



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS
DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**

SEDE SUR

Departamento de Farmacobiología

**Impacto de la exposición a tolueno sobre la conducta
sexual de ratas macho adolescentes y adultas
jóvenes**

Tesis que presenta

Valeria Violante Soria

Para obtener el grado de

**Maestra en Ciencias en
Neurofarmacología y Terapéutica Experimental**

Directoras de Tesis:

Dra. Silvia Lorenia Cruz Martín del Campo

Dra. Gabriela Rodríguez Manzo

Ciudad de México

Diciembre, 2017

Este trabajo se realizó en los laboratorios 10 y 18 del Departamento de Farmacobiología del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV) Sede Sur, bajo la dirección de la Dra. Silvia Lorenia Cruz Martín del Campo y la Dra. Gabriela Rodríguez Manzo. Durante la realización de este trabajo se contó con el apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) a través de la beca de maestría con número 589936 para estudios de posgrado a nivel nacional.

AGRADECIMIENTOS

A las Doctoras Silvia Lorenia Cruz Martín del Campo y Gabriela Rodríguez Manzo por aceptar la co-tutoría, por integrarme a sus equipos de trabajo, pero principalmente por brindarme su paciencia, su esfuerzo y su tiempo siempre que lo solicité. Gracias por ser excelentes guías y por estimular mi crecimiento profesional.

A la Dra. Betzabet Quintanilla Vega y al Dr. Alonso Fernández Guasti por sus valiosas contribuciones y por su esfuerzo dedicado al mejoramiento de este proyecto. Gracias por su amabilidad y total disposición.

A los técnicos y auxiliares de los laboratorios 10 y 18: Araceli Hernández, Abraham Contreras, Ángeles Ceja y René Garduño, gracias por sus consejos, su apoyo y por alentarme a lo largo de este proyecto.

A mis compañeros: Monse, Ricardo, César, Nashiely, Estefanía, Pamela y David por su disponibilidad en cada seminario y por su disposición para compartir sus conocimientos. Gracias por mejor mi estancia en cada laboratorio.

ÍNDICE GENERAL

	Página
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Maduración cerebral durante la adolescencia	1
1.1.1 Papel del sistema glutamatérgico en la maduración cerebral.....	1
1.1.2 Drogas de abuso que alteran la neurotransmisión glutamatérgica	4
1.2 Conducta sexual de la rata macho	7
1.2.1. Erecciones	7
1.2.2. Motivación sexual	8
1.2.3. Conductas copulatorias.....	8
1.3 Aparición y estabilización de la cópula en ratas macho	9
1.3.1. Cambios fisiológicos asociados a la pubertad	9
1.3.2. Aparición y expresión del patrón copulatorio	10
1.3.3. Experiencia sexual.....	10
1.3.4. Efectos de la transmisión glutamatérgica sobre la conducta sexual masculina	11
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	12
3. HIPÓTESIS	13
4. OBJETIVOS	13
4.1 Objetivos generales.....	13
4.2. Objetivos particulares	13
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	14
5.1. Animales	14
5.2. Fármacos	15
5.2.1 Exposición a tolueno	15
5.3 Pruebas conductuales	16
5.3.1 Sesiones de cópula.....	16
5.3.2 Prueba de erecciones sin contacto	16
5.3.3 Prueba de motivación sexual incentiva	17
5.3.4 Prueba de coordinación motriz (rotarod)	17
5.4 Diseño experimental.....	19
5.4.1 Efecto de la exposición aguda a tolueno sobre la cópula, las erecciones sin contacto, la motivación sexual incentiva y la coordinación motriz de ratas macho adultas jóvenes	19

5.4.2 Efecto de la exposición repetida a tolueno durante la adolescencia sobre la aparición y expresión de la cópula de ratas macho	20
5.4.3 Efecto de la exposición repetida a ketamina y MK-801 durante la adolescencia sobre la aparición y expresión de la cópula de ratas macho.....	20
5.4.4 Respuesta a un reto de tolueno en la etapa adulta de las ratas expuestas a tolueno, ketamina o MK-801 durante la adolescencia	22
5.5 Análisis estadístico	23
6. RESULTADOS	24
6.1 Efecto de la exposición aguda a tolueno sobre la cópula, las erecciones sin contacto, la motivación sexual incentiva y la coordinación motriz de ratas macho adultas jóvenes.....	24
6.2 Efecto de la exposición repetida a tolueno durante la adolescencia sobre la aparición de las conductas copulatorias y la expresión del patrón copulatorio de ratas macho	27
6.3 Efecto de la exposición repetida a ketamina y MK-801 durante la adolescencia sobre la aparición de las conductas copulatorias y la expresión del patrón copulatorio de ratas macho.....	29
6.4 Efecto de una exposición aguda a tolueno en la etapa adulta sobre la cópula de las ratas expuestas repetidamente a tolueno, ketamina o MK-801 durante la adolescencia	32
7. DISCUSIÓN.....	34
7.1 Efecto de la exposición aguda a tolueno en animales sexualmente expertos.....	34
7.2 Efecto de la exposición repetida a tolueno durante la adolescencia	37
7.3 Respuesta a un reto de tolueno en animales adultos tratados con antagonistas NMDA durante la adolescencia	41
8. CONCLUSIONES	45
9. PERSPECTIVAS	46
10. REFERENCIAS	47
ANEXO.....	55
Efecto de la exposición aguda a tolueno sobre la cópula de ratas macho adultas	55
Efecto de la exposición aguda a ketamina sobre la cópula de ratas macho adultas	56
Efecto de la exposición aguda a MK-801 sobre la cópula de ratas macho adultas	57
Efectos de ketamina y MK-801 sobre la actividad ambulatoria espontánea	58

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Comparación de edades y eventos del desarrollo postnatal de la rata macho.....	1
Figura 2. Representación del patrón copulatorio estable de la rata macho.....	11
Figura 3. Ecuación para gases ideales y cámaras de exposición a tolueno	15
Figura 4. Representación de las pruebas conductuales.....	18
Figura 5. Diseño experimental para determinar los efectos agudos del tolueno en ratas adultas jóvenes.	19
Figura 6. Diseño experimental para determinar los efectos de la exposición repetida a tolueno en ratas adolescentes.....	20
Figura 7. Diseño experimental para determinar los efectos del tratamiento repetido con ketamina y MK-801 en ratas adolescentes	21
Figura 8. Diseño experimental utilizado en el periodo sin tratamiento en ratas jóvenes adultas.....	22
Figura 9. Diseño experimental para determinar los efectos de reto con tolueno en ratas adultas	23
Figura 10. Efecto de la exposición aguda a tolueno sobre los parámetros de la cópula.....	24
Figura 11. Efecto de la exposición aguda a tolueno sobre la prueba de erecciones sin contacto	25
Figura 12. Efecto de la exposición aguda a tolueno sobre la motivación sexual incentiva	26
Figura 13. Efecto de la exposición repetida a tolueno sobre la aparición de las conductas copulatorias	28
Figura 14. Efecto de la exposición repetida a tolueno sobre la primera y la última expresión del patrón copulatorio.....	29
Figura 15. Efecto de la exposición repetida a ketamina y MK-801 sobre la aparición de las conductas copulatorias.....	31
Figura 16. Efecto de la exposición repetida a ketamina y MK-801 sobre la primera y la última expresión del patrón copulatorio	32
Figura 17. Efecto del reto con tolueno en ratas adultas tratadas previamente con tolueno, ketamina o MK-801 en la adolescencia	33
Figura 18. Curva concentración-respuesta a tolueno sobre los parámetros de	

la cópula de ratas macho adultas.	55
Figura 19. Curva dosis-respuesta a ketamina sobre los parámetros de la cópula de ratas macho adultas.	56
Figura 20. Curva dosis-respuesta a MK-801 sobre los parámetros de la cópula de ratas macho adultas.	57

RESUMEN

Los inhalables son drogas de abuso utilizadas entre adolescentes que se encuentran en la etapa de desarrollo cerebral. Se sabe que el sistema glutamatérgico juega un papel central en la maduración cerebral, pero se desconoce si la exposición a tolueno, un inhalable que antagoniza al receptor NMDA, tiene consecuencias que afecten la expresión de la conducta sexual de ratas macho. El objetivo de este trabajo fue analizar los efectos de la exposición aguda o repetida a tolueno 6000 ppm sobre diferentes aspectos de la conducta sexual de ratas macho. Se analizaron, por un lado, los efectos de una exposición aguda a tolueno en ratas adultas jóvenes con experiencia sexual sobre la cópula, la motivación sexual incentiva y las erecciones sin contacto. Por otro lado, se estudió el efecto de exposiciones repetidas a tolueno durante la adolescencia sobre la adquisición de las conductas copulatorias y sus consecuencias a largo plazo. Además, se hicieron comparaciones con los efectos de la administración repetida de otros antagonistas NMDA: la ketamina y el MK-801. Encontramos que el tolueno agudo deterioró la ejecución de la cópula y la motivación sexual de los machos adultos jóvenes que ya tenían experiencia sexual. Por otro lado, en los machos sin experiencia sexual, la exposición repetida a tolueno durante la adolescencia inhibió transitoriamente la aparición de las conductas copulatorias. Al retirar el disolvente, el patrón copulatorio apareció paulatinamente y llegó a expresarse con normalidad; sin embargo, al exponer a estos mismos animales a un reto con tolueno en la etapa adulta se evidenció un efecto de sensibilización. Los tratamientos con ketamina o MK-801 durante la adolescencia, no produjeron efectos similares a los del tolueno. En conclusión, la exposición aguda a tolueno tuvo efectos negativos sobre la conducta sexual. La exposición repetida a tolueno durante la adolescencia impidió la expresión de las conductas copulatorias en la etapa en la que debían aparecer. Aunque esta alteración fue transitoria, el efecto de sensibilización encontrado en la etapa adulta evidenció que el tratamiento indujo cambios de largo plazo. Ni la inhibición de la cópula, ni la sensibilización provocada por la exposición repetida a tolueno durante la adolescencia parecen estar mediadas por el bloqueo de receptores glutamatérgicos tipo NMDA.

