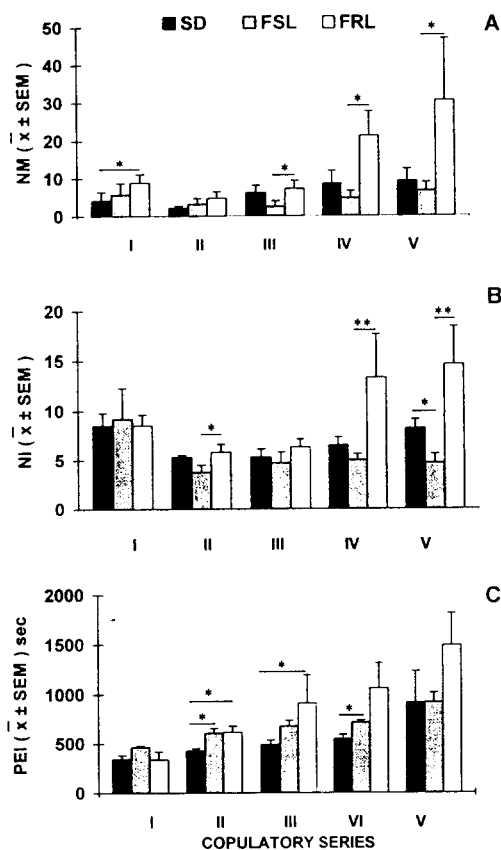


Fig. 2. (A) Number of mounts (NM), and number of (B) intromissions (NI), preceding each ejaculation in five ejaculatory series. Panel (C) shows the values of the post-ejaculatory interval (PEI). Data express Mean  $\pm$  S.E.M. When significant, the Kruskal-Wallis ANOVA test was followed by the Newman-Keuls analog test to determine the source of significance.  $*P < 0.05$ .

no significant differences between the three groups in the hit rate, the interintromission interval and the intercopulatory interval. Fig. 4 shows the results obtained during four copulatory series and, as can be seen, only the interintromission interval showed a significant difference when the FRL was compared with SD group (Fig. 4B).

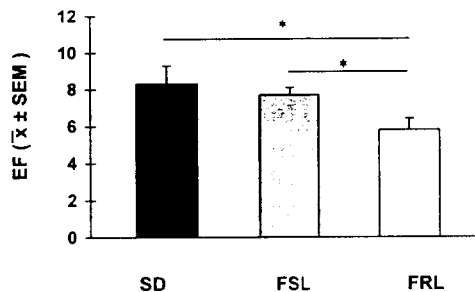


Fig. 3. Ejaculatory frequency during the sexual satiety test of the three strains: Sprague-Dawley (SD), Flinders sensitive line (FSL) and Flinders resistant line (FRL). ( $\bar{x} \pm S.E.M.$  = mean  $\pm$  standard error mean). When significant, the Kruskal-Wallis ANOVA test was followed by the Newman-Keuls analog test to determine the source of significance.  $*P < 0.05$ .

