

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA



Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias
División de Ciencias Biológicas
Departamento de Ciencias Ambientales

INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS

Efecto del alcohol sobre el estado de ansiedad generado por la cópula de intervalo forzado en ratas macho

Tesis

que para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS DEL COMPORTAMIENTO
(OPCIÓN NEUROCIENCIAS)

presenta

KORAL ELIZABETH RIVERA SÁNCHEZ

Comité tutelar

Dra. Marisela Hernández González (Directora)

Mtro. Sergio Meneses Ortega

Dr. Miguel Angel Guevara Pérez

Dr. Jorge Juárez González

INDICE

RESUMEN	4
ABSTRACT	6
INTRODUCCIÓN	8
ANTECEDENTES	11
Estrés y Ansiedad	11
Neuroquímica del estrés y la ansiedad	13
Efecto del estrés sobre las hormonas del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal y del eje hipotálamo hipófisisgónada	14
Conducta sexual masculina	16
Estrés y conducta sexual	18
Cópula de Intervalo Forzado	20
Alcohol	23
Farmacocinética del alcohol	23
Alcohol y neurotransmisores	24
Alcohol, estrés y ansiedad	27
Pruebas para medir ansiedad	30
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	33
OBJETIVOS	34
HIPÓTESIS	35
MÉTODO	36
Animales	36
Registro de ejecución motora	38

Registro de cópula <i>ad libitum</i>	39
Prueba de cópula de intervalo forzado hasta eyaculación	40
Prueba de cópula de intervalo forzado sin eyaculación	41
Prueba de laberinto elevado en cruz	41
Análisis estadístico	43
RESULTADOS	44
DISCUSIÓN	49
CONCLUSIONES	62
REFERENCIAS	63

AGRADECIMIENTOS

A la directora del presente trabajo, la Dra. Marisela Hernández González por su dedicación, paciencia y amistad.

A mi padre Raúl, por su cariño y comprensión y por aguantarme en los momentos difíciles.

A José Francisco Carranza González, gracias por todos los momentos que hemos compartido

Al Dr. Miguel Ángel Guevara, por su apoyo académico y por alentarme a seguir adelante, por su amistad.

Al Dr. Jorge Juárez y al M. en C. Sergio Meneses, por sus valiosas aportaciones como miembros del comité tutorial.

A la Dra. Claudia Amezcua Gutiérrez, por su apoyo en todo momento y por su gran amistad.

A Natalia, por su valiosa colaboración y amistad

A mis compañeros de laboratorio.

A la Universidad de Guadalajara, por darme la oportunidad de formarme como profesionalista.

Al Instituto de Neurociencias de la Universidad de Guadalajara y a todos sus miembros; investigadores y compañeros de trabajo que me brindaron su apoyo.

RESUMEN

El modelo de cópula de intervalo forzado (CIF), que consiste en establecer intervalos fijos de tiempo entre cada intromisión que ejecuta la rata macho durante la interacción sexual, es un modelo que, se ha sugerido, induce ansiedad moderada; la cual es determinada por el menor número de intromisiones requeridas para eyacular. Por otro lado, el alcohol es una droga de abuso a la cual se le han atribuido propiedades ansiolíticas, aunque este efecto depende del tipo de estresor y de las cantidades de alcohol consumidas. Con el fin de dilucidar si el alcohol ejerce un efecto ansiolítico, dependiente de la dosis, sobre la ansiedad generada por la cópula de intervalo forzado, en ratas macho; y si ésta a su vez puede alterar la ejecución de las ratas en una prueba típica de ansiedad, en el presente estudio se realizó el siguiente procedimiento: a dos grupos de ratas macho de la cepa Wistar, sexualmente expertos, se les administró por vía i.p. alcohol (0.5g/kg ó 0.75g/kg) y 15 minutos después se sometieron a pruebas de ejecución motora en campo abierto, para posteriormente someterlos a CIF hasta eyaculación, CIF hasta 2 o 3 intromisiones y recorrido en laberinto elevado. Los sujetos del grupo control en cópula ad libitum presentaron en promedio 8 intromisiones antes de eyacular, en tanto que en la CIF presentaron en promedio 7.5 intromisiones previas a la eyaculación, es decir, no se observó el efecto ansiogénico que se ha sugerido induce la CIF. El alcohol no afectó la ejecución motora pero sí indujo un incremento del número de montas y un decremento del hit rate o eficiencia sexual de los sujetos tratados con 0.5 g/kg de peso durante la interacción copulatoria ad-libitum, sin ejercer ningún efecto drástico sobre la cópula con intervalo forzado, a excepción de una ligera tendencia a disminuir el número de intromisiones previas a la eyaculación. Tomando

en cuenta estos datos, se evaluó también el efecto de la CIF hasta 3 intromisiones sin eyaculación sobre la ejecución en el laberinto elevado, una prueba estandar para medir ansiedad. Se encontró que los sujetos sometidos a CIF permanecieron sólo un 20 % del tiempo total de la prueba (5 min) en los brazos abiertos y mayor tiempo en los brazos cerrados. Esta menor permanencia en los brazos abiertos que los sujetos presentaron inmediatamente después de la CIF no fue incrementada por la administración de 0.5 o 0.75 gr/kg de alcohol, es decir, el alcohol no disminuyó la posible ansiedad durante la ejecución en el laberinto elevado de los sujetos previamente sometidos a CIF. El hecho de que los sujetos del grupo alcohol no hayan permanecido más tiempo en los brazos abiertos, sugiere que la posible ansiedad generada en los sujetos ya sea por su exposición al propio laberinto elevado o por la CIF, no fue contrarrestada por el alcohol, lo cual pudiera deberse a las bajas dosis administradas de este fármaco. Tomados juntos, los presentes resultados no parecen confirmar el efecto ansiogénico que se ha sugerido induce la CIF sobre la interacción copulatoria de la rata macho y además, muestran que dosis bajas de alcohol no afectaron la interacción copulatoria con intervalo forzado ni la posible ansiedad generada en la rata por la exposición al laberinto elevado después de CIF hasta tres intromisiones. Es probable que lo que se ha denominado como “ansiedad generada por cópula de intervalo forzado” no sea ansiedad, sino sólo un estado de activación general del sujeto que le permite eyacular con menos intromisiones, estado de activación general que no fue afectada por dosis bajas de alcohol y que no afectó la ejecución en una prueba típica de ansiedad (el laberinto elevado).

ABSTRACT

The enforced interval of copulation (EIC) consists of the artificial prolongation of the interintromission interval; it induces a reduction in the number of intromissions preceding ejaculation, and is accompanied by an anxietylike behavior repertoire. It has been demonstrated that the administration of several anxiolytics produce a dose-dependent inhibition of the EIC effect with a concomitant increase in mounting, data that has been used to suggest that an increase in the anxiety levels may be responsible for the excitatory action of the EIC on male rat sexual behavior. Several studies have been demonstrated the anxiolytic effects of the alcohol, although, now a day there are various reports about the alcohol effects on the sexual behavior as well as on anxiety, it is unknown if the anxietylike behavior repertoire can be affected by the alcohol. Thus, this work was made with the aim to investigate the alcohol effects on the EIC in sexually-experienced males and, moreover, to know if the alcohol affects the performance in the elevated plus maze of male rats previously submitted to EIC. Three groups of Wistar male rats sexually-experienced were intraperitoneally (i.p) injected with a low dose (LD, 0.5g/kg) or a high dose (HD, 0.75g/kg) of alcohol as well as with a similar volume of water (control group, CTRL) and 15 min after were tested in a motor performance test and submitted to *ad libitum* sexual behavior. After four days, the subjects of the groups were again i.p. injected with the solutions, and 20 min after, were submitted to EIC, in which the female was withdrawn for 1 min after the male achieved each intromission until ejaculation. Finally, after four days, and 20min after the i.p. administration of the solutions, the subjects were submitted to EIC without ejaculation (until 3 intromissions) and immediately tested in the elevated plus maze. The

subjects of the CTRL group in ad libitum copula had a similar number of intromission that in the EIC, so that it was not observed the anxyogenic effect that has been reported in other studies. In *ad libitum* copula, the subjects of the LD group showed an increase in the number of mounts and a decrease in the hit rate value as compared to the subjects of the CTRL group; however, no effects of the alcohol were obtained on the EIC. The subjects of the three groups that were submitted to EIC immediately before their performance in the elevated plus maze showed similar anxiety levels, so that, the alcohol didn't affect the performance of the subjects with EIC in this standard test to measure anxiety. Taken together, these results disagree with the suggestion that the EIC induce an anxiety state in the male rat and showed that the alcohol doses administered in this work didn't affect the EIC neither the possible anxiety generated in the rat as result of their exposition to elevated plus maze immediately after they were submitted to EIC until 3 intromissions. It is probably that what has been denominated as "anxiety generated by EIC" is not anxiety, but a "general activation state" that allows the subject to reach the ejaculation with a minor number of intromissions. General activation that in this study was neither affected by the alcohol nor the performance of the male rats in the elevated plus maze.

INTRODUCCIÓN

La conducta sexual es una conducta motivada típica de la especie que, al igual que otras conductas motivadas (como la ingesta, la bebida, etc.), es dependiente de diferentes estímulos sensoriales internos y externos (Hernández-González, 2000). Consta de dos fases: 1) Fase apetitiva: que abarca los aspectos motivacionales e incluyen las actitudes de cortejo por parte del macho, y la proceptividad en la hembra. 2) Fase consumatoria o de ejecución: en el macho son la intromisión y eyaculación, y en la hembra la postura de lordosis. La duración de la conducta precopulatoria, estimada a través de la latencia de monta y la latencia de intromisión (el tiempo que transcurre desde la introducción de la hembra a la caja en que se encuentra el macho hasta que se realiza la primer monta o intromisión respectivamente), proporciona una estimación del estado de motivación del macho. Larsson en 1956 encontró que la breve interrupción repetida de la interacción copulatoria disminuía el número de intromisiones y por lo tanto, el tiempo requerido para que el macho eyaculara. A este procedimiento lo denominó el “modelo de cópula de intervalo forzado”, el cual consiste en establecer intervalos fijos de tiempo entre cada intromisión que ejecuta la rata macho durante la interacción sexual. Tal manipulación se efectúa sacando de la caja de observación ya sea al macho o a la hembra por un tiempo fijo (desde 30 seg hasta 3 minutos) después de cada intromisión, sucesivamente, hasta que alcanza la eyaculación. Larsson propuso que el intervalo forzado tiene dos efectos, por un lado cambia la relación entre la cópula y los reflejos copulatorios, y por otro lado, eleva los niveles de actividad, haciendo que los animales se vuelvan hiperactivos. Dado el particular comportamiento que muestran los machos al retirar a la hembra durante la interacción copulatoria, se ha

sugerido que este estado hiperactivo es un estado de estrés o ansiedad. Existen trabajos que fundamentan esta sugerencia, de los cuales destacan los experimentos efectuados por Fernández-Guasti y cols., (1989), en el que observaron que si sólo se dejaba a los machos llegar a 5 intromisiones sin llegar a eyacular, e inmediatamente someterlos al paradigma de conducta de enterramiento, los machos mostraban un incremento de dicha conducta comparados con los sujetos que habían dejado eyacular. En otro experimento de Fernández-Guasti y cols. (1991) ratas macho sometidos al modelo de copula de intervalo forzado, la administración previa (30 minutos) de benzodiazepinas, pentobarbital y buspirona, ansiolíticos que han probado su eficacia, impidió el estado facilitador de la conducta eyaculatoria (reducción en el número de intromisiones previas a la eyaculación) causado por la copula de intervalo forzado. Estos resultados indican por un lado, que el intervalo forzado copulatorio induce un estado moderado de ansiedad que se traduce en una facilitación eyaculatoria y por otro lado, que tal estado de ansiedad puede ser inhibido o reducido por la administración previa de ansiolíticos.

Existen evidencias experimentales de que el alcohol ejerce propiedades ansiolíticas tanto en humanos (Grove y Cadoret, 1983; Sullivan y cols., 2005) como en animales (Annemoon y cols., 2001; Varlinskaya y cols., 2001), y aunque existen diversos estudios del efecto del alcohol sobre sus propiedades ansiolíticas y sobre la conducta sexual, a la fecha no se sabe si la supuesta ansiedad moderada generada por la CIF en la rata pudiera ser afectada por el alcohol.

Por lo anterior, el presente estudio se realizó con la finalidad de investigar si la administración aguda de alcohol a bajas dosis suprime el efecto facilitador de la

eyaculación generada por la cópula de intervalo forzado, y si éste a su vez altera la ejecución de la rata macho con CIF en una prueba típica de ansiedad, el laberinto elevado.

ANTECEDENTES

ESTRÉS Y ANSIEDAD

Uno de los problemas que enfrenta la sociedad actual es la deficiencia adaptativa de las respuestas emocionales a la vida cotidiana. Las respuestas hacia situaciones de peligro pueden tener tres salidas: una de ellas involucra la respuesta de lucha, otra implica una respuesta de escape o evasión que, a su vez, está relacionada con los fenómenos de ansiedad, y otra es la respuesta de congelamiento (Picazo y Ferreira, 2002).

Bonilla y cols. (2005) mencionan que “el organismo se mantiene gracias a un equilibrio dinámico conocido como homeostasis, que constantemente es desafiada por factores adversos, intrínsecos o extrínsecos, conocidos como estresores. Cuando dichos estresores modifican la homeostasis provocan una respuesta conocida como estrés, durante el cual se activan mecanismos tendientes a neutralizar los efectos de los estresores. La respuesta adaptativa al estrés depende de la calidad (física o emocional), de la intensidad y de la duración (agudo o crónico) del estímulo estresante. Esta respuesta se caracteriza por cambios de tipo físico y conductual que incluyen el aumento de los umbrales sensitivo y cognoscitivo, incremento del estado de alerta, aumento de la memoria selectiva, analgesia, así como la supresión de la ingesta de alimento y de la conducta sexual y reproductiva”.

El estrés es una condición natural, a nivel biológico, considerada como un estado de superalerta que es un elemento clave para la supervivencia del individuo (Pasantes, 1997); es un proceso que se inicia ante un conjunto de demandas ambientales que recibe el individuo, a las cuales debe dar una respuesta adecuada, poniendo en marcha sus recursos de afrontamiento. Cuando la demanda del ambiente es excesiva frente a los recursos de

afrentamiento que se poseen, se van a desarrollar una serie de reacciones adaptativas que implican activación fisiológica, la cual va a persistir mientras permanece el estresor y desaparece en cuanto el estresor es eliminado. Esta reacción de estrés incluye una serie de reacciones emocionales (negativas y positivas) de las cuales las más importantes son: ansiedad, ira, depresión, alegría, satisfacción, placer, enfado, tristeza, etc. (Bonilla y cols., 2005). No obstante, dependiendo del individuo, ésta respuesta adaptativa puede producir diversos efectos, ya que el mismo estímulo llega a desencadenar problemas de salud en algunos individuos y situaciones neutrales o estimulantes en otros. Es decir, la exposición al estrés puede ser una fuente de motivación conductual, sin embargo, cuando tal exposición es excesiva, puede llevar a la pérdida de la motivación (Picazo y Ferreira, 2002).