ABSTRACT

Inhalants are drugs of abuse consumed by adolescents whose brain is still developing. It is known that the glutamatergic system plays a central role in brain maturation, but it is not known if toluene exposure, an inhalant that antagonizes NMDA receptors, has consequences for male rats' sexual behavior expression. The aim of this study was to analyze the effects of acute or repeated exposure to toluene (6000 ppm) on different aspects of male rats' sexual behavior. On one hand, the effects of acute toluene exposure on copulation, sexual incentive motivation and noncontact erections were analyzed in sexually experienced young rats. On the other hand, the effect of repeated exposures to toluene during adolescence on the acquisition of copulatory behaviors as well as their long-term consequences were studied. In addition, these effects were compared with those produced by repeated administration of two other NMDA antagonists: ketamine and MK-801. We found that acute toluene exposure impaired copulatory performance and sexual motivation of young male rats that already had sexual experience. Otherwise, in males without sexual experience, repeated toluene exposure during adolescence produced a transient inhibition of the onset of copulatory behaviors. Once the inhalant was removed, the copulatory pattern appeared gradually and animals attained a typical stable copulatory pattern. Nevertheless, when these animals were exposed to a toluene challenge during adulthood, a sensitization effect was uncovered. Ketamine and MK-801 treatments, during adolescence, did not produce effects resembling those of toluene. In conclusion, acute toluene exposure had negative effects on male rat sexual behavior. Repeated toluene exposure during adolescence hampered the expression of the copulatory behaviors at the stage in which they should have appeared. Although this effect was a transitory inhibition, the sensitization effect found during adulthood evidenced that the treatment induced long-term changes. Neither the copulatory inhibition, nor the sensitization induced by repeated toluene exposure during adolescence appears to be mediated by NMDA receptor blockade.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Maduración cerebral durante la adolescencia

El periodo de transición entre la niñez y el principio de la adultez se denomina adolescencia. Entre los cambios conductuales característicos de esta etapa, y que son homólogos entre especies adolescentes, destacan: incrementos en la toma de riesgo y la búsqueda de la novedad, aumento de la actividad exploratoria, cambios en la interacción social, mayor conducta de juego, mayor impulsividad y una sensibilidad incrementada a los estímulos recompensantes (Holder y Blaustein 2014).

La adolescencia de la rata macho abarca los días 21 a 60 postnatales (PN) y puede dividirse en adolescencia temprana (días 21-34 PN), adolescencia media (días 35-46 PN) y adolescencia tardía (días 47-60 PN) (Holder y Blaustein 2014; Spear 2000). A lo largo de la adolescencia, el cerebro experimenta la maduración de los circuitos neuronales que subyacen a las habilidades conductuales, cognitivas y sociales, que son fundamentales para la vida adulta (fig. 1) (Schneider 2013).

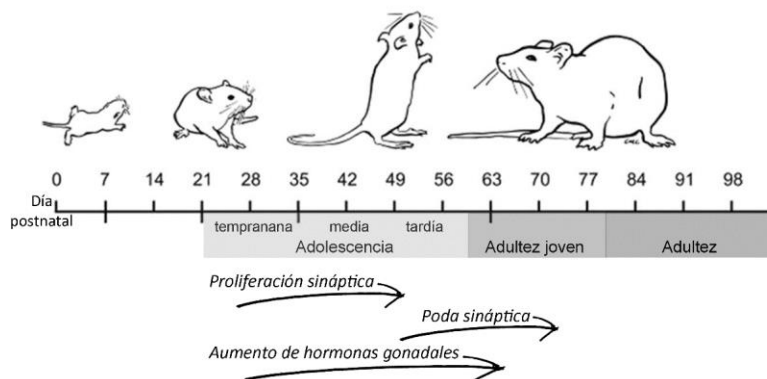


Figura 1. Comparación de edades y eventos del desarrollo postnatal de la rata macho. Las fases de la adolescencia se asocian con procesos de maduración cerebral. Modificado de Andersen (2003), Holder y Blaustein (2014) y Sengupta (2013).

1.1.1 Papel del sistema glutamatérgico en la maduración cerebral

La maduración de los circuitos neuronales ocurre por medio de tres procesos neuroadaptativos: la proliferación sináptica, la mielinización y la remodelación de circuitos neuronales. Los dos primeros se presentan a lo largo de la infancia, pero

la remodelación sináptica se desencadena durante la adolescencia (fig. 1). La proliferación sináptica consiste en el aumento del número de conexiones sinápticas y el incremento de arborizaciones dendríticas, mientras que la mielinización aumenta la velocidad de conducción de los impulsos eléctricos neuronales. Por su parte, el proceso de remodelación sináptica, también conocido como refinamiento sináptico, se produce por dos mecanismos: el fortalecimiento de las sinapsis y la poda sináptica, y ambos dependen de las experiencias particulares que vive cada individuo. Es decir, a medida que los sujetos experimentan diversos eventos se estimulan determinadas sinapsis con mayor frecuencia, lo que genera su *fortalecimiento*; en cambio, aquellas que dejan de utilizarse pueden retraerse y a la larga eliminarse, lo que se conoce como *poda sináptica* (Santos y Noggle 2011). El patrón y los plazos de la poda sináptica varían en las distintas regiones cerebrales, iniciando en regiones subcorticales y culminado en regiones corticales (Gogtay et al. 2004). Las sinapsis que se podan preferentemente son las asimétricas, mismas que participan en la neurotransmisión excitatoria, predominantemente de naturaleza glutamatérgica (Andersen 2003; Johnston 2004; Rakic et al. 1994).

El glutamato es el principal neurotransmisor excitador del sistema nervioso central; actúa sobre receptores ionotrópicos y metabotrópicos. Los receptores ionotrópicos glutamatérgicos son de los tipos N-metil D-aspartato (NMDA), ácido α -amino-3-hidroxi-5-metilo-4-isoxazolpropiónico (AMPA) y kainato son canales catiónicos, cuya activación produce potenciales post-sinápticos excitadores. El receptor NMDA está formado por dos subunidades constantes, GluN1 y dos subunidades variables, generalmente GluN2A y/o GluN2B. Este receptor tiene sitios de unión a glutamato, poliamina, zinc y glicina en el exterior del canal, y a magnesio (Mg^{2+}) y fenciclidina (PCP) en el interior del canal. En condiciones de reposo o de hiperpolarización, el ion Mg^{2+} es atraído a su sitio de unión dentro del canal del receptor NMDA, bloqueando físicamente la entrada de calcio (Ca^{2+}). La unión de glutamato, *per se*, no es capaz de cambiar esta condición. Se requiere de la despolarización parcial de la membrana post-sináptica, por ejemplo por la activación de receptores AMPA, para producir una despolarización inicial que remueva el bloque de Mg^{2+} . Sólo

entonces la unión de glutamato y de glicina, como co-agonista, es capaz de producir un cambio conformacional que abra el canal y permita la entrada de cationes (Ca^{2+} y Na^+) a la neurona post-sináptica, lo que induce una mayor despolarización y la señalización del Ca^{2+} como segundo mensajero (Blanke y VanDongen 2009). Por lo tanto, el receptor NMDA es un canal iónico dependiente tanto de voltaje, como de ligando.

El sistema glutamatérgico y otros sistemas de neurotransmisión experimentan variaciones importantes durante la adolescencia (Kasanetz y Manzoni 2009; Schneider 2013). La composición del receptor NMDA se modifica porque se presentan, simultáneamente, una reducción gradual en la proporción de receptores NMDA conformados por las subunidades GluN1/GluN2B (altamente permeables a Ca^{2+}) y un incremento en la proporción de aquellos conformados por las subunidades GluN1/GluN2A (con baja permeabilidad a Ca^{2+}) (Carroll y Zukin 2002; Paoletti et al. 2013). Por otro lado, se incrementa la expresión de los receptores AMPA, que en comparación con los NMDA son menos sensibles al glutamato. Estos fenómenos de maduración cerebral en la adolescencia constituyen un mecanismo de regulación para proteger al sistema de un potencial daño excitotóxico, generado por la actividad de receptores que son permeables a Ca^{2+} , por la sobre-activación de los canales ionotrópicos glutamatérgicos o por una poda sináptica deficiente (Bossong y Niesink 2010). Estos procesos implican que existe una mayor excitabilidad cerebral al inicio de la adolescencia que disminuye gradualmente al llegar al estado adulto.

Los cambios que experimenta el sistema nervioso en la adolescencia son particularmente relevantes cuando se combinan con los efectos de drogas de abuso, algunas de las cuales tienen como blanco farmacológico el sistema glutamatérgico. El consumo de este tipo de sustancias puede resultar en una remodelación anormal de los circuitos neuronales que compromete, en última instancia, el funcionamiento óptimo del sujeto en la etapa adulta (Bossong y Niesink 2010). Dado que los procesos de maduración cerebral son similares entre especies, los roedores en etapa adolescente representan un modelo valioso para estudiar la

influencia de las drogas de abuso sobre conductas características de este periodo de maduración, como se mencionará más adelante.

1.1.2 Drogas de abuso que alteran la neurotransmisión glutamatérgica

Entre las drogas de abuso que modulan la neurotransmisión glutamatérgica se encuentran: el alcohol, el tolueno, la ketamina y el MK-801. Los dos primeros tienen un efecto inicial de excitación conductual seguido de un efecto depresor persistente. La ketamina se usa como droga de abuso en dosis sub-anestésicas. Sus efectos incluyen sensaciones de disociación, visión borrosa, pérdida de la coordinación, discinesia, hiper-excitabilidad, ansiedad y alucinaciones (Copeland y Dillon 2013). El MK-801 fue desarrollado como fármaco de referencia del antagonismo NMDA para uso de laboratorios (Anderson et al. 1983).

El alcohol, el tolueno y la ketamina tienen un perfil farmacológico mixto. Al ser drogas de abuso, todas incrementan, directa o indirectamente, la liberación de dopamina. El tolueno, la ketamina y el MK-801 comparten ser antagonistas no competitivos del receptor NMDA, mientras que el tolueno y el alcohol comparten ser moduladores alostéricos positivos del receptor GABA_A (tabla 1).

Tabla 1. Comparación de las principales acciones de las drogas de abuso que antagonizan al receptor NMDA

Sustancia	Dopaminérgico	Glutamatérgico	GABA
Alcohol	↑ Dopamina y norepinefrina	Inhibe receptores AMPA/kainato y receptores glutamatérgicos metabotrópicos	Modulador alostérico positivo GABA _A
		Antagonista NMDA	
Tolueno	↑ Dopamina	Antagonista no competitivo del receptor NMDA	Modulador alostérico positivo GABA _A
Ketamina	↑ Dopamina	Antagonista no competitivo del receptor NMDA	
MK-801 (dizolcipina)		Antagonista no competitivo del receptor NMDA	

Para una revisión detallada: Beckley y Woodward (2013); Cruz et al. (2014); Fernandes et al. (2017); Cartágenes et al. (2017).

El tolueno es un disolvente orgánico de uso industrial. Está presente en pinturas, aerosoles, tiner, removedores y pegamentos. Los disolventes pertenecen al grupo de las drogas de abuso clasificadas como inhalables (Balster et al. 2009). Los inhalables son gases o sustancias volátiles a temperatura ambiente que se consumen para experimentar efectos psicoactivos. Este tipo de exposición intencional se realiza inhalando los vapores a través de la nariz y la boca durante periodos breves, pero a concentraciones altas del orden de 2,000 a 30,000 ppm, de manera repetida a lo largo del día (Marjot y McLeod 1989). Los inhalables se encuentran entre las 5 drogas de mayor consumo en la Ciudad de México, siendo los 15 años, la edad de mayor prevalencia (Villatoro et al. 2014).

Entre los efectos agudos que se experimentan por el consumo de disolventes se presentan: pérdida de la coordinación motora, disminución de la ansiedad, delusiones y alucinaciones, e incluso muerte súbita por inhalación. El consumo crónico de tolueno produce daño en vías sensoriales, particularmente en la audición y visión, deterioro cognitivo que se manifiesta por disminución en la atención, la memoria de corto plazo, el control inhibitorio y la capacidad de resolución de problemas (Cruz et al. 2014; Lubman et al. 2008).