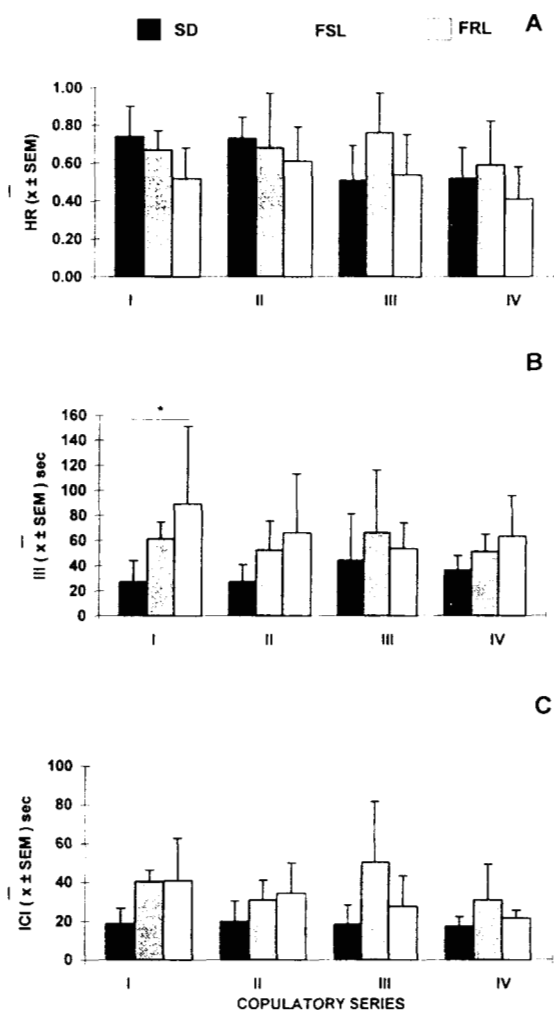


Fig. 4. Hit rate, interintromission interval and intercopulatory interval during the initial four copulatory series. No significant differences were observed, when Sprague–Dawley (SD), Flinders sensitive line (FSL) and Flinders resistant line (FRL) groups were compared. Only during the first copulatory series, were there significant differences between SD and FRL groups. \* $P < 0.05$  Kruskal–Wallis followed by Newman–Keuls analog test.

Fig. 5 shows the percentage of subjects that ejaculated during the first (A) and second satiety test 24 h later (B). In the first satiety test, FRL rats were the first group that reached the criteria for sexual satiety, with a maximum of seven ejaculations, followed by FSL rats with nine ejaculations. SD rats displayed a maximum of twelve ejaculations. Twenty four hours later (B), SD rats was the first group to reach sexual satiety with a maximum of three ejaculations, while both Flinders lines had higher ejaculatory frequencies. However, as can be seen in panel B, in the first copulatory series, 100% of the SD male rats ejaculated, while both Flinders rats showed a substantial decrease in the percentage of subjects that displayed ejaculation (Fig. 5).

### 3.2. (B) Spontaneous sexual behavior

Mount (A), intromission (B) and ejaculation (C) latencies are shown in Fig. 6. As can be seen, data obtained from both Flinders lines have higher variability and in many of the weekly tests, the mean value was higher compared with the SD control group. Only in some weeks both Flinders lines, had significant differences with respect the control group in ML and IL, but they were not consistent. When significant differences did emerge, the FRL rats were different from the SD rats.

The intercopulatory interval (ICI, A) and the interintromission interval (III, B) are shown in Fig. 7. In this case, FSL rats had significantly ( $P < 0.05$ ) longer ICI (4 of 9 weeks) and III (5 of 9 weeks) when compared with the SD control group in the first copulatory series. There was also high variability in the FRL rats and the significant differences from SD males were seen in only a few weeks. Because there were no differences in the number of mounts, intromission and ejaculatory latencies between the groups, it is clear that the longer time spent between each mount or intromission is an important characteristic in the male sexual behavior of the FSL rats.

The most conspicuous difference in spontaneous sexual behavior between both Flinders lines and their Sprague–Dawley control was related to the ejaculatory potential. As can be seen in Fig. 8, the percentage of SD males that reach three or four ejaculations in a particular test, was commonly higher than that dis-

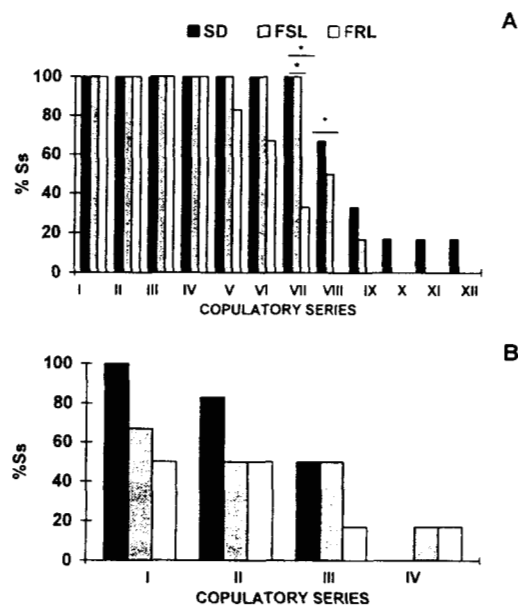


Fig. 5. Percentage of subjects (%Ss) displaying the ejaculatory pattern during the (A) first and (B) second sexual satiety test of the three strains: Sprague–Dawley (SD), Flinders sensitive line (FSL) and Flinders resistant line (FRL). \* $P < 0.05$  using the Chi-square probability test.