Cuando la presencia de los estímulos estresantes es permanente (crónico), entonces el organismo se mantiene también en un estado crónico de alerta que da lugar a la ansiedad generalizada, la cual se puede definir como una reacción emocional ante una amenaza, caracterizado por intranquilidad, expectación aprensiva y aumento en la vigilancia, en la que se desencadena una serie de reacciones vegetativas como sudoración, taquicardia, tensión muscular, insomnio y temblores (Koob, 1996; Fernández-Guasti, 2004). A diferencia del estrés, la ansiedad persiste aún cuando aquello que lo provocó ya no exista (Bonilla y cols., 2005).

NEUROQUÍMICA DEL ESTRÉS Y LA ANSIEDAD

A nivel del sistema nervioso central el estrés induce cambios importantes en varios circuitos de neurotransmisión. Se ha especulado que el estrés crónico quizá tenga como consecuencia una disminución de la transmisión GABAérgica con la subsecuente elevación de la excitación dada por el glutamato en varias regiones cerebrales como son corteza, hipocampo, núcleo estriado (Biggio y cols, 1990). Se ha documentado que varios estresores como choques eléctricos y hemorragias, activan al sistema del locus coeruleus noradrenérgico, con el subsecuente incremento de noradrenalina (Solomon, 1986). La noradrenalina aumenta la frecuencia cardiaca, el flujo y la presión de la sangre, en tanto que incrementa la disponibilidad de la glucosa en todo el organismo, lo que junto con el cortisol explica su característica excitadora, la respuesta autonómica del estrés (Fernández-Guasti, 1991). Los cuerpos neuronales que contienen serotonina se concentran mayoritariamente en los núcleos del rafe, en relación a su participación en la respuesta de estrés, estudios electrofisiológicos realizados en gatos encuentran que diferentes situaciones incrementan la frecuencia de disparo de las neuronas del núcleo del rafe (Jacobs, 1992). La función de la serotonina en la respuesta evasiva parece ocurrir por su efecto como agente modulador de corticosteroides durante el estrés (Picazo y Ferreira, 2002), aumentando la secreción de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH), que junto con las β -endorfinas es liberada del lóbulo anterior de la hipófisis en respuesta a diferentes estresores (Retana-Marquez, 2001; Picazo y Ferreira, 2002), a su vez, la ACTH facilita la liberación de cortisol. El cortisol participa de manera directa en la respuesta de enfrentamiento o evasión al agente estresante, principalmente al acelerar la transformación de proteínas en glucosa y aumentar la cantidad de trifosfato de adenosina (ATP), pero por otro lado, suprime otras funciones relacionadas

con la reproducción, como es la síntesis de hormonas sexuales (Picazo y Ferreira, 2002). La secreción de ACTH y β -endorfinas es regulada por el factor liberador de la corticotropina (CRF). Las neuronas CRF-érgicas se ubican en el hipotálamo y sus receptores tienen una amplia distribución en el sistema nervioso central, lo que le permite un amplio rango de efectos metabólicos, cardiovasculares y conductuales. Esta neurohormona activa la locomoción en ambientes familiares y, en ambientes extraños, provoca una postura de congelación (Sutton y cols., 1982). El CRF estimula también el olfateo, el acicalamiento (Morely y Levine, 1982), el erguimiento, la agresión (Koob y cols., 1994) y disminuye la conducta sexual (Sirinathsinghji, 1987; Dornan y Malsbury, 1989), el sueño y la conducta exploratoria, mientras que en situaciones estresantes, puede inhibir la secreción de las gonadotropinas directa y/o indirectamente a través de los opioides endógenos (Bonilla y cols., 2005).

EFFECTO DEL ESTRÉS SOBRE LAS HORMONAS DEL EJE HIPOTÁLAMO-HIPÓFISIS-ADRENAL Y DEL EJE HIPOTÁLAMO-HIPÓFISIS-GÓNADA

Se ha sugerido que la activación del eje hipotálamo-hipófisis-corteza suprarrenal (HHS) por un estresor particular depende crucialmente del atributo del estímulo, en general, las vías límbicas son más sensibles a estresores involucrados en procesamiento sensorial de alto orden, por ejemplo, restricción, miedo condicionado o exposición a un ambiente novedoso. Por tanto, el sistema límbico es capaz de aumentar o disminuir la respuesta HHS dependiendo de la experiencia previa o del nivel de activación en curso (Herman y Cullinan, 1997). Se sabe que la exposición crónica a los estresores incrementa la actividad del eje HHS, que a su vez deprime la actividad del eje hipotálamo-hipófisis-gónada (HHG)

(Bonilla y cols., 2005). Otro mecanismo posible es por efecto directo de los glucocorticoides a diferentes niveles del eje HHG (Bonilla y cols., 2005). El control central de la secreción de glucocorticoides es regulada principalmente por neuronas del núcleo paraventricular del hipotálamo. Cuando se da la estimulación por estrés, estas hormonas secretan ACTH, siendo las más importantes la hormona liberadora de corticotropinas y la arginina-vasopresina dentro de la pituitaria. El incremento de ACTH conduce a la síntesis y secreción de glucocorticoides por la corteza adrenal, en donde son liberados hacia la circulación general (Herman y Cullinan, 1997). Los glucocorticoides actúan incrementando la síntesis de las enzimas que favorecen la gluconeogénesis, inhiben además la absorción de glucosa y de aminoácidos por el músculo y también estimulan la movilización de ácidos grasos desde el tejido adiposo. Estos efectos metabólicos dan como resultado el incremento de los niveles de glucosa sanguínea, aumentando la disponibilidad de energía para el sistema nervioso. Asimismo, los glucocorticoides inhiben la respuesta inflamatoria, incrementan la presión arterial normal y provocan inmunosupresión. La magnitud de la respuesta al estrés dada por las neuronas del núcleo paraventricular del hipotálamo es limitada por mecanismos neuronales y hormonales que mantienen dentro de los límites tolerables a los glucocorticoides (Herman y Cullinan, 1997). Los estudios en ratas y ratones muestran que la exposición aguda (de segundos hasta tres horas) a estresores como la inmovilización, los choques eléctricos en las patas, la exposición al frío o al éter, el ejercicio o la privación de alimento provocan un incremento en la secreción de CRF, ACTH, β -endorfinas y corticosterona o cortisol. Además se ha visto un aumento en los niveles plasmáticos de hormona luteinizante (LH), folículo estimulante (FSH), prolactina y testosterona en los machos que son expuestos a estrés por ruido, inmersión en agua fría,

inmovilización, frío, calor y la luz (Retana-Márquez y cols., 1998; Retana-Márquez, 2001). Por otro lado, el estrés crónico (desde seis horas hasta varios días) por inmovilización, choques eléctricos intermitentes aplicados en las patas, ejercicio prolongado, iluminación constante, nado forzado en agua fría, ruido, privación de alimento y hacinamiento y estrés social provocan en la rata macho disminución de CRF hipotalámico, incremento de ACTH y glucocorticoides en plasma, así como inhibición del eje HHG en ratas macho por disminución de testosterona y LH en plasma (Bonilla y cols., 2005), mientras que en el hámster el nivel de testosterona en plasma aumenta cuando es sometido a estrés crónico (Retana-Marquez y cols., 1998).

CONDUCTA SEXUAL MASCULINA

La conducta sexual es una conducta motivada típica de la especie que, al igual que otras conductas motivadas (como la ingesta, la bebida, etc.), es dependiente de diferentes estímulos sensoriales internos y externos (Hernández-González, 2000).

El contacto genital que caracteriza a la cópula generalmente es precedido por una variedad de conductas precopulatorias o de cortejo. En la rata macho el cortejo es muy breve (dura unos cuantos segundos); incluye la orientación del macho hacia la hembra y a menudo se basa en la expresión de patrones conductuales como son la investigación olfatoria y gustativa de la región anogenital de la hembra, el marcaje y la investigación de la orina. El macho también puede empujar o frotarse contra la hembra, o moverse por arriba o debajo de su torso. Tanto el macho como la hembra pueden emitir vocalizaciones ultrasónicas durante este periodo, las cuales, probablemente, aumentan la excitación sexual de la pareja y de él mismo (Dewsbury, 1979; Meisel y Sachs, 1994).

La hembra realiza olfateo y conductas de presentación hacia el macho, brincos rápidos y espasmódicos con las patas traseras rígidas e inclinadas ("darting"), orientación de sus cuartos traseros hacia el macho y movimientos rápidos de la cabeza que dan como resultado la vibración de las orejas, respuestas que en conjunto constituyen una conducta de señalamiento sexual muy significativa para el macho (Larsson, 1979).

Las acciones de cortejo terminan cuando el macho es capaz de ejecutar respuestas motoras que permiten el contacto corporal y genital con la hembra. La rata macho trepa sobre la grupa de la hembra, sujeta y palpa sus flancos con las patas delanteras realizando movimientos pélvicos rítmicos y alternantes, y de este modo ejecuta las conductas de monta (M), intromisión (I) y eyaculación (E) (Meisel y Sachs, 1994).

La monta es la adopción por parte del macho de la postura copulatoria; éste se trepa sobre la grupa de la hembra por la parte dorsal, con las patas traseras permaneciendo en el suelo, mientras las patas delanteras sujetan a la hembra por los flancos traseros mientras realiza movimientos pélvicos rítmicos y alternantes, lo que provoca una intensificación de la postura receptiva de la hembra pero sin conseguir la inserción del pene en la vagina (Baum 1992; Nelson, 1996).

La intromisión se describe como la inserción del pene en la vagina durante la monta, se asocia con un movimiento pélvico profundo hacia adelante seguido por una desmonta brusca con dos o tres pasos hacia atrás (Baum 1992; Nelson, 1996).

La eyaculación, es decir, la expulsión seminal, se asocia con un movimiento pélvico vigoroso y por el levantamiento de las patas delanteras y una desmonta lenta (Nelson, 1996). Posterior a ello, el macho se acicala el pene por un tiempo mayor al que se acicala después de una intromisión o monta (Meisel y Sachs 1994; Sachs y cols. 1988).

El tiempo que transcurre entre la primera eyaculación y la primera intromisión de la segunda serie copulatoria se denomina intervalo posteyaculatorio, durante el cual el macho permanece insensible a la estimulación sexual, por lo que no se muestra interesado por la hembra; éste intervalo se ha dividido en dos periodos, una fase refractaria absoluta, en donde existe una inactividad motora y los sujetos son totalmente insensibles a estímulos sexuales, o incluso a estímulos ligeramente dolorosos, y una fase refractaria relativa, durante la cual un estímulo sexual nuevo puede provocar la reacción del macho (Nelson, 1996; Sachs y Barfield 1976).

La duración de la conducta precopulatoria estimada a través de la latencia de monta y la latencia de intromisión (el tiempo que transcurre desde la introducción de la hembra a la caja en que se encuentra el macho hasta que se realiza la primer monta o intromisión respectivamente) proporcionan una estimación del estado de motivación del macho. En pruebas en que la rata macho tiene acceso libre a la hembra, los actos conductuales que preceden a la copulación misma son mantenidos por un estado fisiológico que hace que el macho busque el contacto sexual con la hembra; así, la conducta de orientación hacia la hembra y la persecución, se han considerado en diversos trabajos como indicadores de la motivación sexual del macho (Shimura y Shimokochi, 1990; Shimura y cols., 1994).

ESTRÉS Y CONDUCTA SEXUAL

El estrés agudo afecta la ejecución sexual masculina, incrementando las latencias de intromisión y de eyaculación así como las frecuencias de monta e intromisión, lo mismo que el periodo refractario, además de disminuir la frecuencia eyaculatoria (Menéndez-Patterson, 1978), así como la espermatogénesis y la motivación sexual (Retana-Marquez y

cols., 1998) sin embargo, se ha observado que un incremento moderado de ansiedad reduce el número de intromisiones que preceden a la eyaculación (Fernández-Guasti y cols., 1990). Un ejemplo de ello es que la ansiedad moderada que presentan las ratas subordinadas en comparación con las dominantes, aumenta la conducta sexual de las primeras, ya que bajo estas condiciones eyaculan más rápidamente que los machos dominantes, de igual forma, cuando son sometidas a choques eléctricos de baja intensidad se reduce la cantidad de intromisiones necesarias para alcanzar la eyaculación, mientras que los choques de alta intensidad la inhiben por completo (Picazo y Ferreira, 2002). Los efectos del CRF sobre la conducta sexual masculina parecen estar mediados por las β -endorfinas. Este sistema se activa en respuesta a estresores como la inmovilización o los choques eléctricos (Valdez y Koob, 2004). Retana-Márquez y cols. (2003) sometieron a ratas a estrés por choques eléctricos o inmersión de manera repetida y observaron que las alteraciones de la conducta sexual coinciden con una drástica caída en los niveles plasmáticos de testosterona, además no observaron disminución en los pesos testiculares, ni ausencia de espermatozoides móviles en los tapones seminales de los machos estresados, tampoco observaron alteraciones histológicas notables en los testículos.

Fernández-Guasti y cols. (1990) utilizaron ratas macho sexualmente expertos de la cepa Wistar, a los cuales se les administraron ansiolíticos (diazepam) o ansiogénicos (beta carbolina Zk 39106) para posteriormente ser sometidos a conducta sexual, en los que se midieron las latencias de monta, intromisión y eyaculación, así como el número de montas e intromisiones. Ellos encontraron que dosis bajas de diazepam (0.5 mg/kg) no produjeron efecto sobre la conducta sexual, mientras que con dosis altas (1 mg/kg) se produjo un incremento en la cantidad de montas, la latencia de eyaculación y el intervalo

posteyaculatorio. Por otro lado, dosis bajas de Zk 39106 (2 y 4 mg/kg) redujeron el número de intromisiones, mientras que con dosis altas (8 mg/kg) se inhibió por completo la conducta sexual.

COPULA DE INTERVALO FORZADO

Larsson, en 1956, encontró que la breve interrupción de la interacción copulatoria disminuía el número de intromisiones y por lo tanto, el tiempo requerido para que el macho eyaculara. A este procedimiento lo denominó “modelo de cópula de intervalo forzado” el cual consiste en establecer intervalos fijos de tiempo entre cada intromisión que ejecuta la rata macho durante la interacción sexual. Tal manipulación se efectúa sacando de la caja de observación ya sea al macho o a la hembra por un tiempo fijo (desde 30 seg hasta 3 minutos) después de cada intromisión, sucesivamente, hasta que alcanza la eyaculación. Larsson evaluó los siguientes intervalos forzados: 15 segundos, 30 segundos, 1 minuto, 3 minutos, 5 minutos, 7 minutos y 10 minutos y contó el número de montas e intromisiones que precedían a la eyaculación así como la duración del periodo refractario. Larsson no encontró cambios entre el grupo control y el grupo al que se le retiró la hembra durante un intervalo de 15 segundos, pero en los sujetos a los que se les impusieron intervalos de 30 segundos, 1 minuto y 3 minutos después de cada intromisión, presentaron una evidente disminución en el número de intromisiones que precedían a la eyaculación, es decir, que el valor excitatorio de cada reflejo copulatorio individual se incrementaba con los intervalos forzados de una duración no menor a 30 segundos y no mayor a los 3 minutos. A partir de los 5 minutos de haber retirado a la hembra se observó que este efecto facilitador de la

eyaculación disminuía y que iba desapareciendo gradualmente conforme pasaban los minutos.