El tolueno es el disolvente con el perfil farmacológico mejor documentado. Aunque afecta diversos blancos moleculares, tiene mayor afinidad para antagonizar a los receptores NMDA (Beckley y Woodward 2013; Cruz y Balster 2013). En modelos animales de exposiciones tipo intencional, el tolueno induce neuroadaptaciones¹ del receptor NMDA. Por ejemplo, Williams y col. (2005) encontraron que la exposición repetida a tolueno (8000 ppm, 2 semanas) incrementa la expresión de las subunidades GluN1 y GluN2B de los receptores NMDA en la corteza prefrontal y el núcleo accumbens de ratas adultas. Por otro lado, en ratas expuestas a tolueno (3,000 o 10,000 ppm) a lo largo de la adolescencia, la unión a los receptores NMDA que contienen la subunidad GluN2B disminuye en la corteza del cíngulo, el estriado dorsal y el núcleo accumbens (Dick et al. 2015).

¹ Conjunto de cambios neurales de tipo adaptativo y a nivel molecular que subyacen al consumo de una droga de abuso.

Este tipo de alteraciones moleculares afectan regiones subcorticales pertenecientes al circuito mesocorticolímbico (Beckley y Woodward 2013; Riegel y French 2002), también denominado circuito de la recompensa. Sin embargo, poco se ha indagado sobre los efectos que produce el tolueno en conductas reguladas por este circuito, aun cuando hay evidencias de que la exposición intermitente a tolueno (10,000 ppm) a lo largo de la adolescencia, afecta el aprendizaje de tareas operantes que requieren el procesamiento de estímulos recompensantes cuando las ratas ya son adultas, sin alterar la motivación incentiva generada por este tipo de estímulos, ni las funciones motoras (Dick et al. 2014)

Los efectos deletéreos del tolueno sobre las funciones cognitivas han sido ampliamente caracterizados tanto clínica como pre-clínicamente. Algunos de estos efectos pueden persistir incluso después de un periodo largo de abstinencia y ser más pronunciados cuando el consumo del tolueno ocurre a edades tempranas (Perron et al. 2009; Yücel et al. 2008). En modelos animales, se ha encontrado que las ratas adolescentes muestran menor sensibilidad al tolueno que las adultas, pero pueden ser más susceptibles a sufrir neuroadaptaciones de largo plazo tras un periodo de exposición (Batis et al. 2010; Bowen et al. 2007). Duncan y col. (2014) investigaron posibles neuroadaptaciones a nivel conductual en la etapa adulta de ratas que fueron expuestas repetidamente a tolueno durante la adolescencia, y encontraron que ante un reto con el antagonista no competitivo y selectivo del receptor NMDA, el MK-801 (0.5 mg/kg), aparecieron efectos de sensibilización y tolerancia aún después de 20 días de la última exposición al inhalable.

El circuito mesocorticolímbico, sobre el que actúan todas las drogas de abuso, es el mismo que regula el carácter recompensante, motivante o incentivo de los estímulos naturales, como la ingesta de alimento palatable, la conducta sexual o la conducta maternal. Pocos estudios han investigado los efectos del consumo crónico de drogas sobre la expresión de la conducta sexual. En general, los efectos de las drogas de abuso sobre la conducta sexual en roedores sólo se han descrito para aquellas de mayor consumo, tales como el alcohol, los psicoestimulantes, los

opioides y los cannabinoides (Frohman et al. 2010; Guarraci 2010; Pfaus et al. 2010), pero no para los disolventes inhalables.

1.2 Conducta sexual de la rata macho

La conducta sexual en roedores está genéticamente determinada, es decir, es innata. Se trata de una conducta especie-específica, instintiva y altamente estereotipada. La conducta sexual de la rata macho se expresa en patrones complejos de respuestas somato-motoras y genitales producidas, dirigidas y mantenidas por estimulación interna y externa (Hull y Rodríguez-Manzo 2017). Los estímulos que incrementan el interés sexual de las ratas macho incluyen el olor y la conducta de una hembra en estro, fase en la que despliega las conductas receptivas. La conducta sexual comprende las conductas pre-copulatorias y copulatorias. A estas conductas subyacen aspectos motivacionales y apetitivos de la cópula, así como las respuestas de erección y eyaculación, en el caso de la conducta sexual masculina.

1.2.1. Erecciones

En las ratas macho, la aparición del reflejo de erección ocurre alrededor del día 40 PN (Sachs y Meisel 1979). Este reflejo consiste en la extensión espontánea del glande hacia fuera de la vaina del pene. La observación del glande expuesto es breve y frecuentemente va acompañada de acicalamiento genital (Hull et al. 2006). Entre los paradigmas que permiten estudiar las erecciones en roedores destacan las pruebas de erecciones espontáneas y erecciones sin contacto. Las erecciones sin contacto se despliegan en respuesta a la estimulación visual, auditiva y principalmente olfativa que proviene de una hembra sexualmente receptiva, pero inaccesible. Las erecciones se observan directamente en una caja transparente, a través de un espejo. Éstas se presentan con una frecuencia de 2 a 4 veces en un periodo de 20 min de observación (Sachs 1996). Esta prueba puede ser un modelo útil para explorar la regulación fisiológica de la excitación sexual, ya que las erecciones se inducen por aferencias a nivel central, más que por estimulación periférica (Melis y Argiolas 2011). Por lo tanto, pueden diferir en cuanto a su

regulación fisiológica, neuroquímica y hormonal de las erecciones que se producen durante la cópula.

1.2.2. Motivación sexual

El carácter recompensante de la conducta sexual garantiza su repetición, por lo que la motivación sexual es un elemento fundamental para la interacción sexual entre roedores. En la primera interacción de un macho con una hembra sexualmente receptiva, ésta representa un incentivo positivo y no condicionado y desencadena en el macho conductas de aproximación (Hernández-González et al. 2008).

Entre las pruebas que permiten evaluar la motivación sexual, destaca el paradigma de motivación sexual incentiva (Ågmo 2003) y la cámara de dos niveles (Mendelson y Pfaus 1989). El tiempo que tardan los machos en iniciar la interacción sexual también se considera un indicador de la motivación sexual (Ågmo 1997; Pfaus et al. 1990). En el primer paradigma, un animal tiene la opción de aproximarse a animales estímulo (hembras sexualmente receptivas, hembras no receptivas, machos intactos, machos saciados, etc.) ubicados detrás de una rejilla que impide el contacto físico entre ellos, pero a los cuales puede ver y olfatear. Los animales estímulo pueden representar, o no, un incentivo sexual (Ågmo 2003). Tanto las ratas macho sexualmente naïve, como aquellas con experiencia sexual suelen reaccionar ante la estimulación olfativa y visual y permanecer cerca del estímulo sexual incentivo, lo que se considera un indicador de que dichos sujetos poseen un nivel alto de motivación sexual.

1.2.3. Conductas copulatorias

Cuando a un macho se le permite la interacción con una hembra sexualmente receptiva, ésta despliega conductas proceptivas características que provocan que el macho la persiga y en cuestión de segundos inicie la cópula. La conducta copulatoria de roedores macho está constituida por tres distintas respuestas motoras que integran el patrón copulatorio: la conducta de monta, la conducta de intromisión y la conducta de eyaculación. Cada una de estas conductas inicia cuando el macho monta a la hembra dorsalmente, posiciona las patas delanteras

sobre sus cuartos traseros y realiza movimientos empujando la pelvis en sentido antero-posterior. La conducta de monta se distingue porque el macho no logra la inserción peneana intravaginal y desmonta a la hembra lentamente. Durante la conducta de intromisión, el macho inicialmente monta a la hembra y empuja profundamente la pelvis, logrando una penetración peneana intravaginal gracias a que la hembra ha asumido una postura de lordosis. Después, el macho desmonta bruscamente a la hembra en reversa, y posteriormente presenta acicalamiento genital. La conducta de eyaculación suele ocurrir después de múltiples montas e intromisiones, y se distingue porque el macho, al realizar movimientos pélvicos, presenta uno más profundo y de mayor duración que generalmente coincide con la emisión de líquido seminal. Subsecuentemente, el macho desmonta a la hembra lentamente y realiza acicalamiento genital. Un efecto evidente e inmediato de la eyaculación es la aparición de un periodo de inhibición sexual, en el que el macho no responde a la estimulación sexual, denominado intervalo post-eyaculatorio, que tiene una duración de 5 a 8 min después de una primera eyaculación (Hull y Rodríguez-Manzo 2017).

1.3 Aparición y estabilización de la cópula en ratas macho

1.3.1. Cambios fisiológicos asociados a la pubertad

En los roedores y en humanos, la adolescencia se traslapa con el periodo de la pubertad, durante el cual se adquiere la capacidad reproductiva y se alcanza la madurez sexual (Holder y Blaustein 2014). El inicio de la pubertad depende de la reactivación del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas. Inicia con un aumento en la secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) en el hipotálamo que activa a sus receptores localizados en la glándula hipófisis. Esta señal incrementa la síntesis y secreción de las hormonas folículo estimulante (FSH) y luteinizante (LH), aproximadamente al día 22 PN en ratas macho de la cepa Wistar (Zanato et al. 1994). Estas hormonas estimulan la producción de andrógenos en los testículos, como la testosterona, y desencadenan la aparición de los caracteres sexuales secundarios, tales como el descenso testicular, el incremento de su

volumen y la separación prepucial, así como la maduración de los espermatozoides (Holder y Blaustein 2014). Un incremento significativo de los niveles de testosterona en el plasma se detecta entre los días 35-50 PN, mismo que aumenta progresivamente hasta alcanzar los niveles característicos de un adulto, hacia los 70 días PN (Silva et al. 2013; Zanato et al. 1994). El aumento en los niveles circulantes de testosterona coincide con la aparición de las conductas sexuales en las ratas macho (Södersten et al. 1977).

1.3.2. Aparición y expresión del patrón copulatorio

Se ha reportado que la conducta de monta aparece entre los días 40-50 PN, la conducta de intromisión entre los días 44-75 PN y la conducta de eyaculación entre los días 48-75 PN (Meisel y Sachs 1994). La aparición de dichas conductas ocurre de forma espontánea cuando los sujetos han desarrollado los caracteres sexuales secundarios, es decir, la expresión de las conductas copulatorias no requiere de aprendizaje previo. Sin embargo, la ejecución de la conducta sexual, puede ser mejorada con la experiencia sexual (Larsson 1956; Rodríguez-Manzo y Canseco-Alba 2014; Woodson 2002). Por lo anterior, se ha propuesto que la conducta sexual posee un componente de aprendizaje en cuanto a su eficiencia.

1.3.3. Experiencia sexual

Los animales sexualmente naïve despliegan las conductas pre-copulatorias por más tiempo, requieren una estimulación genital mayor y tiempos más prolongados para lograr la eyaculación en comparación con los animales con experiencia sexual. La interacción repetida con una hembra sexualmente receptiva tiene como consecuencia la disminución en la cantidad de estimulación (número de montas e intromisiones) requerida para que el macho alcance el umbral eyaculatorio, la reducción del tiempo de inicio del contacto sexual (latencias de monta e intromisión) y del tiempo requerido para alcanzar la eyaculación (latencia de eyaculación). Todo esto se traduce en el mejoramiento de la habilidad copulatoria (Domjan 1992; Woodson 2002) y la estabilización del patrón copulatorio (fig. 2). Los machos que presentan un patrón copulatorio estable, que incluye pocas intromisiones (menos

de 15), pocas o nulas montas y latencias de eyaculación menores a 15 min se clasifican como machos sexualmente expertos.