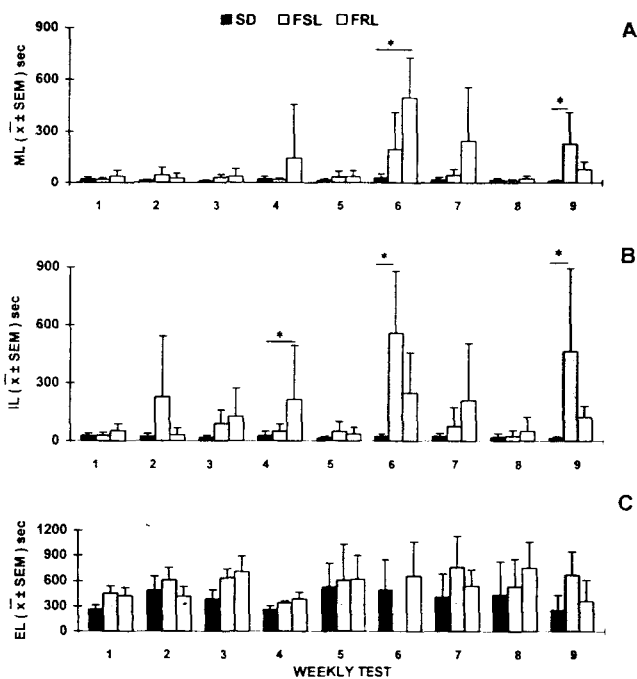


Fig. 6. (A) Mount (ML), (B) intromission (IL), and (C) ejaculatory (EL) latencies of the three strains: Sprague-Dawley (SD), Flinders sensitive line (FSL) and Flinders resistant line (FRL) obtained from the first copulatory series in 9 weekly tests of 30 min, from 22 to 30 weeks of age. ( $\bar{x} \pm$  S.E.M. = mean  $\pm$  standard error mean). When significant, the Kruskal-Wallis ANOVA test was followed by the Newman-Keuls analog test to determine the source of significance. \* $P < 0.05$ .

played by both Flinders lines, which showed lower percentages even for the second copulatory series in several of the recording tests.

#### 4. Discussion

The present results indicate that both FSL and FRL rats have some alterations in sexual performance when compared to their strain of origin, the Sprague-Dawley rats. However, there were few differences between the FSL and FRL rats themselves. These data support previous findings in which no differences between the Flinders lines were recorded in basal observations, but they appear after a pharmacological challenge. It must be taken into account that, although receptor sensitivity would be abnormal, it can be compensated by other mechanisms as the synthesis and/or release of the transmitter, resulting in a subject that expresses its abnormality only after the administration of a drug that acts on the receptor (for review see [17]).

It was expected that the alterations would be mainly located in the motivational component of sexual behavior [25]. The results in the 30-min tests showed a diminished capability to restore copulatory activity, which is mainly reflected by higher values in the IIC.

These data could be reflecting a decreased motivational state; however, there were no significant differences concerning mount latency or the post-ejaculatory refractory period, which are also parameters linked to motivation. Thus, the alterations observed in the copulatory performance of both Flinders lines during the 30-min test, seems not to be due to a generalized motivational impairment. Nevertheless, the results obtained from the satiety tests indicated that both Flinders lines showed less activity. As the criteria to end the test are mainly based on a measure reflecting motivation (i.e., long mount latency), it is possible that the Flinders rats reach the criteria for exhaustion faster because of a motivational failure [25].

Previous studies have reported that the mean number of ejaculations needed to reach the criteria for satiety is about seven during the first test and about 1 in the second test, 24 hours later [1,9,10,24]. In the present study, the SD and the FSL rats had very similar numbers of ejaculations before satiety (8.3 and 7.7, respectively), while the FRL rats showed a significant decrease in their ejaculatory activity (5.8). In the test, performed 24 h later, however, 100% of the SD subjects displayed ejaculatory activity at least one time and more than 50% of them could reinitiate activity for a second copulatory series, reaching a mean of 2.3 ejaculations. Both Flinders rats display ejaculatory activity during the second test, but their frequencies (1.8 for the FSL; 1.3 for the FRL) were smaller than those of the SD rats confirming the diminished ejaculatory activity displayed during the first test.

Pharmacological studies have shown that the participation of the cholinergic system in the regulation of masculine sexual behavior in rats is mediated mainly by the muscarinic receptors [2,6,7,22]. The stimulation of the cholinergic system by exogenous administration of selective agonists of the muscarinic receptors, such as oxotremorine, induces a clear facilitation of masculine sexual behavior [23]. Thus, the results obtained in the present study, that are mainly reflecting a certain level of sexual behavior inhibition, might be explained in terms of the cholinergic hyposensitivity reported for the FRL rats. However, the reduced sexual activity of the FSL rats could not be accounted for by their cholinergic hypersensitivity. Other factors must be considered to account for the reduced sexual activity of the FSL rats.