Larsson observó además que durante el tiempo que se retiraba la hembra, los machos se volvían impacientes y aparentemente excitados, por lo que al poner de nuevo a la hembra la copulación iniciaba inmediatamente y por lo tanto, la latencia de eyaculación se acortaba. No obstante lo anterior, la duración del periodo refractario no se vio afectada por el intervalo forzado impuesto al macho.

Con estas observaciones, Larsson propuso que el intervalo forzado tiene dos efectos, por un lado cambia la relación entre la cópula y los reflejos copulatorios, y por otro lado, eleva los niveles de actividad, haciendo que los animales se vuelvan hiperactivos.

Dado el particular comportamiento que muestran los machos al retirar a la hembra durante la interacción copulatoria, se ha sugerido que este estado hiperactivo es un estado de estrés o ansiedad. Existen varios trabajos que fundamentan esta sugerencia, Beach (1970), utilizando el modelo de Larsson, encontró que las perras presentaban un incremento en la frecuencia de reacciones sociales positivas, tales como presentación del área vulvar al macho, lamido de partes corporales del macho incluido el pene después de haber sido interrumpida la copula.

El paradigma de conducta de enterramiento es un paradigma específico para medir la ansiedad, donde se utiliza una caja con una cama de aserrín del que sobresale (7 cm de la altura) un aparato que provoca choques eléctricos (0.3 mA) a las ratas cuando lo tocan con cualquier parte de su cuerpo. En un experimento realizado por Fernandez-Guasti (1989) se evaluó el efecto de la interacción copulatoria sobre la ansiedad generada por este paradigma. Antes de someter a pruebas de ansiedad a las ratas macho, éstas fueron

sometidas a diferentes condiciones: 1) sin interacción sexual (grupo control), 2) después de 5 intromisiones de la primera serie copulatoria, 3) después de la eyaculación de la primera serie copulatoria, 4) 3 minutos después de la eyaculación de la primera serie copulatoria, 5) después de 2 intromisiones de la segunda serie copulatoria y 6) después de la eyaculación de la segunda serie copulatoria. Los resultados mostraron un incremento en la ansiedad experimentada por los sujetos del grupo control y con 5 intromisiones ya que presentaron latencias de enterramiento cortas y más alta frecuencia de enterramiento. Respecto a los sujetos que se les permitió alcanzar la primera eyaculación, todos mostraron una tendencia a mostrar bajos niveles de ansiedad durante el primer periodo de la prueba. Esta reducción en la ansiedad se reflejó en que todos los sujetos que lograron eyacular por segunda vez en una segunda serie copulatoria mostraron una reducción significativa en la conducta de enterramiento tanto en el primer periodo como en el segundo.

En otro experimento de Fernández-Guasti y cols. (1991) ratas macho de entre 250 y 300 gramos de peso de la cepa Wistar, sexualmente expertos, fueron sometidos al modelo de copula de intervalo forzado. La administración previa (30 minutos) de benzodiazepinas, pentobarbital y buspirona, ansiolíticos que han probado su eficacia, impidieron el estado facilitador de la conducta eyaculatoria (reducción en el número de intromisiones previas a la eyaculación) causado por la copula de intervalo forzado. Estos resultados indican por un lado, que efectivamente el intervalo forzado copulatorio induce un estado moderado de ansiedad que se traduce en una facilitación eyaculatoria y por otro lado, que tal estado de ansiedad puede ser inhibido o reducido por la administración previa de ansiolíticos.

ALCOHOL

El alcohol es una droga de abuso socialmente aceptada y cuyo consumo es muy alto entre los individuos de todas las edades ya que su uso es más generalizado debido a motivos recreacionales y de convivencia social, además de su gran accesibilidad para obtenerlo y consumirlo.

Como depresor central disminuye el funcionamiento de procesos superiores del cerebro, lo que le permite mayor autonomía de centros inferiores, entre ellos implicados en las respuestas emocionales (Feldman, 1997).

FARMACOCINETICA DEL ALCOHOL

El alcohol se absorbe con facilidad en el estomago e intestino delgado y más del 90% se metaboliza por el hígado a través de tres sistemas: el de la enzima alcohol deshidrogenasa (ADH) el sistema microsomal de oxidación del etanol (MEOS); y el sistema de catalasa. A través de estos sistemas el alcohol es transformado en acetaldehído y finalmente en acetato, el cual se libera en la sangre para ser metabolizado hasta CO₂ por los demás tejidos periféricos. El 10% del alcohol que no es metabolizado por el hígado es excretado en la orina, a través de la transpiración o se exhala por los pulmones. La velocidad de difusión del alcohol depende del volumen y de la concentración ingerida, así como de la presencia de comida en el estomago (Feldman y cols., 1997). El alcohol atraviesa las membranas celulares por medio de difusión pasiva a favor del gradiente de concentración (Kalant, 1996). Su efecto en el sistema nervioso y su velocidad de acción se deben, al menos en parte, a su solubilidad en agua. El alcohol es absorbido rápidamente en la sangre y así llega al cerebro (Feldman y cols., 1997). Evidencias experimentales muestran que el tiempo de

máximo efecto se da cuando el alcohol es administrado intraperitonealmente (de 15 a 30 minutos) y si la administración es oral, es entre 30 y 60 minutos. En ambos casos, los niveles en sangre y cerebro son similares, debido a que los dos contienen porcentajes similares de agua (alrededor del 80%) (Kalant 1996). El modelo lineal de compartimentalización individual indica que la curva de eliminación del alcohol en roedores es de 58.9 a 69.5 mg/dl/h (Faulkner y cols., 1990). Otro modelo de eliminación del alcohol es el no lineal, el cual menciona que la eliminación es dependiente de la concentración del alcohol en el organismo, siendo más rápida si hay más alcohol y más lenta si la concentración es menor (Kalant 1996).

ALCOHOL Y NEUROTRANSMISORES

La información es transmitida entre las neuronas por transmisores químicos, los cuales son liberados y subsecuentemente capturados por elementos receptivos en las neuronas. Estos eventos permiten una cascada de eventos intracelulares que cambian la excitabilidad de la célula y finalmente puede cambiar la actividad del circuito neural. Estos transmisores, en este caso, neurotransmisores, pueden ser afectados por la administración de alcohol u otras drogas. El circuito de recompensa sobre el cual está actuando el alcohol, está conectado entre el ATV y el N. Acc, tubérculo olfatorio, corteza frontal y amígdala, todos ellos involucran a neurotransmisores como serotonina, GABA, DA y opioides principalmente.

La serotonina es producida y liberada desde los núcleos del rafe el cual influye en funciones cerebrales relacionadas a la atención, emoción y motivación, teniendo proyecciones hacia la amígdala y el N. Acc. La administración aguda de alcohol incrementa los niveles de serotonina (Fernández-Espejo 2002). La serotonina puede interactuar con

GABA, mediando la señal de transmisión, excitando las neuronas que producen y secretan GABA. Un caso es el hipocampo, en el cual la serotonina puede activar las neuronas GABAérgicas. Consecuentemente, el efecto del alcohol en la serotonina puede alterar la actividad de las neuronas GABAérgicas en el hipocampo. Además, la serotonina, a través de los receptores 5-HT₃, puede alterar las señales de transmisión DAérgica, la cual nace en el ATV, y su activación durante el consumo agudo incrementa la tasa de liberación de DA y una regulación al alza en los niveles de AMPc en el NAcc y la amígdala (Lovinger, 1997). El alcohol actúa sobre receptores tipo GABA_A, en el NAcc y la CPF, que a su vez modulan la actividad dopaminérgica en dichas áreas (Fernández-Espejo 2002; Davies 2004). Dicho neurotransmisor Gabaérgico participa en la cognición, actividad motora y funciones sensoriales, por lo que pudiera estar involucrado en los efectos sedativos del alcohol (Feldman y cols., 1997). Cuando se administran dosis bajas de alcohol se incrementa la tasa de disparo de las neuronas dopaminérgicas en el ATV y sustancia nigra, lo cual, se ha reportado, se asocia con un incremento en la liberación de DA en el N. Acc, mientras que dosis altas disminuyen la tasa de disparo. Este incremento de DA se ha relacionado con la actividad motora en roedores y con los estados afectivos y placenteros de las conductas motivadas (Fieldman y cols., 1997). El glutamato es el principal neurotransmisor excitador en el SNC, y se ha mostrado que la administración aguda de etanol tanto a dosis elevadas como bajas, bloquea al receptor glutamatérgico NMDA, lo cual, se ha sugerido, inhibe la liberación de otros neurotransmisores como DA o NA (Izquierdo, 2002).

Otro neurotransmisor sobre el cual actúa el alcohol es la acetilcolina, potenciando su efecto sobre los receptores nicotínicos; este efecto se ha relacionado con la estimulación

motora que producen bajas dosis de alcohol y con la mediación de las propiedades de recompensa del alcohol (Izquierdo, 2002).

El sistema opioide endógeno consiste en un grupo de neuropéptidos, los cuales se dividen en tres familias de acuerdo a su precursor: las endorfinas, encefalinas y dinorfinas; y de receptores a opioides, los cuales también se dividen en mu, delta y kappa. Evidencias bioquímicas y farmacológicas indican que las propiedades reforzantes del alcohol pueden resultar en parte por la activación de opioides endógenos. Tanto los neuropéptidos como los receptores pueden ser afectados por el alcohol de diversas maneras, alterando la biosíntesis, liberación o las propiedades de los peptidos opiodes, así como su afinidad con sus receptores o su densidad en distintas áreas cerebrales (Gianoulakis, 1993; 1996).

La administración aguda de alcohol en ratas Sprague-Dawley induce incrementos en la liberación de β -endorfinas, en la pituitaria y el hipotálamo (Gianoulakis, 1990; Froehlich, 1997), esta activación podría estar incrementando el valor hedónico del alcohol (Froehlich, 1997). Las neuronas DAérgicas del ATV, las cuales envían proyecciones al N. Acc, son tónicamente inhibidas por neuronas GABAérgicas. Ésta inhibición puede ser a su vez inhibida por la estimulación de β -endorfinas o encefalinas a través del alcohol, provocando así la liberación de DA en el ATV (Gianoulakis, 1996). Se sabe que una dosis aguda de alcohol modula diferencialmente los receptores opioides μ en el ATV, N. Acc y CPF, Estos cambios en los receptores μ pueden contribuir a las alteraciones en la regulación de la actividad mesolímbica DAérgica (Méndez y cols., 2001).

ALCOHOL, ESTRÉS Y ANSIEDAD

La relación consumo de alcohol y estrés, ansiedad y/o depresión ha sido sugerida y mostrada en numerosos estudios. Así, el efecto ansiolítico del alcohol ha sido descrito en estudios humanos (Grove y Cadoret, 1983; Sullivan y cols., 2005) y animales (Sprague y Maickel, 1994; Annemoon y cols., 2001; Varlinskaya y cols., 2001). No obstante, los resultados obtenidos en sujetos estresados de si el consumo de alcohol aumenta o disminuye es impreciso, dado que en los humanos, las variables del ambiente, tipo de estrés, historia social, tiempo de consumo y tipo de alcohol consumido influyen de forma importante; por otro lado, en animales existen también datos contradictorios que probablemente resultan de las diferencias en la vía de administración y tipo de consumo de alcohol así como al tipo de estresor a que fueron sometidos los sujetos.

Para tratar de dilucidar la conexión entre el estrés y el uso o abuso del alcohol, se han realizado investigaciones con animales, usando ratones, ratas y monos como modelos del consumo de alcohol en humanos. Uno de los problemas a los que se enfrentan los investigadores es la renuencia en la mayoría de los animales en consumir el alcohol, por lo que se han establecido protocolos que inducen a los animales a consumirlo, reduciendo el estrés producido por la administración forzada (Annemoon y cols., 2001; Rood y cols., 2004).

Ratas expuestas crónicamente al alcohol muestran un incremento en la exploración en una prueba de laberinto elevado en el brazo descubierto, mientras que durante el periodo de abstinencia presentan un decremento (Langen y Fink, 2004; Valdez y Koob, 2004). En otro estudio, ratas Long-Evans tanto hembras como machos que fueron sometidas tanto a prueba de conducta de enterramiento como de laberinto elevado a las que se les administró

0.5, 1.0 y 1.5 g/Kg de alcohol vía intraperitoneal después de 10 minutos, mostraron un incremento en la latencia de enterramiento, así como un decremento en dicha conducta, mientras que en el laberinto elevado mostraron un incremento en el porcentaje de tiempo que permanecieron en los brazos abiertos, a los 30 minutos, también se observó este incremento en el porcentaje de tiempo que permanecieron en los brazos abiertos a dosis de 0.5, 1.0, 1.5 y 2 g/kg. En este estudio se midieron los niveles de corticosterona después de haber sido administrado el alcohol, solo después de haber sido sometidos a la prueba de enterramiento y no se encontraron alteraciones en los niveles de corticosterona (Wilson y cols., 2004). Se ha visto también que el consumo de alcohol decrece después de la exposición a choques eléctricos en las patas o a inmovilización de los sujetos (Sprague y Maickel, 1994), sin embargo, otros estudios observan que hay un incremento en el consumo de alcohol después de estar sometidos a los mismos estresores (Bowers y cols., 1997).

Annemoon y cols. (2001) sometieron a un proceso de inducción al alcohol a ratas macho Long-Evans (de 2.5 a 10%), en donde tuvieron acceso al alcohol ya sea antes o inmediatamente después de una prueba de estrés social (enfrentar a un sujeto ante la agresividad de un macho dominante). Se observó que los machos que fueron sometidos a tratamiento de alcohol al 10% antes de la prueba, presentaban una disminución de la conducta de defensa (postura erguida) en comparación de los que sólo consumieron agua. Los autores sugieren que el alcohol provocó una disminución de la ansiedad al disminuir la conducta de enfrentamiento al agresor.

En un estudio realizado por Varlinskaya y cols. (2001), administraron diferentes dosis de alcohol por vía intragástrica (de 0.25 a 4 g/kg) a ratas macho Sprague-Dawley, que fueron sometidas a pruebas de interacción social (juego, acicalamiento corporal, preferencia

o evitación social). Después de 30 minutos de la administración forzada de alcohol, encontraron que a dosis bajas (0.25 a 0.75 g/kg) los sujetos mostraron una mayor actividad social, mientras a dosis altas (2 a 4 g/kg) mostraron un decremento de esta conducta. Este efecto bifásico en relación a las dosis administradas de alcohol fue atribuido al efecto del alcohol sobre el sistema dopaminérgico, así como a su efecto en las β -endorfinas.

Otro estudio (Varlinskaya y Spear, 2002) con ratas Sprague-Dawley en donde administraron alcohol a diferentes dosis (0.25 a 1 g/kg) por vía intraperitoneal se encontró que los machos al ser sometidos a pruebas de movimiento e interacción social en un ambiente novedoso el alcohol no mostró los efectos ansiolíticos que se han encontrado en otros estudios, es decir, los sujetos tanto del grupo control, como los sujetos a los que se administró alcohol mostraron una disminución en la actividad social, sin que estas dosis provocaran una alteración evidente en la ejecución motora.