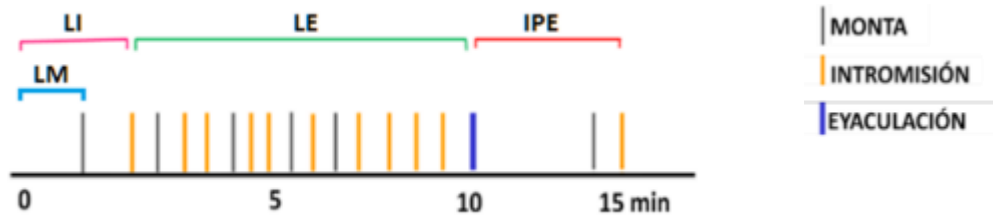


Figura 2. Representación del patrón copulatorio estable de la rata macho. Se representa el patrón típico de una rata macho sexualmente experta, ilustrando el número de montas (líneas grises), de intromisiones (líneas amarillas) y de eyaculación (línea azul) como parámetros numéricos; y las latencias de monta (LM), de intromisión (LI) y de eyaculación (LE), así como el intervalo post-eyaculatorio (IPE), como parámetros temporales. Tomado de Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti (1995).

1.3.4. Efectos de la transmisión glutamatérgica sobre la conducta sexual masculina

La conducta sexual de la rata macho se integra en el sistema nervioso a nivel subcortical; en cambio, los reflejos de erección y eyaculación se integran a nivel de la médula espinal, aunque también son regulados por estructuras subcorticales, como se sugiere con la prueba de erecciones sin contacto (Melis y Argiolas 2011). Entre las estructuras subcorticales que son fundamentales para la expresión de la conducta sexual del macho destaca el área preóptica medial (APOm) del hipotálamo. Particularmente en esta estructura, la liberación de glutamato incrementa durante la cópula y alcanza un 300% al momento de la eyaculación (Dominguez et al. 2006). Además, aumentar la neurotransmisión glutamatérgica en el APOm, ya sea por la administración directa de glutamato o por el bloqueo de su recaptura, tiene un efecto facilitador sobre la cópula de las ratas macho (Dominguez 2009; Powell et al. 2003). Por otro parte, una sola administración del antagonista del receptor NMDA, el MK-801, en el APOm o a nivel sistémico tiene efectos inhibitorios sobre la expresión de la cópula de ratas sexualmente naïve y la ejecución de la cópula de ratas con experiencia sexual (Fleming y Kucera 1991; Powell et al. 2003; Vigdorichik et al. 2012). En contraste, la administración repetida

de una dosis sub-anestésica de ketamina (30 mg/kg) durante 10 días no modificó los parámetros específicos de la cópula de ratas sexualmente experimentadas (Goswami et al. 2015).

Las evidencias previamente descritas apuntan a que alteraciones en la transmisión glutamatérgica podrían producir distintos efectos en la cópula de las ratas macho con o sin experiencia sexual. A la fecha, no hemos encontrado reportes que evalúen los efectos del consumo de disolventes volátiles, en modelos de abuso, sobre la conducta sexual masculina. Tampoco se han descrito los efectos que tiene el consumo de tolueno sobre las erecciones sin contacto o la motivación sexual incentiva de las ratas macho. Sólo existen estudios que analizan los efectos de exposiciones a concentraciones bajas o exposiciones de tipo ocupacional (exposiciones prolongadas a concentraciones de 50-300 ppm de tolueno) sobre la función reproductiva y el perfil de las hormonas sexuales. Este tipo de evidencias muestran alteraciones en la cuenta de espermatozoides y su movilidad (Ishigami et al. 2005; Kanter 2011; Suzuki et al. 1983), pero no son consistentes respecto a su efecto sobre los niveles de las hormonas sexuales.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El sistema glutamatérgico participa en los mecanismos de maduración cerebral característicos de la adolescencia, por lo tanto, alterar la transmisión glutamatérgica en esta etapa puede repercutir en la conducta de los animales adultos. Por otro lado, la administración de fármacos que bloquean la transmisión glutamatérgica produce efectos inhibidores sobre la conducta sexual masculina ya establecida. El tolueno es un antagonista glutamatérgico del receptor NMDA; la ketamina y el MK-801 comparten este mecanismo de acción. Con base en estos datos, es lógico suponer que la exposición a tolueno, ketamina o MK-801 durante la adolescencia, podría provocar deficiencias en la expresión de la conducta sexual masculina.

3. HIPÓTESIS

La exposición aguda a tolueno en ratas macho adultas jóvenes producirá deterioros en la conducta sexual ya establecida.

El tratamiento repetido con tolueno, ketamina o MK-801 durante la adolescencia afectará negativamente la expresión de la cópula de ratas macho adolescentes y adultas.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivos generales

- I. Establecer el efecto de la exposición aguda de tolueno sobre distintos aspectos de la conducta sexual de la rata macho adulta joven: la cópula, las erecciones sin contacto y la motivación sexual incentiva.
- II. Estudiar los efectos de interferir con la actividad de los receptores glutamatérgicos tipo NMDA por la exposición repetida a tolueno, ketamina o MK-801 durante la adolescencia, sobre la aparición de las conductas copulatorias y la expresión del patrón copulatorio en ratas macho.

4.2. Objetivos particulares

- 1) Determinar los efectos de la exposición aguda a tolueno sobre la cópula, las erecciones sin contacto y la motivación sexual incentiva en ratas macho adultas jóvenes, sexualmente expertas.
- 2) Estudiar el efecto de la exposición repetida a tolueno durante la adolescencia en ratas macho sexualmente naïve sobre la aparición de las conductas copulatorias y sobre la expresión del patrón copulatorio.
- 3) Estudiar el efecto de la exposición repetida a ketamina o MK-801 durante la adolescencia en ratas macho sexualmente naïve sobre la aparición de las conductas copulatorias y sobre la expresión del patrón copulatorio.
- 4) Establecer si la exposición repetida a tolueno, ketamina o MK-801, durante la adolescencia, modifica los efectos de una exposición aguda a tolueno sobre la cópula en la etapa adulta.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Animales

Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar a partir del día 43 PN, etapa que corresponde a la adolescencia (Holder y Blaustein 2014).

La mitad de los animales fue sometida a un protocolo de entrenamiento de conducta sexual durante la adolescencia (45-59 PN) antes de cualquier tratamiento farmacológico. La otra mitad tuvo el entrenamiento sexual concomitante a la administración de los fármacos de prueba y se le dio seguimiento en: a) la adolescencia (45 a 59 PN), b) la adultez joven (60 a 79 PN) y c) la adultez (83 PN). El entrenamiento de conducta sexual se realizó durante la adolescencia (45 a 59 PN) y consistió en que cada tercer día se realizó una sesión de cópula con una hembra sexualmente receptiva hasta sumar un total de siete sesiones. En la última se escogieron, como criterio de selección, a los machos que presentaron latencias de eyaculación menores a 15 min, menos de 15 intromisiones y menos de 10 montas en tres o más de las siete sesiones de entrenamiento. Estos animales se consideran como “machos sexualmente expertos” (Hull y Rodríguez-Manzo 2017).

Se utilizaron ratas hembras intactas en condiciones de receptividad sexual. La receptividad sexual se indujo por la administración secuencial de benzoato de estradiol (4 µg/rata, s.c.), seguida 24 hrs después de progesterona (2 mg/rata; s.c.). Cuatro horas después de esta última inyección, las hembras presentaron la receptividad sexual y se procedió a utilizarlas en las pruebas conductuales.

Todos los animales se alojaron en grupos de 5 a 8 ratas por caja, provistas de agua y alimento *ad libitum*, en condiciones controladas de temperatura ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) y en un ciclo de luz-oscuridad invertido (12 hrs:12 hrs, las luces se encendieron a las 10:00 pm). Las pruebas conductuales se realizaron durante la fase oscura del ciclo, con iluminación roja. El manejo de animales se realizó conforme a lo establecido en la NOM-062-ZOO-1999 y los experimentos fueron aprobados por los protocolos No. 009914 y 386-07 del Comité Interno para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (CICUAL).

5.2. Fármacos

- Tolueno (99.8% grado HPLC, Sigma; St. Louis, MO). El volumen de tolueno necesario para alcanzar la concentración deseada se calculó con base en la ecuación para gases ideales en sistemas estáticos (Nelson 1971) (fig. 3).
- El clorhidrato de ketamina (Sigma; St. Louis, MO) y el (+) MK-801 maleato de hidrógeno (Sigma; St. Louis, MO) se disolvieron en solución salina al 0.9% y se administraron por vía intraperitoneal en un volumen de 1 ml/kg. La latencia para ambos fármacos fue de 30 min.

5.2.1 Exposición a tolueno

La cámara de exposición consiste en una jarra cilíndrica (27 L) con tapa de acrílico que sella herméticamente. La tapa contiene un puerto de inyección, un papel filtro y un ventilador (fig. 3). El procedimiento de exposición consistió en habitar previamente a los sujetos a la cámara de manera individual y con el ventilador encendido durante 30 min, por dos días consecutivos. La exposición a tolueno se realizó distribuyendo el volumen calculado del disolvente sobre el papel filtro y encendiendo el ventilador interno para facilitar su volatilización y distribución. Cada exposición fue individual y tuvo una duración de 30 min. La latencia del tolueno fue de 5 min antes de realizar cualquier prueba conductual. Las cámaras se limpiaron con solución limpiadora y etanol al 70%, bajo un flujo de extracción de aire.

Ecuación para calcular vol. de inyección

$$V_L = \frac{(PM)(C)(V_s)}{d} \times \frac{P(10)^{-6}}{RT}$$

- V_L = Volumen de inyección (ml)
 PM = Peso molecular del disolvente (g/mol)
 C = Concentración deseada (partes por millón)
 V_s = Volumen de la cámara de exposición (ml)
 d = Densidad del disolvente (g/ml)
 P = Presión atmosférica
 R = Constante de los gases (1 atm mol⁻¹ K⁻¹)
 T = Temperatura (K)



Figura 3. Ecuación para gases ideales en sistemas estáticos y representación de las cámaras de exposición a tolueno, con tapa provista de un puerto de inyección, una rejilla para colocar el papel filtro y un ventilador interno.

5.3 Pruebas conductuales

5.3.1 *Sesiones de cópula*

Las sesiones de la cópula se realizaron cada tercer día en cilindros de acrílico transparente (40x60 cm) con una cama de aserrín (fig. 4a). Los machos se introdujeron a los cilindros de observación y se les permitió un periodo de 5 min de exploración antes de introducir a la hembra sexualmente receptiva durante 30 min o hasta completar una serie copulatoria.