It has been recently reported that FSL rats also showed alterations in the serotonergic system, including hypersensitivity to 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>1B</sub> agonists [16,30] and more 5-HT<sub>1A</sub> receptors in certain brain areas than FRL rats [26]. Also, the FSL rats have been shown to exhibit supersensitive hypothermic [4] and aggression-promoting [20] responses to dopamine agonists. Because both Flinders lines showed similar sexual behavior deficits, these results cannot be explained in

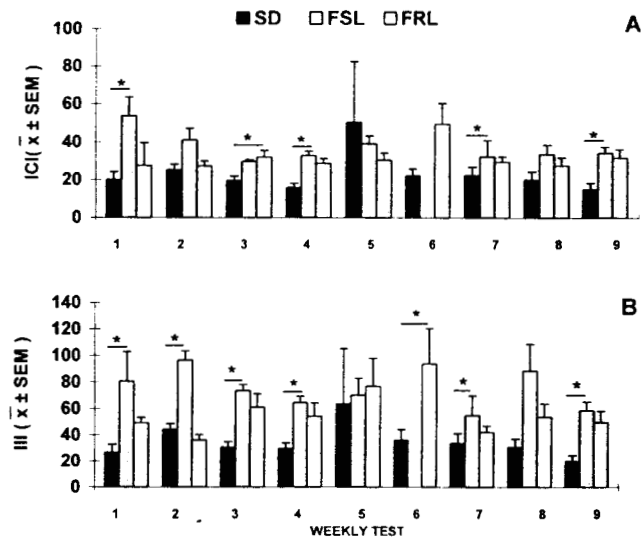


Fig. 7. (A) Intercopulatory interval (ICI), and (B) inter-intromission interval (III), preceding the first ejaculation in 9 weekly tests of 30 min, from 22 to 30 weeks of age in three strains: Sprague-Dawley (SD), Flinders sensitive line (FSL) and Flinders resistant line (FRL). ( $\bar{x} \pm S.E.M.$  = mean  $\pm$  standard error mean). When significant, the Kruskal-Wallis ANOVA test was followed by the Newman-Keuls analog test to determine the source of significance. \* $P < 0.05$ .

terms of differential sensitivity for these neurotransmitters, mainly because these alterations in sensitivity have been found only in the FSL rats.

On the other hand, a factor that must be taken into account for the explanation of the present results is the deleterious effect of endogamy. In the last few years, it has been well established that endogamy could induce a fertility problem named inbreeding depression in mammals [3,8,19] including humans [11]. Although the Flinders lines have been maintained by avoidance of close relatives in the mating scheme, they are likely to be highly inbred because of the small number of original parents. The effect of the inbreeding depression on sexual behavior has been analyzed only recently in a variety of dwarf male mice homozygous for the little gene mutation (*lit*), in which there has been a marked incidence of infertility [3]. Despite their normal spermatogenesis and testicular steroidogenesis, these mice require significantly longer times for the first mount, first intromission, and ejaculation. In addition, it has been shown that inbreeding could induce some disturbances in several behavioral patterns in rat. For example Escorihuela et al. [5] have shown that inbred