La administración intragástrica (4.5g/kg) del día 1 al 22 postnatal de alcohol, sometidos a pruebas de conducta social (acicalamiento corporal, genital, mordisqueo, juego) produce un estado de estrés, manifestándose por un aumento de la frecuencia de autoacicalamiento corporal comparado con el grupo control (Lugo y cols., 2003). En otro estudio en que se aisló a sujetos de 35 o 75 días de edad por 30 minutos para crear un estado de ansiedad y después se les administró alcohol (4g/k) i.p., fueron sometidos a pruebas de interacción social en ambientes familiares y novedosos y se observó que tanto los sujetos control como los alcoholizados presentaron una menor interacción social en un ambiente novedoso, comparado con el ambiente familiar, sin embargo, los adultos a los que se les administró alcohol (tanto hembras como machos) mostraron un decremento en la actividad motora comparados con los sujetos jóvenes alcoholizados y controles. Por otro

lado, se observó que los efectos ansiogénicos del alcohol son más evidentes en sujetos adultos que en adolescentes, manifestándose por un decremento en la conducta de investigación y juego (Varlinskaya y Spear, 2004).

Con respecto al efecto del alcohol sobre la interacción sexual en la rata, se ha visto que a dosis de 0.5 y 1 g/kg vía i.p. aumentan las latencias para obtener acceso a una hembra receptiva, sin embargo, no se afectan las latencias de monta o eyaculación, sugiriendo que el alcohol afecta el estado motivacional más que a la ejecución motora (Scott y cols., 1994). En un estudio similar, se reportaron los mismos resultados en cuanto a latencias de ejecución sexual (Ferraro y Kiefer, 2004), sin embargo, hubo una disminución del olfateo anogenital hacia la hembra en sujetos a los que se administró 1 g/kg de alcohol, así como un incremento en el intervalo posteyaculatorio.

Diversos estudios sugieren que el efecto ansiolítico del alcohol puede involucrar una supresión del sistema CRF, mientras que los efectos ansiogénicos por la abstinencia podrían ser el resultado de una hiperactividad de este sistema (Valdez y Koob, 2004).

PRUEBAS PARA MEDIR ANSIEDAD

Los modelos animales intentan representar las conductas humanas, así como cambios psicológicos, por ello, varios paradigmas han sido desarrollados para evaluar los parámetros conductuales que indican la ansiedad en animales de laboratorio (Nazan y cols., 2004). En estos modelos los animales se enfrentan simultáneamente a reforzadores positivos y negativos en la prueba. Algunos de estos modelos han sido ampliamente utilizados para medir el efecto de diversas drogas sobre el estado de ansiedad. Algunos de estos paradigmas son la prueba de campo abierto, caja luz-oscuridad, diferentes tipos de

laberintos, entre otros (Carola, 2002; Carvalho-Netto y Nunes-de-Souza, 2003; Nazan y cols., 2004; Prut y Belzung, 2003; Kliethermes, 2005).

Campo abierto: en este paradigma se estudia la conducta del animal en libre movimiento, se registran la actividad exploratoria y la evitación de áreas abiertas o iluminadas (Prut y Belzung, 2003).

Prueba de luz-oscuridad: basada en la aversión innata de los roedores a áreas iluminadas y la conducta exploratoria en respuesta a estresores moderados. La actividad de la parte abierta depende del estado de ansiedad del sujeto. El aparato usado para este paradigma consiste en un pequeño compartimento oscuro (un tercio) y un compartimento largo iluminado (dos tercios), los compartimentos están conectados por un espacio de 6 cm de ancho. Los animales son puestos dentro de la caja y su actividad es registrada en ambas áreas (Bourin y Hascoët, 2003).

Paradigma de enterramiento: esta prueba consiste en poner un a una caja de registro un dispositivo de 7 cm, el cual se encuentra a 2 cm por encima del aserrín, el cual da choques eléctricos los cuales son por mA. Generalmente se coloca a los sujetos por un periodo de 10 minutos y se registran la latencia de conducta de enterramiento (tiempo en minutos en que el sujeto recibe el primer choque hasta que ejecuta la conducta de enterramiento), y la conducta de enterramiento (tiempo en minutos que el sujeto pasa enterrando el estímulo aversivo). La latencia de conducta de enterramiento ha sido considerada como un reflejo de la reactividad del animal, mientras que la conducta de enterramiento ha sido considerada como una expresión en los niveles de ansiedad (Fernández-Guasti, 1990).

Laberinto elevado: consiste en dos brazos abiertos y dos brazos que son cerrados por paredes altas, en los que se combinan elementos de ambiente novedoso y elevación (Silva y

Frussa-Filho, 2000). Ha sido ampliamente utilizado para medir los efectos ansiolíticos y ansiogénicos de drogas, como benzodiazepinas (Carobrez y Bertoglio, 2005; González y File, 1997; Silva y Frussa-Filho, 2000; Lister, 1987) y alcohol (Lister, 1987; Silvestre y cols., 2002; Valdez y Koob, 2004; Kliethermes, 2005). Se sabe que las ratas normalmente evitan los brazos abiertos del laberinto elevado, prefiriendo los brazos cerrados. Ratas tratadas con drogas ansiolíticas (clorodiazepoxide, pentoparbital, diazepam y alcohol) incrementan la proporción de tiempo en los brazos abiertos y son generalmente menos activas (Treit y cols., 1993; Wilson y Cols., 2004), mientras que ratas tratadas con ansiogénicos (cafeína) disminuyen estas mediciones (Lister, 1987). Se ha observado que después de tener el primer recorrido para explorar el laberinto parece ser que los roedores consolidan y recuperan alguna clase de memoria relacionada a la exploración de áreas potencialmente peligrosas, como son los brazos abiertos. Roedores sin experiencia despliegan un incremento característico en la exploración del laberinto, sin embargo, si estos sujetos tienen una segunda sesión, o incluso el tiempo que pasan en el laberinto es por más de 5 minutos, esta conducta exploratoria disminuye. De igual forma, cuando son administrados ansiolíticos en el primer ensayo se observa un incremento en la exploración de los brazos abiertos, que va a disminuir conforme avancen los minutos, pero si a estos sujetos se les administran ansiolíticos y se les somete a un segundo ensayo, el efecto ansiolítico ya no es perceptible (Carobrez y Bertoglio, 2005). Dada la evidencia, este paradigma es una herramienta útil para medir tanto agentes ansiolíticos como ansiogénicos.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Se ha sugerido que la cópula de intervalo forzado (CIF) es una manipulación que induce en la rata macho un estado de hiperactividad que se ha interpretado como una ansiedad moderada, la cual ha sido determinada por la facilitación para alcanzar la eyaculación (la rata logra eyacular con menos intromisiones).

Esta propuesta ha surgido de estudios conductuales en los cuales se ha observado que después de interrumpir la cópula por repetidas ocasiones el macho muestra un estado de hiperactividad antes de eyacular, además de estudios farmacológicos en los cuales se ha encontrado que diversos ansiolíticos suprimen el efecto facilitador de la CIF.

Por otro lado, se sabe que el alcohol es una droga de abuso a la cual se le han atribuido propiedades ansiolíticas ya que se ha visto que en sujetos sometidos a diversos estresores, la ansiedad se ve disminuida después de haber sido administrado alcohol, ya sea de forma voluntaria o forzada. Aunque existen diversos estudios del efecto del alcohol sobre los estados de ansiedad y sobre la conducta sexual, a la fecha no se sabe si la ansiedad moderada generada por la CIF en la rata pudiera ser afectada por el alcohol.

Por lo anterior, consideramos interesante investigar el efecto del alcohol sobre las características conductuales de la CIF y al mismo tiempo evaluar los posibles cambios sobre los niveles de ansiedad que se ha descrito son generados por la CIF en la rata macho.

OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto del alcohol sobre las características conductuales de la cópula de intervalo forzado (CIF) y evaluar los posibles cambios sobre los niveles de ansiedad que se ha descrito son generados por la CIF en la rata macho.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar si la administración forzada de una dosis única de alcohol (0.5 o 0.75g/kg) suprime en una forma dosis dependiente el efecto facilitador de la eyaculación inducido por la cópula de intervalo forzado.
2. Determinar si la administración de una dosis única de alcohol (0.5 o 0.75g/kg) afecta la ejecución en el laberinto elevado de ratas macho previamente sometidas a CIF.

HIPÓTESIS

La administración de una dosis única de alcohol (0.5 o 0.75g/kg) suprimirá en una forma dosis dependiente el efecto facilitador de la eyaculación inducido por la cópula de intervalo forzado en ratas, lo cual se manifestará por un no decremento en el número de intromisiones y en la latencia de eyaculación. Al mismo tiempo los machos sometidos a CIF y tratados con alcohol presentarán una mayor permanencia y número de visitas a los brazos abiertos del laberinto elevado, el cual es una prueba ampliamente usada para medir ansiedad.

HIPÓTESIS ESPECÍFICAS

1. Los machos tratados con 0.75g/kg de alcohol mostrarán un número de intromisiones y una latencia de eyaculación similar al mostrado por los sujetos en un contexto de cópula ad libitum, en tanto que los sujetos tratados con una dosis menor (0.5 g/kg de alcohol) presentarán un menor número de intromisiones y una menor latencia de eyaculación respecto a los sujetos de dosis altas.
2. Los machos tratados con 0.75g/kg de alcohol permanecerán más tiempo y visitarán más los brazos abiertos que los sujetos tratados con 0.5 g/kg de alcohol y que los sujetos control.

METODOLOGÍA

Animales.

Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar que fueron procreados en nuestro bioterio. Después del destete, los machos se hospedaron en cajas medianas con una cama de aserrín. Todos los sujetos se mantuvieron bajo un ciclo invertido de luz-oscuridad (12 h luz/ 12 h oscuridad) a una temperatura de $24 \pm 2^\circ \text{C}$, con agua y alimentación *ad libitum*. Una vez que alcanzaron la edad adulta (90-120 días de edad), se les sometió a 3 pruebas de interacción sexual. Para las pruebas de conducta sexual se utilizaron hembras receptoras de la misma cepa, que fueron tratadas con benzoato de estradiol ($5 \mu\text{g}/0.05 \text{ ml}$) de manera subcutánea cada tercer día y con progesterona ($500 \mu\text{g}/0.05 \text{ ml}$) 4 horas antes de la prueba para asegurar su receptividad al momento de la interacción sexual. Los machos se consideraron sexualmente expertos cuando completaron dos sesiones copulatorias en las que lograron la eyaculación antes de los 15 minutos.

Se conformaron tres grupos, cada uno con 16 machos sexualmente expertos:

- Grupo Control: se le administró vía intraperitoneal (i.p.) una dosis de solución salina en un volumen similar al de la solución de alcohol 15 minutos antes de las pruebas de ejecución motora y conducta sexual.
- Grupo Alcohol 0.5: a los sujetos se les administró vía i.p. una dosis de alcohol de 0.5 g/kg a una concentración de 15% (v/v) 15 minutos antes de las pruebas de ejecución motora y conducta sexual.

- Grupo Alcohol 0.75: a los sujetos se les administró vía i.p. una dosis de alcohol de 0.75 g/kg a una concentración de 15% (v/v) 15 minutos antes de las pruebas de ejecución motora y conducta sexual.

Como se muestra en la figura 1, los machos se sometieron a diferentes pruebas: de ejecución motora, conducta sexual y laberinto elevado

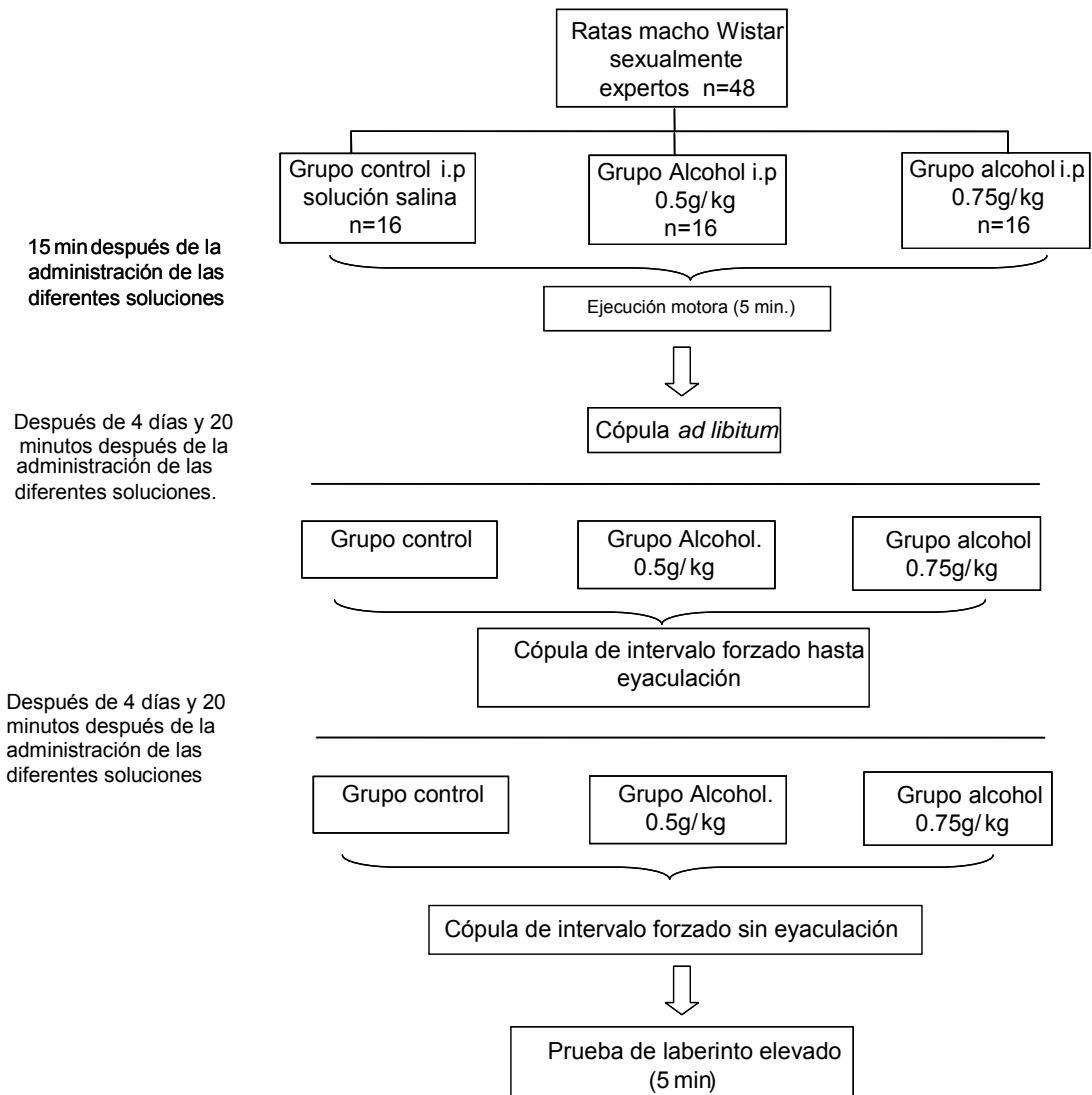


Fig. 1 Diagrama de flujo que representa el diseño experimental a seguir en este experimento.