Se calculó el porcentaje de machos que presentó cada una de las conductas copulatorias en cada sesión y se registraron los siguientes parámetros de la cópula: latencia de monta, número de montas previas a la intromisión, latencia de intromisión, número de montas posteriores a la intromisión, número de intromisiones, latencia de eyaculación y duración del intervalo post-eyaculatorio. Incrementos en los parámetros temporales o numéricos sugieren efectos negativos sobre el desempeño sexual, mientras que efectos opuestos sugiere su facilitación.

5.3.2 *Prueba de erecciones sin contacto*

La prueba de erecciones sin contacto sirvió para determinar, por un lado, la capacidad de un macho de presentar la respuesta de erección y por otro, para evaluar la excitación sexual producida por la estimulación visual, olfativa y auditiva proveniente de una hembra receptiva, a la cual no tiene acceso (Sachs 1996). La prueba se realizó en una caja transparente dividida en dos compartimentos por una pared con orificios (fig. 4b). Debajo de la caja se colocó un espejo a una inclinación de 45° que permitió observar el vientre de la rata para detectar la respuesta de erección. Los sujetos experimentales se habituaron a la arena dos días antes del experimento. El día de la prueba se introdujo al sujeto experimental en uno de los compartimentos y a la hembra receptiva en el otro. La prueba tuvo una duración de 25 min durante los cuales se registraron el número de erecciones y la latencia de aparición de la primera erección. Entre cada prueba se limpió la arena con etanol al 70%. La disminución en el número de erecciones sugiere que la respuesta de

erección puede estar afectada, mientras que el aumento en la latencia de erección sugiere una excitación sexual disminuida.

5.3.3 Prueba de motivación sexual incentiva

La prueba de motivación sexual incentiva mide la motivación incentiva que representa una hembra sexualmente receptiva para un macho. La prueba se realizó en una arena de plástico ovalada (85x50x40 cm), en la que hay dos ventanas en contraposición (fig. 4c). Cada ventana da a un compartimento. En uno se coloca a una hembra sexualmente receptiva, como estímulo sexual, y en el otro a un macho desconocido, como estímulo social. Los compartimentos están separados de la arena central por una rejilla que impide el contacto físico con los animales estímulo. El área adyacente a las ventanas (30x20 cm) representa las zonas incentivas, sexual o social, respectivamente (Ágmo 2003). El procedimiento consistió en habituar de forma individual a los sujetos experimentales a la arena, en ausencia de los animales estímulo, durante 10 min, por tres días consecutivos. El día de la prueba, se colocó a los animales estímulo en los compartimentos, se introdujo al sujeto experimental en el centro de la arena y se le permitió explorar libremente durante 10 min. La arena se giró entre los días de habituación y la prueba para evitar preferencia por alguna de las zonas. Las sesiones se videograbaron para su posterior análisis. Se cuantificó el tiempo acumulativo que pasan los animales en cada una de las zonas incentivas (zona de la hembra o zona del macho) y el tiempo acumulativo que pasan olfateando cada una de las rejillas. Adicionalmente, se cuantificó el tiempo acumulativo en la zona neutra de la arena, así como el número de entradas a las zonas incentivas. Un tiempo mayor en la zona de la hembra sugiere motivación sexual incentiva, un tiempo mayor en la zona del macho sugiere motivación social incentiva y tiempos equivalentes sugieren que los animales estímulo no representan un incentivo.

5.3.4 Prueba de coordinación motriz (rotarod)

La prueba del cilindro giratorio o rotarod se utilizó para descartar posibles alteraciones en la coordinación motora de los animales que pudieran haber generado los tratamientos farmacológicos (Dunham y Miya 1957). Se utilizó el

aparato de rotarod (fig. 4d) que consta de un rodillo giratorio con piso antiderrapante, el cual está dividido en cinco carriles (10 cm). Con el objetivo de que los animales aprendieran a caminar sobre el rodillo en movimiento, se realizó una fase de entrenamiento. Se colocó a cada rata de manera individual sobre el rodillo en rotación constante (11 rpm), durante 5 min, por 3 días consecutivos. La prueba se realizó al cuarto día bajo las mismas condiciones de los entrenamientos, pero tras la latencia respectiva del fármaco. Se contabilizaron el número de caídas en los 5 min de evaluación.

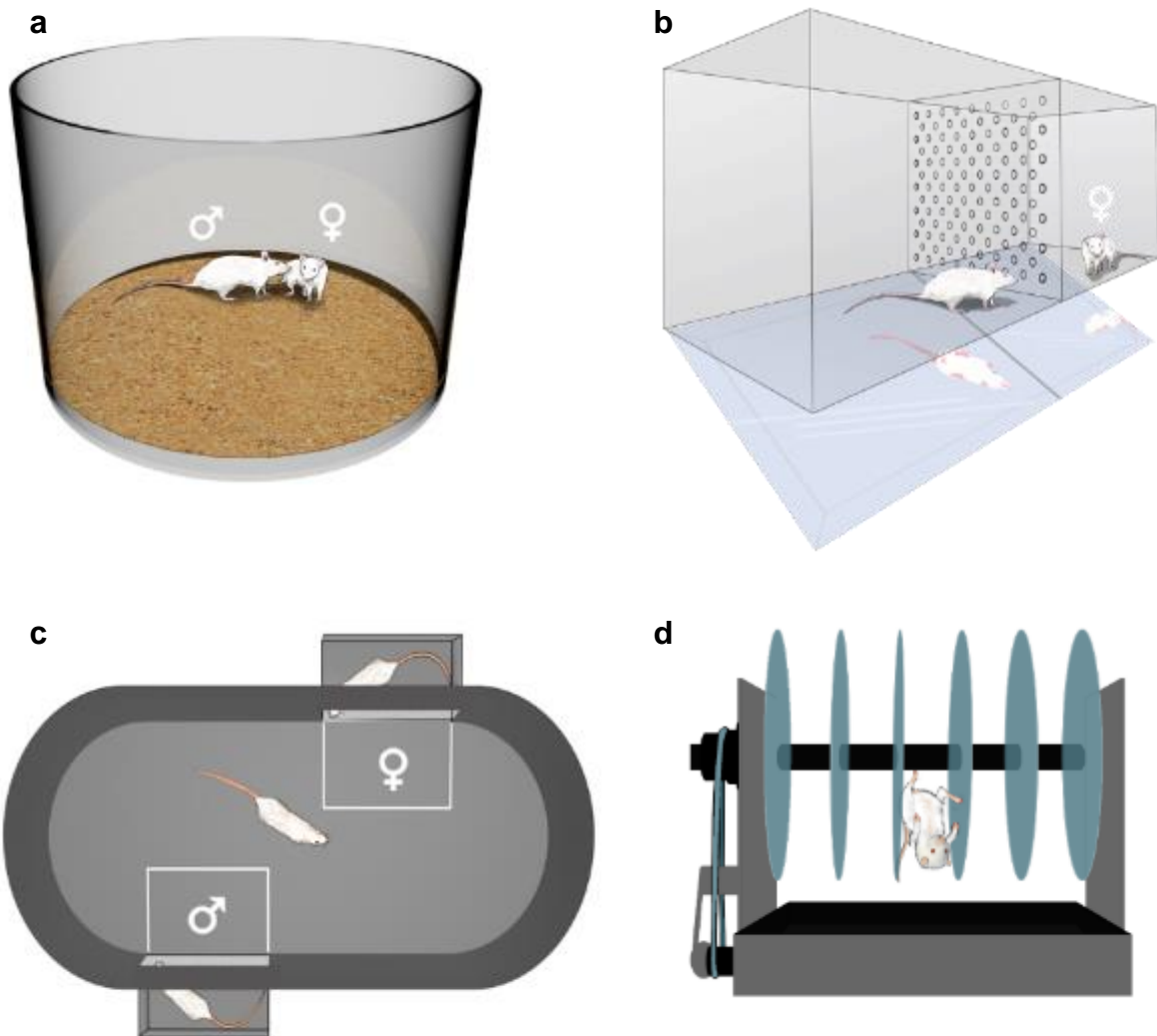


Figura 4. Representación de las pruebas conductuales: cópula (a), erecciones sin contacto (b), motivación sexual incentiva (c) y rotarod (d).

5.4 Diseño experimental

En experimentos preliminares se realizaron curvas concentración/dosis- respuesta a tolueno, ketamina y MK-801 en animales adultos sexualmente expertos. Estos experimentos permitieron determinar la cantidad de cada fármaco a utilizar en este trabajo (anexo). Con base en los datos obtenidos se escogió la concentración de 6000 ppm de tolueno y las dosis 0.3 mg/kg de ketamina y 0.03 mg/kg de MK-801.

5.4.1 Efecto de la exposición aguda a tolueno sobre la cópula, las erecciones sin contacto, la motivación sexual incentiva y la coordinación motriz de ratas macho adultas jóvenes

La figura 5 muestra el diseño experimental utilizado para estudiar los efectos de la exposición aguda a tolueno en ratas macho adultos jóvenes. Se tomaron ratas sexualmente expertas previamente entrenadas sexualmente para formar 8 grupos independientes: 4 expuestos de forma aguda a 6000 ppm y 4 control, estos últimos se expusieron a las condiciones de la cámara, sin disolvente y con el ventilador encendido. La exposición se realizó al día 63 PN inmediatamente antes de evaluar la cópula, las erecciones sin contacto, la motivación sexual incentiva y el rotarod.

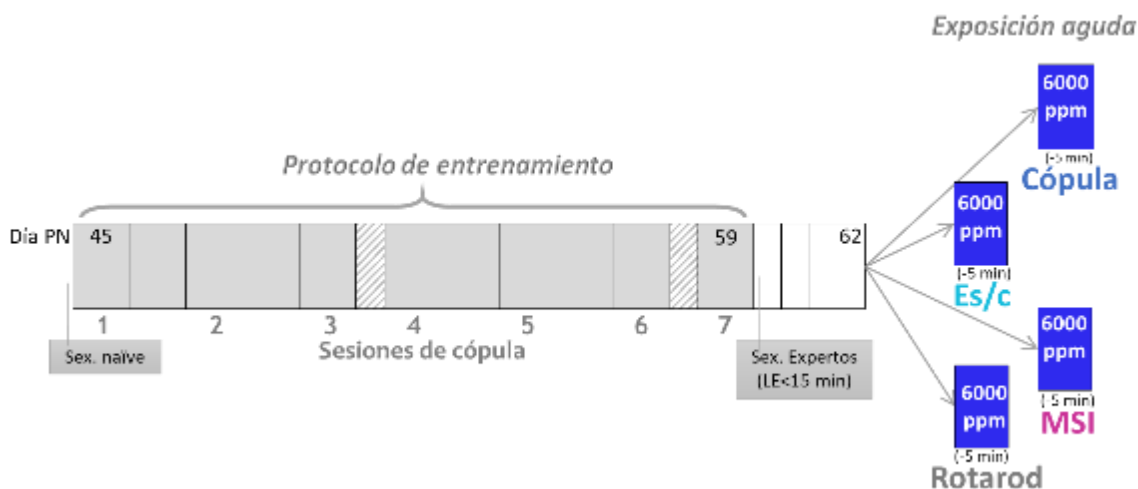


Figura 5. Diseño experimental para determinar los efectos agudos del tolueno sobre las pruebas de cópula, de motivación sexual incentiva (MSI), de erecciones sin contacto (Es/c) y la prueba de rotarod en ratas macho adultas jóvenes, sexualmente expertas. El protocolo de entrenamiento sexual (cuadros grises) se realizó en siete sesiones de cópula (cada tercer día). A los machos sexualmente expertos se les permitió descansar cuatro días (cuadros blancos), después de los cuales se realizó una sola exposición a 6000 ppm de tolueno (cuadros azules) o aire, antes de cada prueba conductual. Los fines de semana se señalan con cuadros de líneas diagonales.