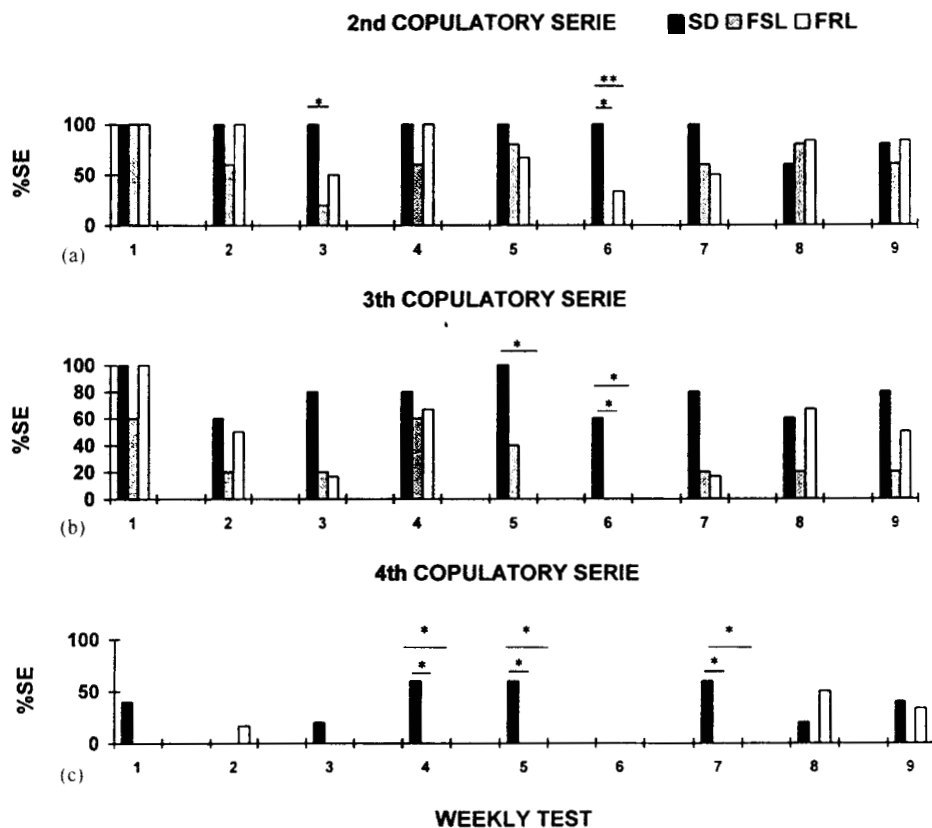


Fig. 8. Percentage of subjects (Ss) displaying ejaculations during the (a) second, (b) third, and (c) fourth copulatory serie in 9 weekly tests of 30 min, from 22 to 30 weeks of age in three strains: Sprague-Dawley (SD), Flinders sensitive line (FSL) and Flinders resistant line (FRL). \* $P < 0.05$  and \*\* $P < 0.01$  using the Chi-square probability test.



animals from the Roman high- and low-avoidance lines displayed alterations in behavioral performance in the open field test, in the elevated plus-maze test and in the shuttle box test. These differences in locomotor activity, exploratory, and self-grooming behavior were actually greater between the inbred strains than between the outbred lines; therefore, inbreeding can affect some behaviors in rats and it is possible that inbreeding could have influenced the sexual behavior observed in the present study.

Thus, the primary finding in this report was that certain deficits in masculine sexual behavior were observed in both FSL and FRL rats relative to SD rats. There were very few differences between FSL and FRL rats themselves. The most likely basis for these findings is endogamy.

### Acknowledgements

The present study was partly supported by CONA-CyT. Grant no. 400200-5-26442M (JVM).