Registro de ejecución motora.

A los sujetos sexualmente expertos de los tres grupos se les administró i.p. las diferentes soluciones y 15 minutos después se realizó la prueba de ejecución motora por cinco minutos. La prueba consistió en colocarlos en una caja de plástico (55 cm. x 55 cm.) con el piso dividido en 25 cuadros de 11 cm/por lado cada uno (ver Fig. 2). Su recorrido dentro de esta caja fue filmado para posteriormente contar el número de cuadros cruzados, asimismo, al final del registro se contó el número de bolos excretados por cada uno de los sujetos de los diferentes grupos.



Fig. 2. Caja de campo abierto para realizar la prueba de ejecución motora.

Registro de cópula *ad libitum*

Terminada la prueba de ejecución motora (20 min después de la admón. i.p de las soluciones), los machos se sometieron a cópula *ad libitum*. Para ello, los machos se colocaron en cajas de acrílico con una cama de aserrín y, después de 5 minutos de adaptación, se introdujo una hembra receptiva y se les permitió tener interacción sexual hasta que el macho alcanzó la eyaculación. El registro se dio por terminado si en 15 minutos (tomando como inicio cuando se coloca a la hembra) el macho no ejecutó una intromisión o si a los 30 minutos después de haber realizado la primera intromisión no consiguió la eyaculación.

Los parámetros medidos fueron:

- 1) Latencia de monta (LM): es el tiempo que tarda el macho en realizar la primer monta, tomando tiempo cero una vez introducida la hembra a la caja de registro. En caso de que primero se presente la intromisión ésta se tomara como latencia de ambas.
- 2) Número de montas: es el número total de montas que presenta el macho durante la cópula hasta que alcanza la eyaculación.
- 3) Latencia de intromisión (LI): es el tiempo que transcurre desde la primera monta hasta que realiza la primera intromisión.
- 4) Número de intromisiones: el número total de intromisiones realizadas durante la cópula hasta la eyaculación.

- 5) Latencia de eyaculación (LE): es el tiempo que transcurre desde la primera intromisión hasta que logra la eyaculación.
- 6) Intervalo posteyaculatorio (IPE): es el tiempo que transcurre desde que eyacula, hasta la primera intromisión de la siguiente serie copulatoria.
- 7) Hit Rate: índice de eficiencia sexual que se obtiene dividiendo el número de intromisiones entre el número de montas más el número de intromisiones. En el caso de que el sujeto no presente montas, pero si intromisiones, el macho obtendrá el valor más alto (1.0), y entre más montas tenga el sujeto y menos intromisiones, el valor se irá alejando de uno acercandose a 0, en cuyo caso indicaría que tuvo una eficiencia sexual más pobre.

CIF hasta eyaculación.

Después de 4 días de la prueba de ejecución motora, a los machos se les volvió a administrar las diferentes soluciones y después de 20 minutos fueron sometidos a CIF. Los machos fueron colocados en cajas de acrílico con una cama de aserrín y permanecieron en ella por 5 minutos para su adaptación. Posteriormente se introdujo una hembra receptiva y tan pronto ejecutó el macho la primera intromisión, se retiró a la hembra por un periodo exacto de un minuto, luego se regresó a la hembra con el macho y se le permitió una segunda intromisión; se retiró a la hembra nuevamente por un periodo de un minuto exacto, y así sucesivamente hasta que el macho alcanzó la eyaculación y realizó la primera intromisión de una segunda serie copulatoria.

Los parámetros medidos fueron:

- 1) Latencia de monta (LM)
- 2) Número de montas

2) Latencia de intromisión (LI)

3) Número de intromisiones

CIF sin eyaculación.

El día que se realizó la prueba de laberinto elevado se volvieron a administrar las diferentes dosis i.p. y después de 20 minutos se sometieron nuevamente a CIF. Se pretendía que los machos tuvieran 3 intromisiones, pero había machos que dado su comportamiento previo en los registros de conducta sexual, era muy probable que eyacularan antes de las 3 intromisiones, por lo que a estos machos sólo se les permitió tener dos intromisiones antes de colocarlos en el laberinto elevado. Para ello se colocó a los machos en cajas de acrílico con una cama de aserrín donde permanecieron por 5 minutos para su adaptación. Posteriormente se introdujo una hembra receptiva y tan pronto ejecutó la primera intromisión, se retiró a la hembra por un periodo exacto de un minuto, luego se regresó a la hembra con el macho y se le permitió una segunda intromisión. A algunos sujetos se les regresó a la hembra, para tener una tercera intromisión.

Los parámetros medidos fueron:

1) Latencia de monta (LM)

2) Número de montas

3) Latencia de intromisión (LI)

Prueba de laberinto elevado en cruz.

Inmediatamente después de haber sido sometidos a CIF sin eyaculación, los machos fueron colocados en el laberinto elevado en cruz durante 5 minutos (González y File, 1997; Silva y Frussa-Filho, 2000; Rakesh y Amit, 2004), tiempo durante el cual se filmó

completamente la conducta del sujeto. Los sujetos fueron colocados en el centro del laberinto, con orientación hacia un brazo abierto. El laberinto consiste en dos brazos abiertos (50 x 10 cm) y dos brazos cerrados (50 x 10 x 40 cm) con una altura de 50 cm. (González y File, 1997; Rakesh y Amit, 2004). Los brazos abiertos son perpendiculares a los brazos cerrados, con una intersección entre los cuatro brazos que forman una figura de signo de más (+) Fig 3.

Los parámetros conductuales evaluados son:

- 1) Porcentaje de tiempo que permanece en los brazos abiertos.
- 2) Porcentaje de tiempo que permanece en los brazos cerrados
- 3) Número de entradas a los brazos abiertos y cerrados

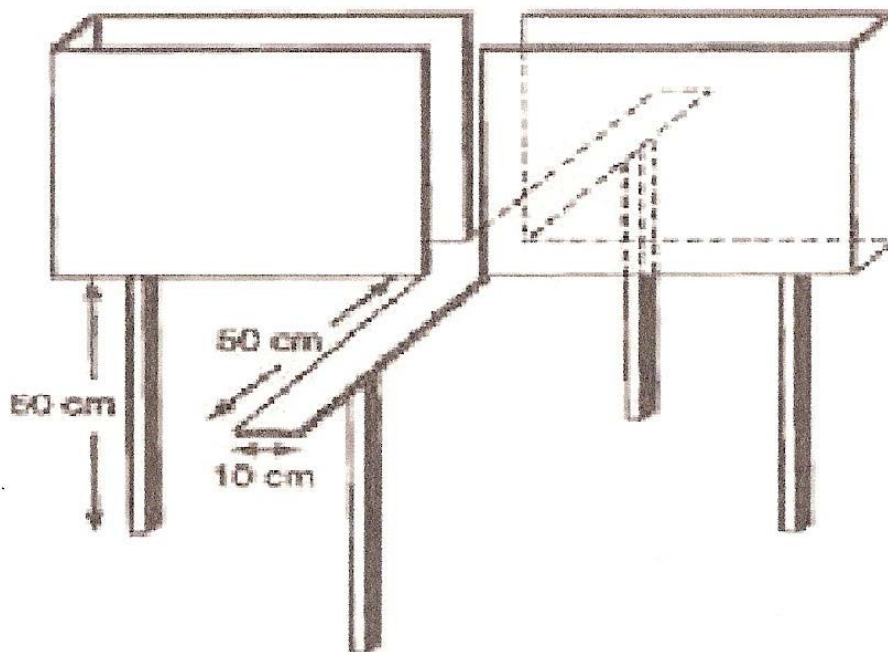


Fig. 3 Laberinto elevado en cruz

Análisis estadístico.

Variables independientes:

- Soluciones:
 - salina
 - alcohol 0.5 g/kg
 - alcohol 0.75 g/kg

Variables dependientes:

Conducta sexual

Laberinto elevado

A) Cópula *ad libitum*

- Número de montas
- Número de intromisiones
- Latencia de monta
- Latencia de intromisión
- Intervalo posteyaculatorio
- Hit rate

Porcentaje de tiempo en brazos abiertos y cerrados

- Tiempo total en brazos abiertos y cerrados
- Número de visitas a brazos abiertos y cerrados

B) CIF hasta eyaculación

- Número de montas
- Número de intromisiones
- Latencia de monta
- Latencia de intromisión

Los parámetros evaluados fueron analizados por medio de un análisis de varianza (ANDEVA) de un factor para grupos independientes, se aplicó para campo abierto y registros de conducta sexual. Los datos de laberinto elevado se analizaron de forma independiente con un ANDEVA de parcelas divididas de dos factores: factor A son los grupos experimentales (A₁ salina; A₂ alcohol 0.5 g/kg; A₃ alcohol 0.75 g/kg) y factor B son los brazos del laberinto (B1 brazos abiertos; B2 brazos cerrados).

Se aceptó una significancia de $p < 0.05$ y cuando el ANDEVA fue significativo se aplicó una prueba a posteriori de Tukey .

RESULTADOS

Ejecución motora

En la figura 4 se muestra la ejecución motora que presentaron los sujetos de los diferentes grupos durante los 5 minutos que duró la prueba, efectuada 15 minutos después de la administración ip de las soluciones correspondientes. En términos generales, se observó que los sujetos de los tres grupos no mostraron diferencias en la locomoción.

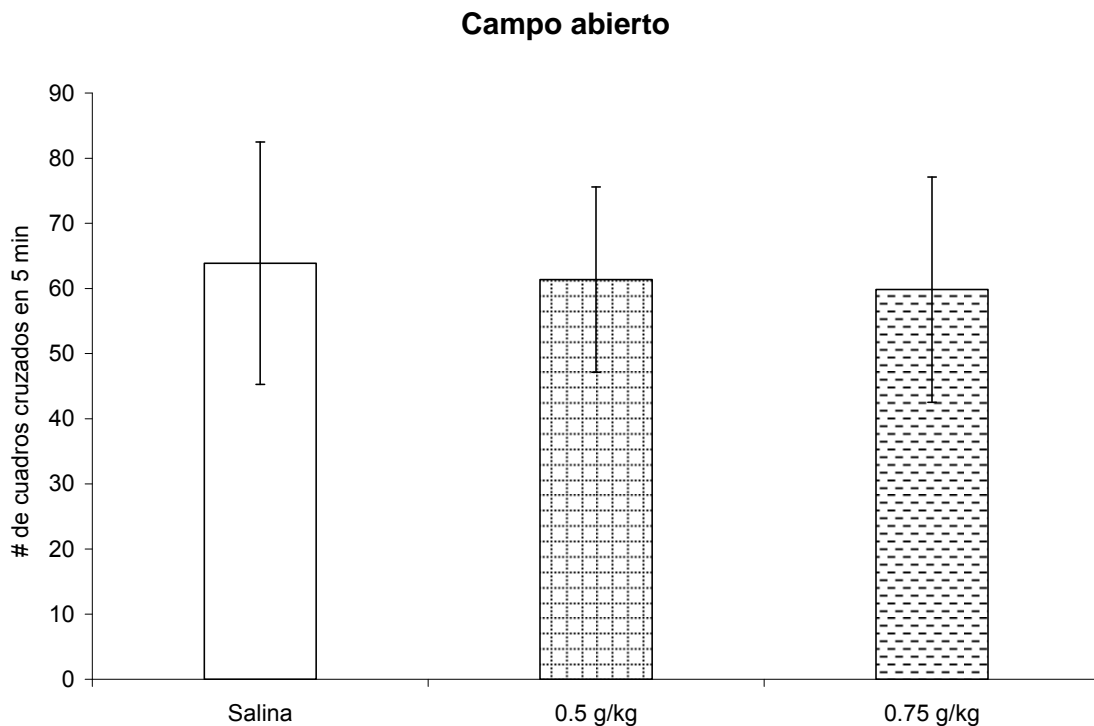


Fig.4 Media \pm 2 ES del número de cuadros cruzados por los sujetos de los diferentes grupos en el campo abierto. No hubo diferencias significativas $p < 0.94$

El análisis entre grupos del número de bolos excretados durante la prueba de campo abierto, tampoco mostró diferencias significativas, como se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Media \pm 2ES del número de bolos fecales excretados por los sujetos de los diferentes grupos en el registro de actividad motora espontánea en campo abierto (5 minutos).

<i>Grupos</i>	<i>Número de bolos</i>
Salina	1.588 \pm 0.806
Alcohol 0.5 g/kg	1.706 \pm 0.854
Alcohol 0.75 g/kg	1.765 \pm 0.932

Cópula *ad libitum*

En la tabla 2 se presentan la media y error estándar de los diferentes parámetros de ejecución sexual mostrada por los sujetos de los diferentes grupos. Esta evaluación conductual se efectuó con el fin de determinar si las dosis de alcohol afectaron o no la ejecución sexual. Los sujetos del grupo alcohol 0.5g/kg presentaron un mayor número de montas y un menor valor de hit rate o eficacia sexual respecto a los sujetos del grupo control. Los sujetos del grupo 0.75 g/kg sólo mostraron una tendencia a presentar mayor número de montas y menor hit rate que los sujetos control.

Tabla 2. Media \pm 2ES del número de montas, número de intromisiones, latencia de monta (LM), latencia de intromisión (LI), latencia de eyaculación (LE) e intervalo posteyaculatorio (IPE) (en segundos) de los diferentes grupos en el primer registro de copula *ad libitum*, 20 minutos después de haber administrado las diferentes soluciones.

	<i>Salina</i>	<i>Alcohol 0.5 g/kg</i>	<i>Alcohol 0.75 g/kg</i>
No. de montas	2.529 \pm 1.112	6.353 \pm 2.6 *	5.353 \pm 2.35
No. de intromisiones	8.11 \pm 1.74	8.35 \pm 2.16	8.0 \pm 2.18
LM	11.52 \pm 9.62	10.64 \pm 7.18	7.17 \pm 3.02
LI	13.82 \pm 10.36	16.05 \pm 8.08	18.64 \pm 12.84
LE	311.88 \pm 218.3	432.76 \pm 239.7	382.11 \pm 177.06
IPE	330.11 \pm 43.3	336.64 \pm 42.8	353.64 \pm 53.22
Hit rate	0.775 \pm 0.078	0.606 \pm 0.09**	0.644 \pm 0.086

* $p < 0.03$ significativamente mayor respecto al Grupo Salina

** $p < 0.01$ significativamente menor respecto al Grupo Salina

Cópula de intervalo forzado hasta eyaculación

El número de montas e intromisiones que fueron ejecutadas durante la CIF hasta eyaculación de los sujetos de los diferentes grupos (20 minutos después de haber administrado las diferentes soluciones) se muestra en la tabla 3. El análisis no evidenció diferencias significativas entre grupos (montas: $p < 0.1$; intromisiones: $p < 0.59$) en ninguno de estos parámetros, ni tampoco en la latencia de eyaculación ($p < 0.8$). En términos generales, se observó una tendencia a que los sujetos tratados con alcohol presentaran un menor número de intromisiones previas a la eyaculación respecto a los sujetos del grupo control.