5.4.2 Efecto de la exposición repetida a tolueno durante la adolescencia sobre la aparición y expresión de la cópula de ratas macho

En la figura 6 se representa el diseño experimental utilizado para el tratamiento repetido con tolueno. Se tomaron ratas macho adolescentes sexualmente naïve y se dividieron en dos grupos independientes: el experimental se expuso repetidamente a 6000 ppm tolueno, dos veces al día (8:00 y 13:00 hrs) por 12 días durante la adolescencia (periodo de tratamiento) y el grupo control se expuso a aire. De manera concomitante, a ambos grupos se les sometió a las sesiones de cópula (1-7) después de la segunda exposición del día, cada tercer día.

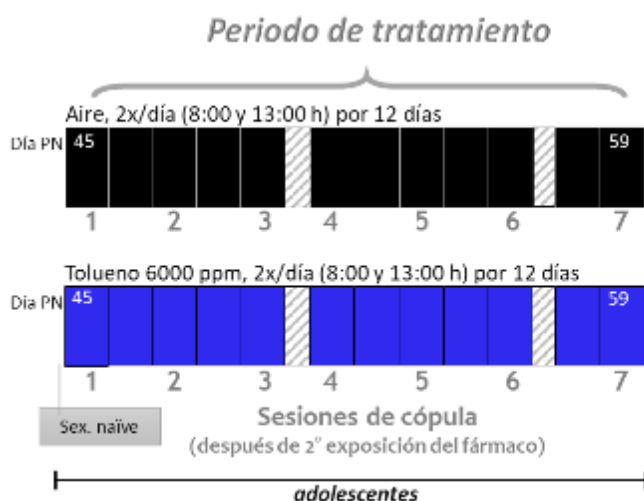


Figura 6. Diseño experimental para estudiar los efectos del tratamiento repetido con tolueno sobre la aparición y expresión del patrón copulatorio en ratas macho adolescentes (45-59 PN). A los machos sexualmente naïve se les sometió al periodo de tratamiento, exponiéndolos repetidamente a tolueno (6000 ppm, cuadros azules) o aire (grupo control, cuadros negros) y a siete sesiones de cópula, cada tercer día. Los fines de semana se representan en líneas diagonales.

5.4.3 Efecto de la exposición repetida a ketamina y MK-801 durante la adolescencia sobre la aparición y expresión de la cópula de ratas macho

En la figura 7 se representa el diseño experimental utilizado para los tratamientos repetidos con ketamina y MK-801. Se realizó el mismo protocolo descrito previamente con la exposición repetida de tolueno, pero utilizando ketamina o MK-

801. Brevemente, a 3 grupos independientes de machos adolescentes sexualmente naïve se les administró ketamina repetidamente (0.3 mg/kg), MK-801 (0.03 mg/kg) o solución salina, dos veces al día (8:00 y 13:00 hrs), con base en referencias de la literatura sobre la farmacocinética de la ketamina (Copeland y Dillon 2013; Livingston y Waterman 1978) y el MK-801 (Vezzani et al. 1989; Wegener et al. 2011). Las sesiones de cópula (1-7) también se realizaron cada tercer día, después de la segunda administración del día.

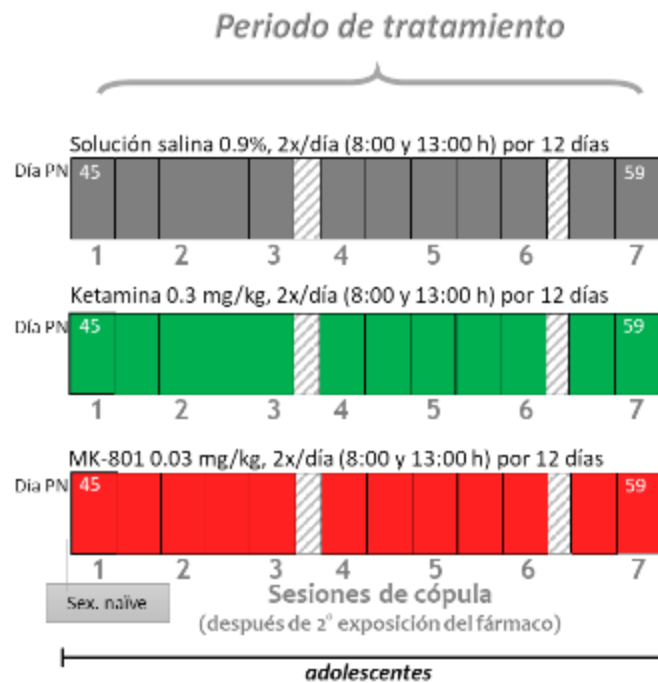


Figura 7. Diseño experimental para estudiar los efectos del tratamiento repetido con ketamina o MK-801 sobre la aparición y expresión de la cópula en ratas macho adolescentes (45-59 PN). A los machos sexualmente naïve se les sometió al periodo de tratamiento, administrando repetidamente ketamina (0.3 mg/kg, cuadros verdes), MK-801 (0.03 mg/kg, cuadros rojos) o solución salina (grupo control, cuadros oscuros) y se realizaron siete sesiones de cópula, cada tercer día. Los fines de semana se representan en líneas diagonales.

Al concluir el periodo de tratamiento previamente descrito, los grupos experimentales tratados repetidamente con tolueno, ketamina y MK-801 durante la adolescencia se convirtieron en adultos jóvenes (60 PN). Se les permitió entonces un periodo de lavado del fármaco de 20 días (periodo sin tratamiento, fig. 8). En dicho periodo, los primeros 4 días no tuvieron ninguna manipulación. A partir del

quinto, se evaluaron 7 sesiones de cópula adicionales (8-14) sin la administración de ninguna de las sustancias.

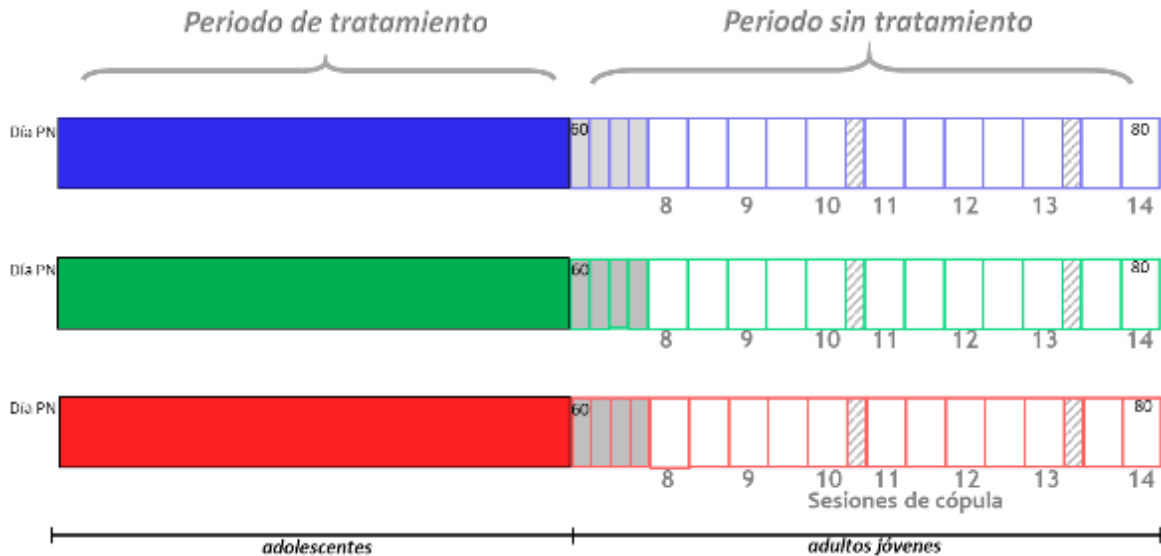


Figura 8. Diseño experimental para el periodo sin tratamiento. Tras pasar por el periodo de tratamiento repetido con tolueno, ketamina y MK-801, los machos de los tres grupos experimentales se sometieron a un periodo de lavado del fármaco (periodo sin tratamiento) en la adultez joven (60-80 PN). En este periodo se continuaron las sesiones de cópula (8-14), cada tercer día, pero ya sin la administración de ningún fármaco (cuadros blancos). Los días de descanso se representan en cuadros grises y fines de semana en líneas diagonales.

5.4.4 Respuesta a un reto de tolueno en la etapa adulta de las ratas expuestas a tolueno, ketamina o MK-801 durante la adolescencia

Al concluir el periodo sin tratamiento previamente descrito, los animales habían alcanzado la edad adulta. En el día 83 PN se retó a los tres grupos experimentales con una sola exposición a 6000 ppm de tolueno y se evaluaron sus efectos en una sesión de cópula (fig. 9).

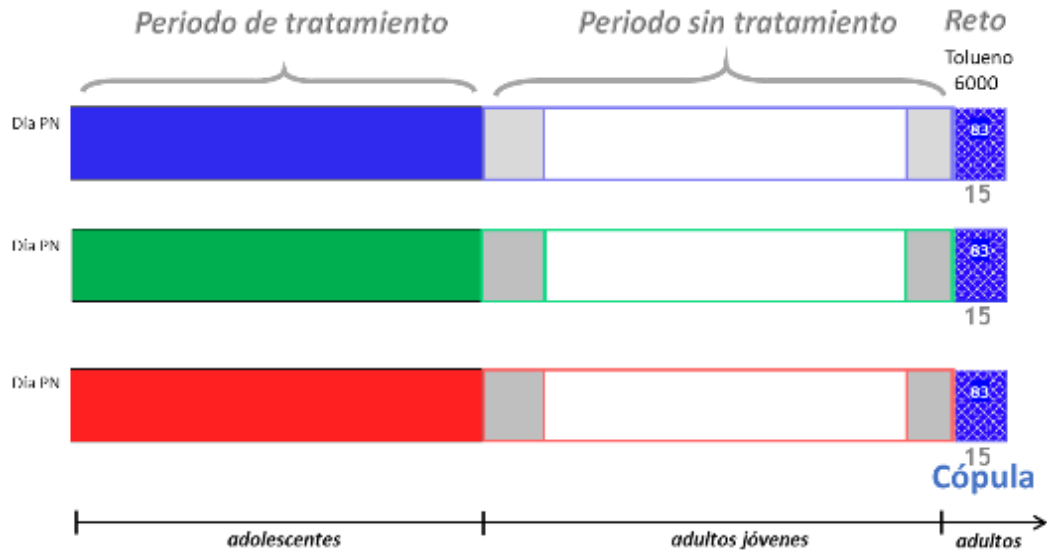


Figura 9. Diseño experimental para establecer si la exposición repetida a los fármacos durante la adolescencia modifica los efectos de una exposición aguda a tolueno en la etapa adulta. Tras pasar por el periodo sin tratamiento, los machos de los tres grupos experimentales se sometieron a un reto con una exposición aguda de tolueno (6000 ppm, cuadro achurado) antes de evaluar una sesión de cópula (15) en la etapa adulta (83 PN). Los días de descanso se representan en cuadros grises.