### References

- [1] Beach FA, Jordan L. Sexual exhaustion and recovery in the male rat. *Q J Exp Psychol* 1956;8:121–33.
- [2] Bitran D, Hull E. Pharmacological analysis of male rat sexual behavior. *Neurosci Biobehav Rev* 1986;11:365–89.
- [3] Chubb C. Sexual behavior and fertility of little mice. *Biol Reprod* 1987;37(3):564–9.
- [4] Crocker AD, Overstreet DH. Changes in dopamine sensitivity in rats selectively bred for differences in cholinergic function. *Pharmacol Biochem Behav* 1991;38:105–8.
- [5] Escorihuela RM, Fernández Teruel A, Gil L, Aguilar R, Tobeña A, Driscoll P. Inbred Roman high- and low-avoidance rats: differences in anxiety, novelty-seeking, and shuttlebox behaviors. *Physiol Behav* 1999;67(1):19–26.
- [6] Hull E, Bitran D, Pehok E, Holmes G, Warner R, Band L, et al. Brain localization of cholinergic influence of male sexual behavior: agonists. *Pharmacol Biochem Behav* 1988a;31:169–74.
- [7] Hull E, Pehok E, Bitran D, Holmes G, Warner R, Band L, et al. Brain localization of cholinergic influence of male sexual behavior antagonists. *Pharmacol Biochem Behav* 1988b;31:175–8.
- [8] Laikre-Linda. Conservation genetics of Nordic carnivores: lessons from zoos. *Mammalia* 1999;30(3):203–16.
- [9] Larsson K. Conditioning and sexual behavior in the male albino rat. Stockholm: Almqvist & Wiksell. 1956:269.
- [10] Lawrence K, Barfield R. Differential rates of exhaustion and recovery of several parameters of male rat sexual behavior. *J Comp Physiol Psychol* 1975;88:693–703.
- [11] Ober C, Hyslop T, Hauck WW. Inbreeding effects on fertility in humans: evidence for reproductive compensation. *Am Hum Genet* 1999;64(1):225–31.
- [12] Overstreet DH, Russell RW, Helps SC, Messenger M. Selective breeding for sensitivity to anticholinesterase, DFP. *Psychopharmacology* 1979;65:15–20.
- [13] Overstreet DH, Russell RW. Selective breeding for sensitivity to DFP. Effects of cholinergic agonists and antagonists. *Psychopharmacology* 1982;78:150–4.
- [14] Overstreet DH, Russell RW, Crocker AD, Schiller GD. Selective differences in cholinergic function: pre- and post-synaptic mechanisms involved in sensitivity to the anticholinesterase, DFP. *Brain Res* 1984;294:227–32.
- [15] Overstreet DH. Selective breeding for increased cholinergic function: development of a new animal model of depression. *Biol Psychiat* 1986;21:49–58.
- [16] Overstreet DH, Rezvani AH, Janowsky DS. Genetic animal models of depression and ethanol preference provide support for cholinergic and serotonergic involvement in depression and alcoholism. *Biol Psychiat* 1992;31:919–36.
- [17] Overstreet DH. The Flinders sensitive line of rats: a genetic animal model of depression. *Neurosci Behav Rev* 1993;17:51–68.
- [18] Pepe S, Overstreet DH, Crocker AD. Enhanced benzodiazepine responsiveness in rats with increased cholinergic function. *Pharmacol Biochem Behav* 1988;31:15–20.
- [19] Pillay N. The effects of inbreeding in two otomyine rodents. *Mammalia* 1998;62(4):521–8.
- [20] Pucilowski O, Eichelman BS, Overstreet DH, Rezvani AH, Janowsky DS. Enhanced affective aggression in genetically bred hypochocholinergic rats. *Neuropsychobiology* 1991;24:37–41.
- [21] Pucilowski O, Overstreet DH, Rezvani AH, Janowsky DS. Chronic mild stress-induced anhedonia: greater effect in a genetic rat model of depression. *Physiol Behav* 1993;54:1215–20.
- [22] Retana-Márquez S, Velázquez-Moctezuma J. Evidence that the M1 muscarinic receptor subtype mediates the effects of oxotremorine on masculine sexual behavior. *Neuropsychopharmacology* 1993;9:267–70.
- [23] Retana-Márquez S, Domínguez-Salazar E, Velázquez-Moctezuma J. Muscarinic and nicotinic influences on masculine sexual behavior in rats: effects of oxotremorine, scopolamine and nicotine. *Pharmacol Biochem Behav* 1993;44:913–7.
- [24] Rodríguez-Manzo G, Fernández-Guasti A. Reversal of sexual exhaustion by serotonergic and noradrenergic agents. *Behav Brain Res* 1994;62:127–34.
- [25] Sachs B, Meisel R. The physiology of male sexual behavior. In: Knobil E, Neil J, editors. *The physiology of reproduction*. New York: Raven Press, 1988:1393–482.
- [26] Schiller GD. Altered behavioral sensitivity to serotonergic agonist in an animal model of depressive disorders: Receptor binding correlates and cholinergic-serotonergic systems interaction. *J Neurochem* 1991;57:S138.
- [27] Schiller GD, Pucilowski O, Wienicke C, Overstreet DH. Immobility-reducing effects of antidepressants in a genetic animal model of depression. *Brain Res Bull* 1992;28:821–3.
- [28] Shiromani PJ, Overstreet DH, Levy D, Goodrich CA, Campbell SA, Gillin JC. Increased REM sleep in rats selectively bred for cholinergic hyperactivity. *Neuropsychopharmacology* 1988;1:127–33.
- [29] Shiromani PJ, Velázquez-Moctezuma J, Overstreet DH, Shalauta M, Lucero S, Floyd C. Effect of sleep deprivation on sleepiness and increased REM sleep in rats selectively bred for cholinergic hyperactivity. *Sleep* 1991;14:116–20.
- [30] Wallis E, Overstreet DH, Crocker AD. Selective breeding for increased cholinergic function: increased serotonergic sensitivity. *Pharmacol Biochem Behav* 1988;31(2):345–50.
- [31] Whybrow PG, Akiskal HS, McKinney WT. *Mood disorders: toward a new psychobiology*. New York: Plenum Press, 1984.
- [32] Wilson JR, Kuehn RE, Beach FA. Modifications in the sexual behavior of male rats produced by changing the stimulus female. *J Comp Physiol Psychol* 1963;56:636–44.
- [33] Zar JH. *Biostatistical analysis*, 2nd ed. Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall, 1984.