Tabla 3. Media \pm 2ES de los parámetros copulatorios medidos durante la CIF hasta eyaculación de los diferentes grupos.

	Salina	Alcohol 0.5 g/k	Alcohol 0.75 g/k
Número de montas	1.70 \pm 0.98	2.05 \pm 1.14	3.58 \pm 1.66
Número de intromisiones	7.41 \pm 6.78	4.41 \pm 1.04	4.11 \pm 1.12
Latencia de eyaculación	282.31 \pm 89.14	322.3 \pm 88.08	298.5 \pm 88.56

Laberinto elevado en cruz

Al realizar el análisis del tiempo total de permanencia (seg) en los brazos abiertos y cerrados durante la prueba de laberinto elevado en cruz, no se encontraron diferencias significativas entre grupos (Fig. 5). Sólo se observó una tendencia ($p > 0.05$) a que los sujetos del grupo alcohol permanecieran menos tiempo en los brazos abiertos respecto a los sujetos del grupo salina.

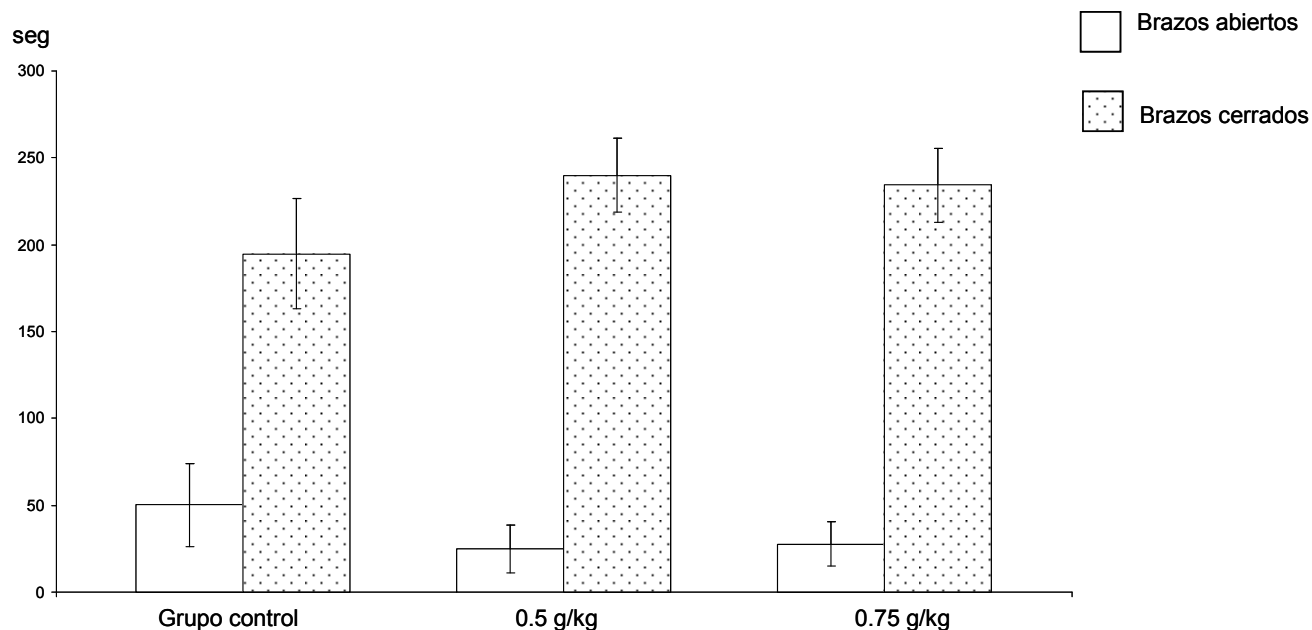


Fig.5. Media \pm 2 ES del tiempo total (seg) que los sujetos de los diferentes grupos permanecieron en los brazos abiertos del laberinto elevado.

En la tabla 4 se muestra el número total de visitas a los brazos cerrados y abiertos de los sujetos tratados con las diferentes soluciones. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos ($p < 0.58$).

Tabla 4. Media \pm 2 ES del número total de visitas a los brazos cerrados y abiertos durante la prueba de laberinto elevado en cruz de los diferentes grupos.

	Grupo salina	Grupo alcohol 0.5g/kg	Grupo alcohol 0.75g/kg
Número de visitas a los brazos cerrados	6.35 \pm 1.33	5.94 \pm 1.66	5.88 \pm 1.47
Número de visitas a los brazos abiertos	3.35 \pm 1.53	1.52 \pm 0.806	1.70 \pm 0.742

DISCUSIÓN

El modelo de cópula de intervalo forzado (CIF), descrito por Larsson en 1956, consiste en la interrupción repetida de la cópula, estableciendo intervalos fijos de tiempo entre cada intromisión que ejecuta la rata macho durante la interacción sexual. Tal manipulación de la interacción sexual induce en la rata macho un estado de hiperactividad conductual (que se ha interpretado como conducta de ansiedad) así como un efecto facilitador de la eyaculación, manifestado por una reducción en el número de intromisiones necesarias para que el sujeto logre eyacular (Larsson, 1956). No obstante lo interesante de este modelo, su estudio no ha sido continuado y sólo ha sido utilizado como modelo generador de ansiedad en un estudio realizado por Fernández-Guasti y cols. (1991), en el cual se demostró que tal “ansiedad moderada generada por la CIF” fue inhibida por la administración previa de ansiolíticos.

El alcohol, como agente depresor del sistema nervioso central, tiene la capacidad de afectar la funcionalidad de todas las estructuras cerebrales, incluyendo los centros de ejecución motora, por lo que, como primer paso de este estudio, se comprobó que las dosis de alcohol utilizadas no afectaran la ejecución motora.

En este estudio se encontró que el alcohol a dosis de 0.5 y 0.75 g/kg de peso no afectó la ejecución motora ya que en la prueba de campo abierto no se observaron diferencias en el número de cuadros cruzados por los sujetos de los diferentes grupos. Estos resultados coinciden con otros estudios en los que se administraron 0.5 g/kg (Scott y cols., 1994) 0.75 g/kg (Varlinskaya y Spear, 2002) y 1 g/kg de alcohol via i.p. en ratas (Hart, 1969; Scott y cols., 1994) y no se observaron alteraciones en la coordinación motora.

En otros estudios (Varlinskaya y cols., 2001) se han descrito incrementos en la actividad social y por tanto de la ejecución motora (manifestada por un mayor número de visitas y encuentros corporales con sus pares) con dosis de 0.5 y 0.75 g/kg vía i.g., así como 0.5 g/kg de alcohol vía i.p. (Varlinskaya y Spear, 2002).

Las bajas dosis de alcohol usadas en este estudio, tampoco afectaron la ejecución motora de la conducta sexual ad libitum, ya que no se observaron diferencias entre los grupos en el número de intromisiones, latencia de monta, latencia de intromisión e intervalo posteyaculatorio. Al igual que ha sido reportado en otros estudios (Hart, 1969; Ferraro y Kiefer, 2004), administrando dosis de hasta 1 g/kg de alcohol, no se observaron diferencias en la ejecución sexual. Sin embargo, en nuestros resultados hubo un incremento significativo del número de montas del grupo alcohol 0.5 g/kg con respecto al grupo salina, así como un decremento del Hit rate o eficiencia sexual. Aunque los sujetos tratados con la dosis alta de alcohol no alcanzaron la significancia estadística, presentaron una marcada tendencia a mostrar también mayor número de montas y menor Hit rate. Este efecto específico sobre el número de montas pudiera deberse a un efecto depresor del alcohol sobre la capacidad o función eréctil, el cual pudiera ser corroborado por el hecho de que estos sujetos mostraron una menor eficacia sexual, es decir, el hit rate fue significativamente menor respecto al grupo control. Es probable que los machos tratados con 0.5 g/kg de alcohol necesitaron realizar más montas para lograr tener una erección adecuada, que les permitiera tener la intromisión. La ejecución motora gruesa de los movimientos pélvicos no resultó afectada en ninguno de los demás parámetros, de tal manera que es probable que una vez iniciada la actividad sexual, el proceso ocurrió normalmente hasta alcanzar la eyaculación, al menos a dosis bajas como en este caso. La

propuesta de que el alcohol probablemente afectó la erección peneana se basa en otros estudios en los que se ha descrito que ratas macho con el pene anestesiado ejecutan un mayor número de montas para lograr la intromisión (Adler y Bermant, 1966; Sachs y Barfield, 1970; Gray y cols., 1976; Agmo y Paredes, 1988), por lo tanto, es posible sugerir esta posibilidad, la cual habrá de ser comprobada en estudios posteriores. Efectos específicos del alcohol sobre la respuesta de monta han sido reportados en otros estudios, por ejemplo, Scott y cols., en 1994 mostraron que ratas Long-Evans tuvieron mayor latencia de monta después de haber administrado 0.5g/kg y 0.75 g/kg de alcohol.

Asimismo, Fernández-Guasti y col (1991) reportaron que administrando 0.25 y 0.5 mg/kg de un agonista del receptor 5-HT_{1B} que se ha encontrado no afecta los niveles de ansiedad TFMPP (1-[m-trifluorometilgenil]piperazine) (Fernández-Guasti y cols., 1989), produce un incremento en la conducta de monta, sin alterar el número de intromisiones ni interferir con la coordinación motora, dando evidencia de que los mecanismos fisiológicos de la monta y de la intromisión son diferentes y por ende, poseen una diferente sensibilidad a los efectos de diferentes drogas.

Durante las pruebas de CIF posteriores a la administración de las dosis bajas de alcohol, se encontró que el alcohol no afectó el número de montas, lo que concuerda con los datos obtenidos por Larsson (1956) en los que a intervalos fijos de tiempo desde los 30 segundos, 1 minuto, 2 minutos y 3 minutos el número de montas no se modificó; también concuerda con los datos de Fernández-Guasti (1991) en los que no se afectaron el número de montas en pruebas de CIF con intervalos fijos de 1 minuto.

Durante la cópula ad libitum los sujetos control presentaron en promedio 8 intromisiones previas a la eyaculación, mientras que en la CIF los sujetos tratados con

salina presentaron alrededor de 7 intromisiones antes de eyacular, es decir, no se observó el efecto ansiogénico que se ha sugerido induce la CIF. Si bien todos los machos manifestaron un estado de hiperactividad y búsqueda intensa de la hembra en cada intervalo de 1 minuto post-intromisión (observación conductal), los machos no eyaculaban con menor número de intromisiones.

Aunque no se encontraron diferencias significativas entre grupos en el número de intromisiones durante la CIF, se observó una ligera tendencia a que los sujetos de los grupos alcohol (0.5 g/kg y alcohol 0.75 g/kg) presentaran un menor número de intromisiones con respecto al grupo salina. El hecho de que los sujetos tratados con las dosis bajas de alcohol lograran eyacular después de tan solo 4 intromisiones, podría sugerir que el alcohol indujo un efecto facilitador eyaculatorio durante la CIF, de tal forma que los sujetos alcanzaron el umbral eyaculatorio con menos estimulación peneana. Si tal efecto hubiera sido más evidente utilizando dosis mayores de alcohol, es una pregunta que con estos resultados no podemos contestar y por tanto, queda pendiente para estudios posteriores.

Numerosos trabajos han dado evidencia de que el alcohol actúa de manera directa sobre la funcionalidad del sistema recompensante, afectando la funcionalidad del sistema opioide e incrementando los niveles de dopamina en estructuras como el accumbens, la amígdala y el área tegmental ventral (Lovinger, 1997; Méndez y cols., 2001)

Asimismo, se ha mostrado también que en relación a la ejecución de la conducta sexual, también ocurren incrementos en los niveles de dopamina, sobre todo en relación a la ocurrencia de intromisiones y que una vez que logra la eyaculación, tales niveles de dopamina disminuyen (Pfauss & Phillips, 1991; Damsa & cols., 1992; Wenkstern & cols.,

1993; Pfaus y cols, 1990; Pfaus y Fibiger, 1993). Así pues, no sería ilógico pensar que la activación de este sistema recompensante por el alcohol generara en el macho un mayor arousal o excitación sexual que le permitiera alcanzar la eyaculación con menos estimulación peneana y por tanto, con menor número de intromisiones.

Si consideramos los resultados del efecto del alcohol sobre la cópula ad-libitum y los correspondientes a la CIF, estos resultados son interesantes y parecieran contradictorios, ya que en la cópula ad-libitum el alcohol incrementó el número de montas y disminuyó el hit rate, lo cual fue interpretado como un posible efecto adverso sobre la erección peneana, mientras que en la CIF los sujetos lograron eyacular con un menor número de intromisiones. Esto datos pudieran sugerir: a) que el efecto del alcohol depende del contexto y/o situación de la interacción copulatoria de la rata o, b) que aun cuando el alcohol indujera efectos deletereos sobre la erección peneana, los machos tratados con alcohol podrían sobreponerse a tal situación (tal vez por tener mayor motivación sexual) y lograrían eyacular con menos estimulación peneana proveniente de la inserción intravaginal.

El laberinto elevado en cruz es un paradigma experimental que se ha demostrado permite medir los niveles de ansiedad generados por fármacos y manipulaciones experimentales (Carobrez y Bertoglio, 2005; Frussa-Filho, 2000; Valdez y Koob, 2004; Kliethermes, 2005)

Sin embargo, existen evidencias de que la sola exposición a este laberinto elevado genera niveles de ansiedad, considerando el hecho de que es un ambiente novedoso en el cual se combinan dos situaciones que resultan aversivas para la rata: espacios abiertos y altura.

Wilson y cols. (2004) mostraron que ratas macho expuestas al laberinto elevado en cruz permanecieron aproximadamente el 20% del tiempo total de la prueba (5 min) en los brazos abiertos. Nuestros resultados muestran que la CIF hasta 3 intromisiones en el grupo salina no aumentó los niveles de ansiedad medibles en el laberinto elevado en cruz (también permanecieron aproximadamente un 20% del tiempo total en los brazos abiertos), de manera que es posible sugerir que esta baja permanencia en los brazos abiertos pudo resultar de la sola exposición al laberinto elevado en cruz. Aunado a lo anterior, vale la pena considerar un aspecto importante: el laberinto elevado en cruz ha sido utilizado en muchos trabajos sobre todo para determinar el efecto ansiolítico de diferentes drogas o fármacos, o bien, para medir la ansiedad generada por agentes estresores o ansiogénicos más agresivos (choques en las patas, inmersión en agua fría, pruebas de inmovilidad, etc.)

La CIF consiste en una manipulación controlada de la interacción sexual en la que inmediatamente después de cada intromisión, se separa a la hembra del macho y luego de un corto lapso de tiempo (generalmente 1 minuto) se le regresa la hembra para que continúe la cópula. Considerando que en su ambiente natural, es común que los roedores se vean forzados a interrumpir la interacción copulatoria, ya sea por protegerse de predadores o por la competencia entre machos, es posible sugerir que la hiperactividad asociada a la CIF hasta 3 intromisiones no represente un estado de ansiedad propiamente dicho, de tal forma que la CIF previa no afectó la ejecución de los sujetos en el laberinto elevado.