5.5 Análisis estadístico

Los resultados se analizaron mediante pruebas de estadística no paramétrica. Se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis seguida de la prueba de Dunn para comparaciones entre varios grupos independientes con respecto a un control; la prueba U de Mann-Whitney se usó para comparar dos grupos independientes o la prueba de Wilcoxon para hacer comparaciones entre muestras dependientes. En grupos expuestos a tratamientos repetidos, se utilizaron la prueba F de Fisher para comparar proporciones entre grupos independientes y la prueba Q de Cochran seguida de la prueba binomial para comparar proporciones en muestras repetidas. En todas las pruebas se consideraron diferencias estadísticamente significativas cuando el valor de p fue igual o menor a 0.05. El análisis estadístico se realizó con el programa GraphPad Prism versión 6.01 para Windows.

6. RESULTADOS

6.1 Efecto de la exposición aguda a tolueno sobre la cópula, las erecciones sin contacto, la motivación sexual incentiva y la coordinación motriz de ratas macho adultas jóvenes

La figura 10 muestra los efectos de la exposición aguda a tolueno sobre la cópula de las ratas macho adultas jóvenes sexualmente expertas. Todos los animales de ambos grupos expresaron el patrón copulatorio completo. A la concentración de 6000 ppm, el tolueno provocó un aumento significativo en las latencias de monta y de intromisión, así como en el número de montas, tanto las que preceden a la primera intromisión, como las que preceden a la eyaculación, con respecto al control. El resto de los parámetros no se alteró.

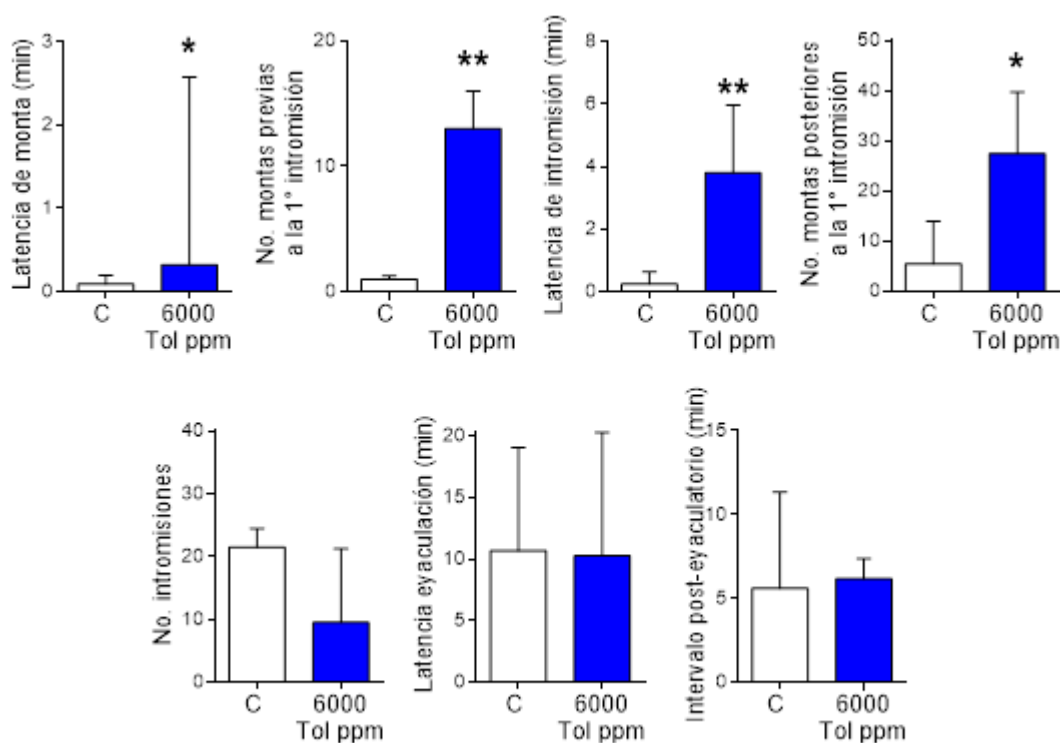


Figura 10. Parámetros específicos de la cópula tras una exposición aguda a tolueno (Tol, 6000 ppm) o aire (grupo control, C) en ratas macho adultas jóvenes (63 PN) sexualmente expertas. Los parámetros se representan en mediana \pm rango intercuartil. U de Mann Whitney ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$ Tol vs. C; $n = 7$ para ambos grupos.

En la figura 11 se presentan los efectos de la exposición aguda a tolueno sobre las erecciones sin contacto en machos adultos jóvenes, sexualmente expertos. El número de erecciones presentadas por los animales expuestos a tolueno mostró una tendencia a disminuir sin que la diferencia respecto del control alcance significancia estadística ($p=0.065$). Sin embargo, la latencia de presentación de la primera erección aumentó significativamente en los animales expuestos a tolueno, lo que sugiere una disminución en la excitación sexual.

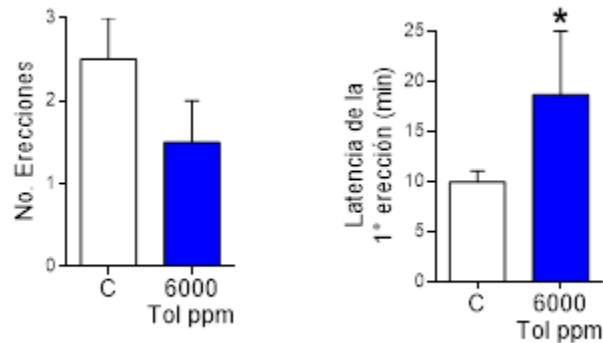


Figura 11. Número de erecciones y latencia de presentación de la primera erección de ratas macho adultas jóvenes (63 PN), sexualmente expertas, tras una exposición aguda a 6000 ppm de tolueno (Tol) o aire (grupo control, C) y en respuesta a la presencia de una hembra sexualmente receptiva e inaccesible. El número de erecciones y la latencia de presentación se representa como mediana \pm rango intercuartil. U de Mann-Whitney, $p<0.05$ Tol vs. C; $n=8$ para ambos grupos.

La figura 12 muestra los efectos de la exposición aguda a tolueno sobre la motivación sexual incentiva en animales adultos jóvenes, sexualmente expertos. El panel a presenta el tiempo acumulativo que pasaron los animales en cada una de las zonas incentivas. Como era de esperarse, los animales control permanecieron significativamente más tiempo en la zona incentiva de la hembra sexualmente receptiva que en la zona del macho desconocido. De forma opuesta, los animales expuestos a tolueno pasaron más tiempo en la zona incentiva del macho desconocido. El panel b muestra el tiempo acumulativo que los animales olfatearon las rejillas de los animales estímulo. El grupo control olfateó significativamente más tiempo la rejilla de la hembra. El grupo expuesto a tolueno olfateó de forma equivalente ambas rejillas. El panel c presenta la suma del tiempo acumulativo que

permanecieron los animales en ambas zonas incentivativas y el tiempo acumulado que pasaron en la zona neutra de la arena. El grupo expuesto a tolueno pasó significativamente más tiempo en las zonas incentivativas respecto a la zona neutra, mientras que el grupo control no presentó diferencia entre zonas. Finalmente, el panel *d* muestra el número de entradas de los animales a las zonas incentivativas. En este parámetro los animales expuestos a tolueno no difirieron del control.

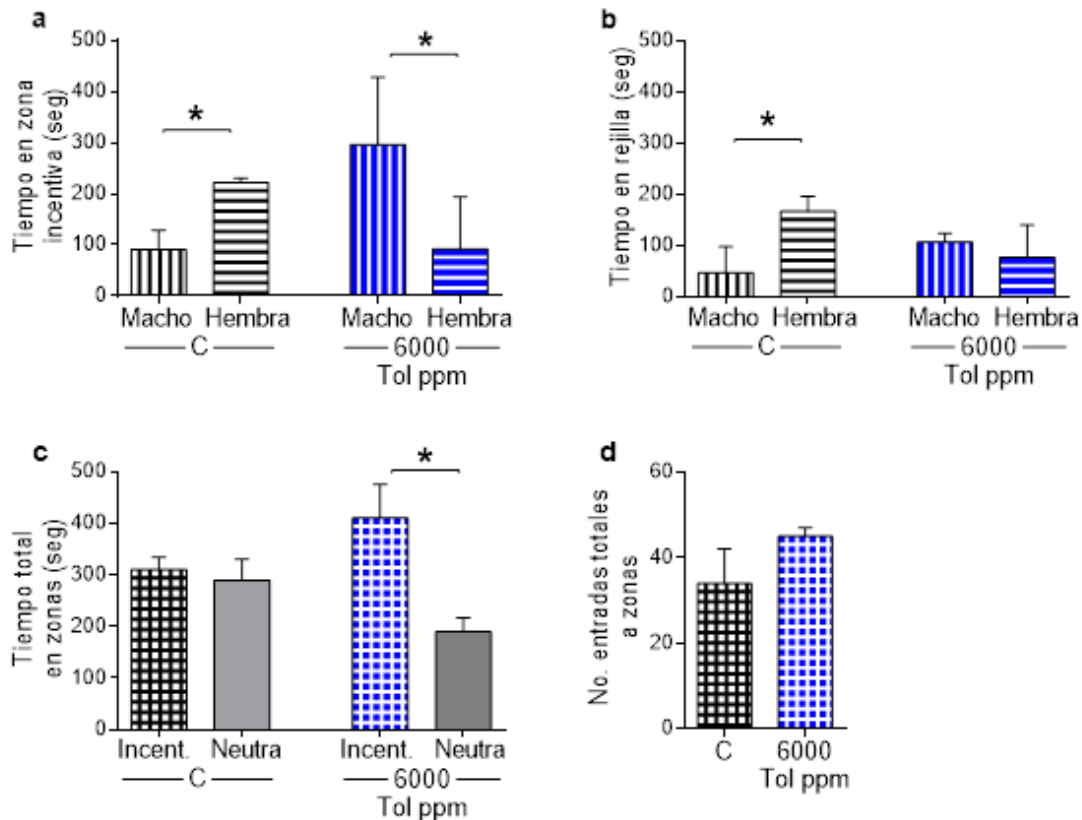


Figura 12. Efecto de la exposición aguda a tolueno (Tol) o aire (grupo control, C) en ratas macho adultas jóvenes (63 PN) sexualmente expertas, sobre el tiempo acumulativo en zonas incentivativas (panel a), tiempo acumulativo de olfateo de las rejillas (panel b), tiempo total en zonas incentivativas y zona neutra (panel c) y número de entradas a las zonas incentivativas (panel d). El tiempo y el número de entradas se presenta como mediana \pm rango intercuartil. Prueba de Wilcoxon $*p < 0.05$ macho vs. hembra, o zonas incentivativas vs. neutra; U de Mann-Whitney Tol vs. C; $n = 7$ para ambos grupos.