En el estudio inicial de Larsson, él describe textualmente que durante la CIF “los machos presentan alteraciones conductuales generales, incluyendo excitación, hiperactividad, inquietud y mayor agresión entre machos” sin embargo, no alude al término de ansiedad. Fue Treit, hasta 1985, quien sugirió que este estado de hiperactividad podría

considerarse como un estado de ansiedad, y posteriormente, Fernández-Guasti, utilizando manipulaciones farmacológicas con agentes ansiolíticos, apoya la idea de que la CIF genera un estado de ansiedad moderada. Nuestros resultados en el laberinto elevado no apoyan tal sugerencia. La baja permanencia en los brazos abiertos de los machos con CIF pudo resultar de la sola exposición al laberinto elevado en cruz y aunque de manera idónea, se requiere conocer los niveles de ansiedad después de la cópula *ad libitum* o la no cópula, en términos generales la CIF parece no generar un nivel de ansiedad suficientemente detectable en el laberinto elevado.

En el planteamiento inicial del presente trabajo, suponíamos que como consecuencia del efecto ansiolítico del alcohol, los machos sometidos a CIF presentarían un número normal de intromisiones para eyacular y presentarían un mayor número de visitas y porcentaje de tiempo en los brazos abiertos del laberinto elevado, sin embargo, contrario a lo que esperábamos, el alcohol tendió a disminuir el número de intromisiones necesarias para que los sujetos eyacularan y no provocó que los sujetos sometidos a CIF mostraran un mayor número de visitas ni permanecieran más tiempo en los brazos abiertos.

Aún cuando en este trabajo no se evaluó directamente el efecto de las dosis bajas de alcohol sobre la ejecución de los machos en el laberinto elevado, existen datos del efecto ansiolítico del alcohol sobre pruebas de ansiedad tales como el paradigma de enterramiento y del laberinto elevado en cruz, donde dosis de 0.5, 1 y 1.5 g/kg de peso ejercen efecto ansiolítico en ratas macho desde los 10 y 30 min post-administración i.p respecto a los grupos control. En este estudio, el hecho de que los sujetos de los grupos alcohol y que fueron sometidos a CIF hasta 3 intromisiones hayan mostrado menor permanencia en los brazos abiertos que los sujetos control, pudieran sugerir, contrario a lo que se ha reportado,

que el alcohol tiende a aumentar la ansiedad durante la ejecución del laberinto elevado en los machos con CIF. Aunque efectivamente esta sugerencia es muy arriesgada en virtud de que sólo se basa en una tendencia, creemos que vale la pena considerarla.

En varios reportes ha sido descrito que la actividad sexual en la rata macho se asocia con cambios en los niveles de hormonas, tales como prolactina, testosterona y corticosterona (Dabbs y Mohammed, 1992; Meisel y Sachs, 1994), de las cuales se tiene evidencia que juegan un papel importante en los procesos fisiológicos que sustentan la ejecución copulatoria gruesa, la erección peneana, la motivación y el estado afectivo y recompensante de la conducta sexual. Se sabe también que asociado a los diferentes eventos de la interacción sexual, ocurren incrementos en los niveles de neurotransmisores específicos, tales como la dopamina, cuya liberación se ha asociado con los procesos de detección y reconocimiento de los estímulos incentivos así como con los procesos hedónicos y recompensantes de la conducta sexual (Hull y cols., 1990).

Por otro lado, la respuesta al estrés esta asociada con el incremento en los niveles plasmáticos de los glucocorticoides. La secreción de estos esteroides de la corteza suprarrenal está bajo el control de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH), que junto con las beta-endorfinas, es liberada del lóbulo anterior de la hipófisis en respuesta a diferentes estresores. A su vez, la secreción de ACTH y beta-endorfinas es regulada por el factor liberador de la corticotropina (CRF). Este péptido es liberado al sistema porta-hipofisiario, a través del cual es transportado hacia la hipófisis anterior. Ahí estimula a los corticotropos para que sinteticen y secreten ACTH (Valentino y cols., 1986). La respuesta endocrina del estrés no se limita a la activación del eje hipotálamo-hipófisis-corteza suprarrenal (HHS) sino que también involucra al eje hipotálamo-hipófisis-gónadas (HHG) ejerciendo un efecto

inhibidor sobre la secreción de testosterona (Amstrong, 1986). La función sexual y reproductiva son de las principales funciones que se alteran e inactivan durante las respuestas de adaptación a diferentes estados de estrés y varios estudios han reportado un efecto adverso del estrés agudo o crónico sobre la actividad sexual, aunque efectos diferenciales han sido obtenidos dependiendo del tipo de estresor utilizado así como de la intensidad del mismo.

Entre los diversos sistemas de neurotransmisión que están involucrados en la ansiedad, el sistema GABAérgico juega un importante papel (Graeff y cols., 1986; Brandao y cols., 1982), ya que se ha reportado que la estimulación de la transmisión GABAérgica resulta en efectos anti-ansiedad. Además de este importante neurotransmisor inhibitorio, otros transmisores como la dopamina, serotonina y noradrenalina han sido también involucrados (Jhonson y cols., 1992; Herman y Cullinan, 1997), no sin dejar de lado el papel de los opioides endógenos cuyo sistema se activa en respuesta a numerosos estresores tanto físicos como psicológicos. En hombres, las situaciones de estrés social o psicológico crónico causa incremento en los niveles plasmáticos de beta-endorfinas y, asociado a este efecto, se presenta disminución del deseo sexual (libido) e impotencia o disfunción eréctil (Popova y cols., 1989). Es posible que las beta-endorfinas liberadas durante el estrés inhiban a algunos de los sistemas de neurotransmisión (como DA y NA), que se sabe facilitan la expresión de la conducta sexual en los machos. Esta hipótesis es apoyada por estudios en los que se ha demostrado que el estrés psicológico en ratas macho disminuye su actividad sexual, así como el contenido de DA, NA y de sus metabolitos en el área preóptica medial (APOm) (Tsuda y cols., 1989; Bertolucci-D'Angio y cols., 1990).

Por otro lado, es importante considerar también los efectos del alcohol sobre la funcionalidad cerebral. Existen reportes de que el alcohol actúa sobre los receptores GABA_A, (actuando específicamente en el complejo del receptor GABA-benzodiazepinas) y se ha demostrado que el sistema GABAérgico juega un papel importante en la modulación de los efectos ansiolíticos del alcohol, al ejercer su efecto a través de receptor GABA_A regulando los efectos sedativos y motores del alcohol (Varlinskaya y Spear, 2002; Kiiianmaa y cols., 2003; Davies, 2004; Wilson y cols., 2004), induciendo una supresión en el receptor NMDA, lo cual puede contribuir a sus efectos antiansiolíticos (Varlinskaya y Spear, 2002; Kiiianmaa y cols., 2003). El alcohol actúa también como un antagonista funcional a los receptores de glutamato de tipo NMDA, y como coagonista en los receptores nicotínicos, de acetilcolina y de los 5-HT₃. Varios estudios han mostrado un aumento en los niveles de DA en la corteza del Acc y en el ATV, después de una administración aguda de alcohol en ratas a los veinte minutos de la inyección de 0.5, 1.0 y 2.0 g/kg (Tizabi y cols. 2002; Di Chiara y cols. 1998) así como en el núcleo central amigdalino (Yoshimoto y cols., 2000). Al igual que en las condiciones de estrés, el sistema de opioides endógenos (Smith y cols. 2002), específicamente el sistema de β -endorfinas, resulta también afectado en respuesta a la administración de alcohol.

El entender el mecanismo específico por el cual las bajas dosis de alcohol afectaron de forma adversa la cópula ad libitum pero no afectaron la CIF ni la ejecución de los machos con CIF en el laberinto elevado es bastante complicado. Existen reportes de que el alcohol afecta la erección peneana (Hart, 1969; Hernández- González y cols., 2004) y como se evidenció en los párrafos anteriores, la sola interacción sexual, al igual que la administración de alcohol, provoca cambios en los niveles hormonales y de

neurotransmisores que afectan de forma directa la funcionalidad del sistema recompensante, constituido por el ATV, Acc, núcleos septales, amígdala, hipocampo, hipotálamo lateral, corteza prefrontal, corteza entorrinal y corteza temporal. Aunado a lo anterior, se sabe que los sustratos neurales de la ejecución y motivación sexual, así como los de la erección no son exactamente los mismos y que por ende, es muy probable que posean una diferente sensibilidad a los efectos del alcohol, complicando aun más la interpretación y posible explicación de estos resultados.

En nuestro estudio, al igual que en otros reportes, la hiperactividad mostrada por el macho al quitarle la hembra inmediatamente después de cada intromisión, se asoció con una hiperactividad de búsqueda de la hembra que se ha sugerido puede representar un estado de estrés o ansiedad, que resulta en un menor número de intromisiones requeridas para alcanzar la eyaculación. Si bien existen estudios en ratas, ratones y seres humanos que muestran que el perfil de las modificaciones hormonales provocadas por la exposición aguda (de segundos hasta tres horas) a estresores provocan un incremento en la secreción de CRF, ACTH, beta-endorfinas y corticosterona o cortisol, según la especie, a la fecha no se sabe si esta manipulación de la CIF se asocia con cambios en los niveles de estas hormonas y tampoco se sabe el grado de ansiedad provocado por esta manipulación copulatoria.

Pellow (1985) demostró que en ratas que fueron expuestas a la prueba de laberinto elevado por 5 minutos, sin haberles administrado ninguna droga, presentaron un incremento en sus niveles de corticosterona comparado con los sujetos que habían permanecido en sus cajas. De igual forma, las ratas que fueron confinadas a permanecer en los brazos abiertos, mostraron niveles elevados de corticosterona en comparación con los

sujetos que estuvieron confinados a los brazos cerrados. Si tomamos en cuenta estos datos, nosotros debemos suponer que nuestras ratas presentaron un incremento de los niveles de corticosterona mientras fueron sometidas al laberinto elevado, sin embargo, a la fecha no se sabe si la sola CIF induce cambios en los niveles de corticosterona y por ende, es muy difícil especular acerca de los mecanismos hormonales que pudieran sustentar el posible no efecto del alcohol sobre la CIF *per sé* y sobre la ejecución en el laberinto elevado.

Estos resultados muestran que la CIF no indujo un efecto facilitador de la eyaculación, ya que los machos durante la CIF mostraron un número de intromisiones previas a la eyaculación y una latencia de eyaculación similar a aquella de los machos con cópula *ad libitum*. Las dosis bajas de alcohol utilizadas en este trabajo no afectaron la ejecución de las ratas macho durante la CIF, sólo indujeron un ligero decremento del número de intromisiones previas a la eyaculación. Se encontró también que la hiperactividad asociada a la CIF no se asoció con un nivel de ansiedad detectable en el laberinto elevado en cruz y que las dosis bajas de alcohol tampoco afectaron la ejecución en el laberinto elevado de los machos previamente sometidos a CIF.

Es probable que lo que se ha denominado como “ansiedad generada por cópula de intervalo forzado” no sea ansiedad, sino sólo un estado de activación general del sujeto que le permite eyacular con menos intromisiones, estado de activación general que no fue afectada por dosis bajas de alcohol y que no afectó la ejecución en una prueba típica de ansiedad (el laberinto elevado).

Experimentos posteriores deberán de realizarse con el fin de dilucidar si efectivamente la hiperactivación que presentan los machos durante la CIF puede considerarse como ansiedad, así como analizar el efecto de dosis mayores de alcohol sobre

la CIF, ejecución del laberinto elevado e inducción de erección peneana, con el fin de tratar de esclarecer y entender un poco más los resultados obtenidos en este experimento.

CONCLUSIONES

La CIF no indujo un efecto facilitador de la eyaculación, ya que los machos durante la CIF mostraron un número igual de intromisiones previas a la eyaculación que los machos con cópula ad libitum.

La administración i.p de una dosis única de alcohol (0.5 g/kg) incrementó el número de montas y disminuyó la eficiencia sexual de los machos sometidos a cópula ad libitum, lo cual pudiera resultar de un efecto del alcohol sobre la erección peneana.

La administración i.p de una dosis única de alcohol (0.5 y 0.75 g/kg) no afectó la ejecución de la CIF en la rata macho, a excepción de un ligero decremento en el número de intromisiones previas a la eyaculación.

La administración i.p de una dosis única de alcohol (0.5 y 0.75 g/kg) no afectó la ejecución de los machos con CIF en el laberinto elevado.

A pesar de lo que se ha reportado, nosotros no podemos apoyar que la CIF es generador de ansiedad.

El hecho de que los sujetos del grupo alcohol sometidos a cópula ad-libitum hayan presentado un mayor número de montas y menor hit rate, en tanto que en la CIF hayan mostrado una tendencia a presentar un menor número de intromisiones previas a la eyaculación, permite sugerir que los efectos del alcohol dependen del contexto y situación de la interacción copulatoria, y que a pesar de que probablemente el alcohol afectó el proceso de erección peneana, en la CIF los machos tratados con alcohol lograron eyacular con menos estimulación penenana resultante de la inserción intravaginal.

REFERENCIAS

Adler N., Bermant G. (1966); Sexual behavior of male rats: effects of reduced sensory feedback. *Journal of Comparative Psychology* 61:240-243.

Agmo A., Paredes R. (1988); Opioids and sexual behavior in the male rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 30:1021-1034.

Annemoon M.M., Erp V., Miczek K.A. (2001); Persistent suppression of ethanol self-administration by brief social stress in rats and decreased startle responses as index of withdrawal. *Physiology and Behavior* 73:301-311.

Armstrong D. (1896); Environmental stress and ovarian function. *Biology of Reproduction* 34:29-39.

Baum M.J. (1992); Neuroendocrinology of sexual behavior in the male. En: *Behavioral Endocrinology*. Eds. Becker J.B., Breedlove S.M. y Crews D. Ed. Bradford Book. Massachussets.

Beach F.A. (1970); Coital behavior in dogs. IX sequelae to "coitus interruptus" in males and females. *Physiology and Behavior* 5:263-268.

Bertolucci-D'Angio M., Serrano A, Scatton B. (1990); Mesocortical dopaminergic systems and emotional states. *Journal of Neuroscience Methods* 34:135-142.

Biggio G., A. Concas, M. G. Corda, O. Giorgi, E. Sanna and M. Serra (1990); Gabaergic and dopaminergic transmission in the rat cerebral cortex: Effect of stress, anxiolytic and anxiogenic drugs. *Pharmacology and Therapeutics* 48(2):121-142.

Bonilla J. H., Vázquez P. G., Arteaga S.M., Retana M.S. (2005); Depresión, estrés y conducta sexual masculina En: aproximaciones al estudio de la motivación y ejecución sexual Guevara M.A., Hernández-González M., Chacón G.L., Barradas B.J.A. (eds) 125-156 México.

Bourin M., Hascoët M. (2003); The mouse light/dark box test. *European Journal of Pharmacology* 463(1):55-65.

Bowers W.J., Sabongui A.G., Amit Z. (1997); The role of ethanol availability on stress-induced increases in ethanol consumption. *Alcohol* 14(6):551-556.

Brandao M.L., De Aguilar J.C., Graeff F.J. (1982); GABA mediation of the antiaversive action of minor tranquilizers. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 16:397-402.

Carola V. (2002); Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in inbred mice. *Behavioural Brain Research* 1:49-57.

Carobrez A.P., Bertoglio L.J. (2005); Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: The elevated plus-maze model 20 years on. *Neuroscience and Behavioral Reviews* 29:1193-1205.

Carvalho-Netto E.F., Nunes-de-Souza R.L. (2003); Use of the elevated T-maze to study anxiety in mice. *Behavioural Brain Research* 1:119-132.

Cicero T.J., Adams M.L., O'Connor L., Nock B., Meyer E.R. & Wozniak D. (1990); Influence of chronic alcohol administration on representative indices of puberty and sexual maturation in male rats and the development of their progeny. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 255(2); 707-715.

Dabbs J.M., Mohamed S. (1992); Male and female salivary testosterone concentrations before and after sexual activity. *Physiology and Behavior* 52:195-197.

Davies M. (2004); The role of GABA_A receptors in mediating the effects of alcohol in the central nervous system. *Journal of Psychiatry and Neuroscience* 28(4):263-274.

Dewsbury D.A. (1979); Description of sexual behavior in research on hormone-behavior interactions. In: Beyer C. (Ed.), *Endocrine control of sexual behavior*. Raven Press, New York, pp 3-33.

Dichiara G., Acquis E., Carboni E. (1998); Drug Motivation and abuse: A neurobiological perspective. *En: The Neurobiology of Drug and Alcohol Addiction*. Eds. Kalivas P.W., Samson H.H. 207-219. *Annals of the New York Academy of Sciences* Vol. 654. The New York Academy of Sciences. Nueva York.

Dornan W., Malsbury Ch. (1989); Neuropeptides and male sexual behavior. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 13:1-15.

Faulkner, T.P., Cantleberry S.B., Watts, V.J., Hussain A.S. (1990); Comparative pharmacokinetics of ethanol in bred strains of mice using doses based on total body water. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 14:82-86.

Feldman R.S., Meyer J.S., Quenzer L.F. (1997); *Principles of neuropsychopharmacology*. Ed. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Mass.

Fernandez-Espejo E. (2002); Bases neurobiológicas de la drogadicción. *Revisiones en Neurociencia* 34:659-664.

Fernandez-Guasti A., Roldán-Roldán G., Saldívar A. (1989); Reduction in anxiety after ejaculation in the rat. *Behavioural Brain Research* 32:23-29.

Fernandez-Guasti A., Roldán-Roldán G., Saldívar A. (1990); Pharmacological manipulation of anxiety and male rat sexual behavior. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 35:263-267.

Fernandez-Guasti A., Roldán-Roldán G. (1991); Anxiolytics reverse the acceleration of ejaculation resulting from enforced intercopolatory intervals in rats. *Behavioral Neuroscience* 105(2):230-240.

Fernandez-Guasti A., López-Rubalcava C. (2004); *Farmacología conductual* En: Corsi M. Ed. *Aproximaciones de las neurociencias a la conducta* Editorial el Manual Moderno, México, D.F.

Ferraro F.M., y Kiefer S.W. (2004); Behavioral analysis of male rat sexual motivation and performance following acute ethanol treatment. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 78:427-433.

Froehlich J.C. (1997); Opioid peptides. *Alcohol Health and Research World* 21(2):132-135.

Genazzani A.R., Nappi G., Facchinetti F., Mazzela G.L., Parrini D., Sinforiani E., Petraglia F., Svoldi F. (1982); Central deficiency of β -endorphin in alcohol addicts. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 55:583-586.

Gianoulakis C. (1993); Endogenous opioids and excessive alcohol consumption. *Journal of Psychiatry and Neuroscience* 18(4):148-156.

Gianoulakis C. (1990); Characterization of the effects of acute ethanol administration on the release of β -endorphin peptides by the rat hypothalamus. *European Journal of Pharmacology*, 180:21-29.

Gianoulakis C. (1996); Implications of endogenous opioids and dopamine in alcoholism: human and basic science studies. *Alcohol and Alcoholism* 31(1):33-42.

Gonzalez L.E. File S.E. (1997); A five minute experience in the elevated plus-maze alters the state of the benzodiazepine receptor in the dorsal raphe nucleus. *The Journal of Neuroscience* 17(4):1505-1511.

Graeff F.J., Brandao M.L., Audi E.A., Schutz M.T.B. (1986); Modulation of the brain aversive system by GABAergic and serotonergic mechanisms. *Behavioral Brain Research* 21:65-72.

Gray G.D., Davis H.N., Dewsbury D.A. (1976); Masculine sexual behavior in male and female rats following perinatal manipulation of androgen: effects of genital anesthetization and sexual experience. *Hormones and Behavior* 7:317-329.

Grove W.M. y Cadoret R.J. Genetic factors in alcoholism (1983); En: *The pathogenesis of alcoholism. Biological factors.* Kissin B. y Begleiter H. (Eds.), Plenum Press. New York.

Hart B.J. (1969); Effects of alcohol on sexual reflexes and mating behavior in the male rat. *Psychopharmacology* 14:377-382.

Herman J.P., Cullinan W.E. (1997); Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Trends in Neurosciences.* 20:78-84.

Hernandez-Gonzalez M. (2000); Prepubertal genital grooming and penile erection to sexual behavior of rats. *Physiology and Behavior* 71:51-56.

Hernandez-Gonzalez M., Rivera S.K., Oropeza B.M., Orozco-Suarez S., Arteaga S.M., Guevara M.A. (2004); Effects of alcohol on behavioral and morphologic indices of sexual maturation in male rats. *Alcohol* 33:117-126.

Hull E.M., Bazzett T.J., Warner R.K., Eaton R.C., Thompson J.T. (1990); Dopamine receptors in the ventral tegmental area modulate male sexual behavior in rats. *Brain Research* 512:1-6.

Izquierdo M. (2002); Intoxicación alcohólica aguda. *Adicciones* 14(1):175-193.

Johnson E.O., Kamilaris T.C., Chrousos G.P., Gold P.W. (1992); Mechanisms of stress: a dynamic overview of hormonal and behavioral homeostasis. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 16(2):115-130.

Kalant H. (1996); Pharmacokinetics of ethanol: absorption, distribution and elimination. En: *The Pharmacology of Alcohol and Alcohol Dependence.* Eds. Begleiter H y Kissin B. Oxford University Press. Nueva York.

Kiiianmaa K., Hyytä P., Samson H.H., Engel J.E.A., Svensson L., Söderpalm B., Larsson A., Colombo G., Vacca G., Finn D.A., Bachtell R.K., Ryabinin A.E. (2003); New neuronal networks involved in ethanol reinforcement. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research.* 27(2)209-219.

Kliethermes C.L. (2005); Anxiety-like behaviors following chronic ethanol exposure. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 28:837-850.

Koob G.F., Britton K.T. (1996); Neurobiological substrates for the anti-anxiety effects of ethanol. En: Begleiter H. y Kissin B. Eds. *The pharmacology of alcohol and alcohol dependence.* Oxford University Press, New York pp: 477-506.

Langen B. Y Fink (2004); Anxiety as a predictor of alcohol preference in rats?. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 28(6):

Larsson K. (1956); The effect of enforced intervals in the series of copulations. Almqvist and Wiksell

Larsson K. (1979); Features of the neuroendocrine regulation of masculine sexual behavior. In C. Beyer (Ed.), *Endocrine control of sexual behavior* (pp 77-163) New York:Raven Press.

Lister R.G. (1987); The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology* 92(2):180-185.

Lovinger D.M. (1997); Serotonin's role in alcohol effects on the brain. *Alcohol Health and Research World* 21(2):114-119.

Lugo J.N., Marino M.D., Cronise K., Kelly S.J. (2003); Effects of alcohol exposure during development on social behavior in rats. *Physiology and Behavior* 78:185-194.

Nazan D. Cigdem O. (2004); Overview of some current animal models for testing anxiety. *Bulletin of Clinical Psychopharmacology* 14(4):

Meisel R.I., Sachs B. (1994); The physiology of male sexual behavior. En: Knobil E.M. y Nelly J.D. Eds. *The physiology of reproduction*. Raven Press, Ltd., New York 2da edición pp:3-105.

Mendez M., Leriche M., Calva J.C. (2001); Acute ethanol administration differentially modulates μ opioid receptors in the rat meso-accumbens and mesocortical pathways. *Molecular Brain Research* 94:148-156.

Menendez-patterson A., Flores-Lozano J.A., Fernández S., Marin B. (1978); Stress and sexual behavior in male rats. *Physiology and Behavior* 24:403-406.

Morely J.E., Levine A.S. (1982); Corticotropin-releasing factor, grooming and ingestive behavior. *Life Sciences*. 31:1459-1464.

Nelson R.J. (1996); Psicoendocrinología. Las bases hormonales de la conducta. *Ariel Psicología* pp:209-214.

Pasantes Herminia (1997); De neuronas, emociones y motivaciones. Fondo de Cultura Económica México D.F.

Pellow S., Chopin P., File S., Bridley M. (1985); Validation open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of Neuroscience Methods* 14:149-167.

Picazo P.O. y Ferreira C.A. (2002); La ansiedad y la evasión como respuestas conductuales al estrés. En: *Motivación animal y humana* Hernández G.M. (ed) Manual Moderno México, D.F. pp: 227-233.

Popova I., Afonin B., Davydova N., Ushakov A. (1989); Hormonal regulation in space flight of varying duration, en G. Van Loon, R. Kvetňansky R., McCarty J., Axelrod (eds) *Stress: neurochemical and humoral mechanisms*, Gordon and Breach Science 1015-1029.

Prediger R.D.S., Batista C.L., Takahashi R.N. (2004); Adenosine A1 receptors modulate the anxiolytic effect of ethanol and the elevated plus-maze in mice. *European Journal of Pharmacology* 499:147-154.

Prut L. Belzung C. (2003); The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *European Journal of Pharmacology* 463(1):3-33.

Rakesh K.S., Amit K.R. (2004); An assessment of changes in open-field and elevated plus-maze behavior following heat stress in rats. *Iranian Biomedical Journal* 8(3):127-133.

Retana-Marquez S., Bonilla-Jaime H., Velásquez-Moctezuma J. (1998); Estrés, péptidos opioides y conducta sexual masculina En: Velásquez-Moctezuma Ed. *Biología de la Reproducción UAM-I México* pp:535-560.

Retana-Marquez S., Bonilla-Jaime H., Vázquez-Palacios G., Velásquez-Moctezuma J. (2001); Estrés y reproducción en *Biología de la reproducción II* 93-120 México

Retana-Marquez S., Bonilla-Jaime H., Vázquez-Palacios, Martínez-García R., Velásquez-Moctezuma J. (2003); Changes in masculine sexual behavior, corticosterone and testosterone in response to acute and chronic stress in male rats. *Hormones and behavior* 44:327-337.

Rood Z.A., Bell R.L., Sable H.J.L., Murphy J.M., McBride W.J. (2004); Recent advances in animal models of alcohol craving and relapse. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 79:439-450.

Sachs B.D. y Barfield R.J. (1970); Temporal patterning of sexual behavior in the male rat. *J Comp Physiol Psychol* 73:359-364.

Sachs B.D. y Barfield R.J. (1976); Functional analysis of masculine copulatory behavior in the rat. *Adv.Study Behav* 7: 91-154.

Sachs B.D., Clark J.T., Molloy A.G., Bitran D., Holmes G.M. (1988); Relation of autogrooming to sexual behavior in male rats. *Physiology and Behavior*, 43: 637-643.

Scott M.P., Ettenberg A., Olster D.H. (1994); Effects of alcohol on the sexual motivation of the male rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 48(4):929-934.

Shimura T., Shimokochi M., (1990); Involvement of the lateral mesencephalic tegmentum in copulatory behavior of male rats: Neuron activity in freely moving animals. *Neuroscience Research* 9: 173- 183.

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 Research* 640: 215-222.

Silva R.H., Frussa-Filho R. (2000); The plus-maze discriminative avoidance task: a new model to study memory-anxiety interactions. Effects of chlorodiazepoxide and caffeine. *Journal of Neuroscience Methods* 102:117-125.

Silvestre J.S., Pallares M., Nadal r., Ferre N. (2002); Opposite effects of ethanol and ketamine in the elevated plus-maze test in wistar rats undergoing a chronic oral voluntary procedure. *Journal of Psychopharmacology* 16(4):305-312.

Sirinathsinghi D.J.S. (1987); Inhibitory influence of corticotrophin releasing factor on components of sexual behaviour in the male rat. *Brain Research* 407:185-190.

Smith D.G., Learn J.E., McBride W.J., Lumeng L., Li T-K. Murphy J.M. (2002); Local cerebral glucose utilization after relapse in ethanol drinking in alcohol-preferring (P) rats. *Alcohol*. 27;115-126.

Sprague J.E., y Maickel R.P. (1994); Effects of stress and ebitatide (Hoe 427) on free-choice ethanol consumption: comparison of lewis and Sprague-Dawley rats. *Life Sciences* 55(11):873-878

Sullivan L.E., Fiellin D.A., O'Connor P.G. (2005); The prevalence and impact of alcohol problems in major depression: a systematic review. *The American Journal of Medicine* 118:330-341.

Sutton R., Koob G., Le Moal M., Rivier J., Vale W. (1982); Corticotropin releasing factor produces behavioural activation in rats. *Nature* 297:331-333.

Tizabi Y., Copeland R.L., Louis V.A.Jr., Taylo R. E. (2002); Effects of combined systemic alcohol and central nicotine administration into ventral tegmental area on dopamine release in the nucleus accumbens. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 26(3);304-399.

Treit D., Menard J., Royan C. (1993); Anxiogenic stimuli in the elevated plus-maze. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 44(2):463-469.

Tsuda A., Ida Y., Satho H. (1989); Stressor predictability and rat brain norepinephrine metabolism. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 32:569-572.

Valdez G.R. y Koob G.F. (2004); Allostasis and dysregulation of corticotropin-releasing factor and neuropeptide Y systems: implications for the development of alcoholism. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 79:671-689.

Valentino R.J., Cha C.I., Foote S.C. (1986); Anatomic and physiologic evidence for innervation of noradrenergic locus coeruleus by neural corticotropin-releasing factor. *Soc Neurosci Abstr* 12:1003.

Varlinskaya E.I., Spear L.P., Spear N.E. (2001); Acute effects of ethanol on behavior of adolescent rats: role of social context. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 25(3):377-385.

Varlinskaya E.I., Spear L.P. (2002); Acute effects of ethanol on social behavior of adolescent and adult rats: role of familiarity of the test situation. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 26(10):1502-1511.

Varlinskaya E.I., Spear L.P. (2004); Acute ethanol withdrawal (hangover) and social behavior in adolescent and adult male and female Sprague-Dawley rats. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 28(1):40-50.

Wilson M.A., Burghardt P.R., Ford K.A., Wilkinson M.B., Primeaux S.D. (2004); Anxiolytic effects of diazepam and ethanol in two behavioral models: comparison of males and females. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 78:445-458.

Yoshimoto K., Ueda S., Kato B., Takeuchi y., Kawai Y., Noritake K., Yasuhara M. (2000); Alcohol enhances characteristics releases of dopamine and serotonin in the central nucleus of the amygdala. *Neurochemistry International*. 37(4);369-376.