Los resultados de la coordinación motriz evaluada con la prueba de rotarod en machos adultos jóvenes (63 PN), mostraron que la exposición aguda a tolueno no tuvo efecto sobre el número de caídas (Tol: 0.5 caídas [0–1] vs. C: 0 caídas [0-0];

mediana [rango intercuartil], U de Mann Whitney, no significativo; n=8 para ambos grupos).

6.2 Efecto de la exposición repetida a tolueno durante la adolescencia sobre la aparición de las conductas copulatorias y la expresión del patrón copulatorio de ratas macho

La figura 13 muestra el porcentaje de las ratas macho adolescentes sexualmente naïve que presentó las conductas de monta, de intromisión y de eyaculación a lo largo de las diferentes sesiones de la cópula en el grupo tratado con tolueno y en el grupo control. En el grupo control, la mayoría de los animales (78%) presentó las conductas de monta e intromisión desde la primera exposición a una hembra sexualmente receptiva. Estas conductas se presentaron en todos los animales para la cuarta sesión de cópula. La conducta de eyaculación apareció durante la segunda sesión de la cópula en el 56% de los animales, el porcentaje fue aumentando paulatinamente en sesiones de la cópula sucesivas y no fue sino hasta la séptima sesión que la conducta de eyaculación se presentó en todos los animales control. Al día 59 PN, el patrón copulatorio estaba completamente instalado en los animales control.

En el grupo expuesto a tolueno, ningún animal presentó conductas copulatorias durante la primera exposición a la hembra. En la segunda sesión, únicamente un animal mostró conducta de monta. Hasta la tercera sesión de la cópula se presentó la conducta de intromisión en el mismo sujeto. La conducta de eyaculación no se presentó en ningún animal durante el periodo de exposición a tolueno. La inhibición de cada una de las conductas copulatorias fue estadísticamente significativa respecto al grupo control, excepto para la sesión 1 de la conducta de eyaculación. Por lo tanto, las conductas copulatorias no aparecieron durante el periodo de tratamiento con tolueno.

En la sesión 8, es decir la primera sesión de la cópula del periodo sin tratamiento, la mitad de los animales expuestos previamente a tolueno presentaron las conductas de monta y de intromisión, y para la sesión 10 todos los animales las

presentaron. La conducta de eyacuación se presentó en un sólo sujeto durante la sesión 8 de cópula del periodo sin tratamiento y hasta la sesión 11 se presentó en todos los animales. Estas proporciones se mantuvieron hasta finalizar las sesiones de la cópula. Los incrementos en los porcentajes fueron estadísticamente significativos al comparar a los animales a partir de la sesión 9 respecto a su propio comportamiento en la sesión 7, para cada una de las conductas. Al día 72 PN el patrón copulatorio estaba completamente instalado en los animales tratados con tolueno.

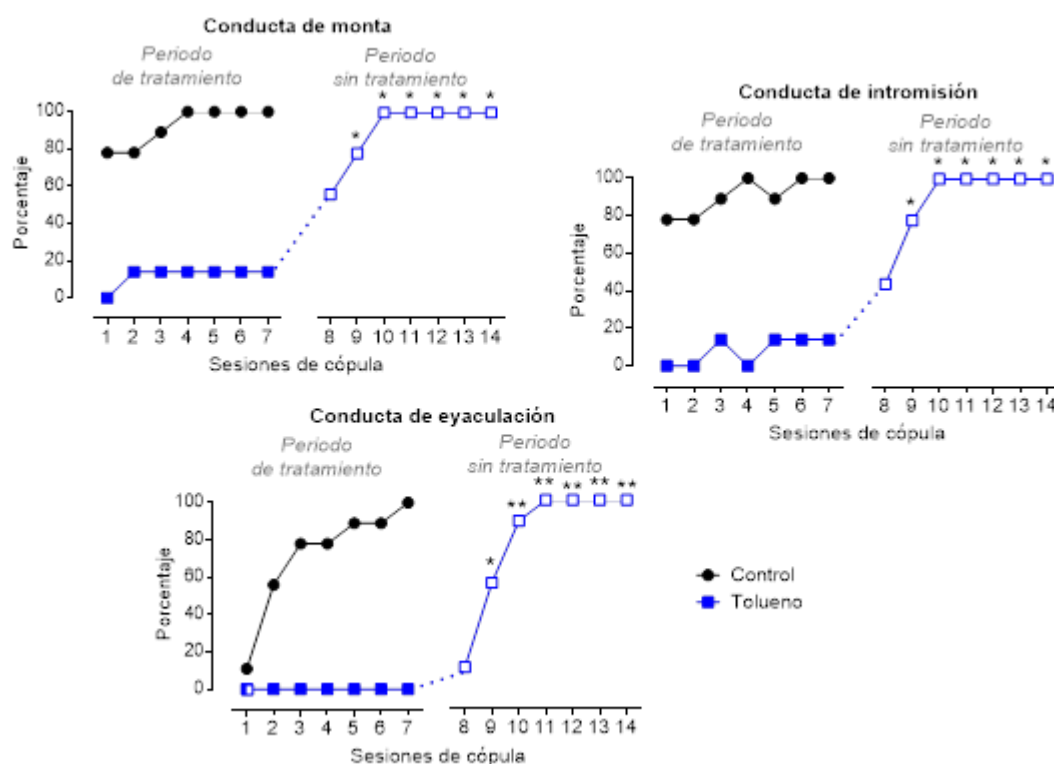


Figura 13. Porcentaje de animales sexualmente naïve que presentan las conductas de monta, de intrusión o de eyacuación a lo largo del periodo de tratamiento durante la adolescencia (45-59 PN) con tolueno (6000 ppm) y durante el periodo sin tratamiento durante la adultez joven (64-80 PN). F de Fisher $p < 0.05$ en cada sesión tolueno vs. control, excepto para □; prueba Q de Cochran seguido de la prueba binomial $*p < 0.05$, $**p < 0.01$, sesiones 8-14 vs. 7; $n = 9$ para ambos grupos.

La figura 14 muestra los parámetros específicos de la primera y la última vez que las ratas macho (expuestas al tratamiento repetido con tolueno) expresaron el patrón copulatorio completo, independientemente del día en que esto sucedió. En

el grupo control, el número de montas e intromisiones, así como la latencia de eyacuación, disminuyeron con la experiencia sexual.

Como ya se mencionó previamente, en el grupo expuesto a tolueno las conductas copulatorias aparecieron sólo después de suspender la administración del disolvente; por lo tanto, el patrón copulatorio completo se expresó a mayor edad que en los animales control (Tol: ~65 – 80 PN vs. control: ~45 - 59 PN). Sin embargo, en el grupo tratado con tolueno también se observó una disminución significativa de los parámetros temporales y del número de montas, conforme avanzaron las sesiones de cópula.

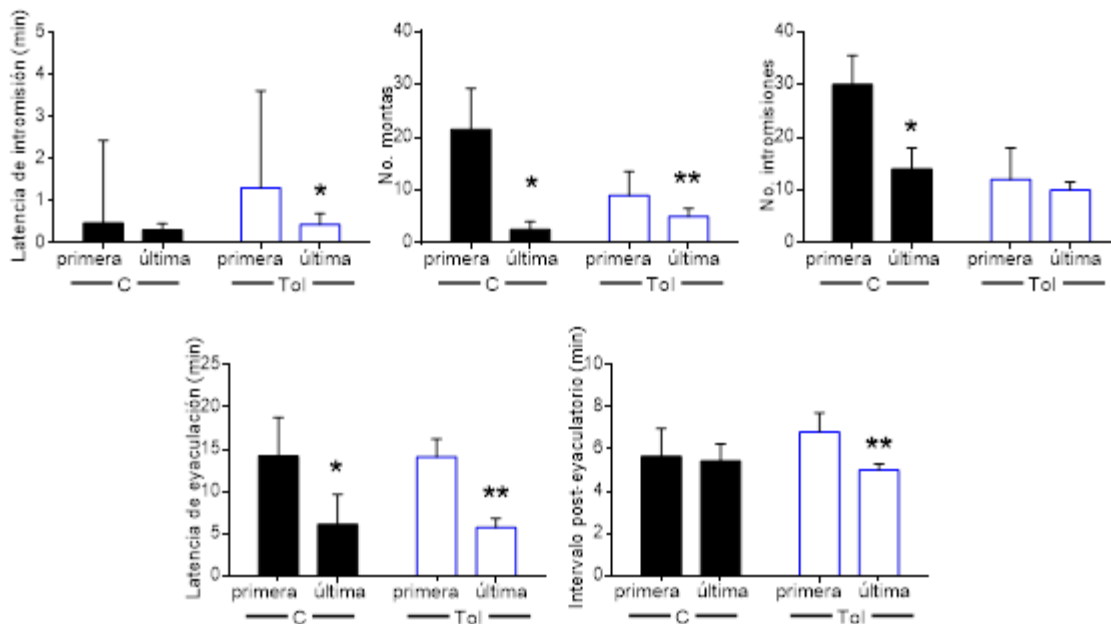


Figura 14. Parámetros específicos en la primera y última expresión del patrón copulatorio completo de ratas macho adultas jóvenes expuestas previamente a tolueno o de adolescentes del grupo control. Los parámetros se representan como medianas ± rango intercuartil. Prueba de Wilcoxon primera vs. última, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$; C $n = 8$, Tol $n = 9$.

6.3 Efecto de la exposición repetida a ketamina y MK-801 durante la adolescencia sobre la aparición de las conductas copulatorias y la expresión del patrón copulatorio de ratas macho

La figura 15 muestra que en la mitad de los animales del grupo control aparecieron las tres conductas copulatorias desde la primera sesión de cópula del periodo de

tratamiento. Para la sexta sesión el 100% de los animales del grupo control presentaron todas las conductas al día 55 PN.

La mitad del grupo tratado con ketamina fue capaz de montar y realizar intromisiones desde la primera sesión de cópula, pero particularmente, la conducta de intromisión se mantuvo con variaciones a lo largo del periodo de tratamiento. La conducta de eyaculación se presentó en un solo animal durante las primeras tres sesiones, aunque para las sesiones 6 y 7 se presentó en la mayoría de los animales. No se encontraron diferencias significativas en cada conducta respecto al grupo control, a largo del periodo de tratamiento respecto al grupo control. En el periodo sin tratamiento, las conductas de monta e intromisión se presentaron en más del 75% de los animales desde la sesión 8 y éste se mantuvo sin cambio. La conducta de eyaculación continuó presentándose con algunas variaciones, pero se expresó en la mayoría de los animales del grupo tratado con ketamina.

Respecto al grupo tratado con MK-801, casi un tercio de los animales fue capaz de montar e intromitir en el primer día de tratamiento, pero apenas un animal eyaculó. Estas proporciones fluctuaron conforme se avanzó en las sesiones de la cópula, pero para las últimas dos sesiones del periodo de tratamiento todas las conductas se expresaron en la mayoría de los animales y no se encontraron diferencias significativas a lo largo de dicho periodo. Ya en el periodo sin tratamiento, el grupo tratado con MK-801 alcanzó el 100% en cada conducta evaluada, a partir de la sesión 8.

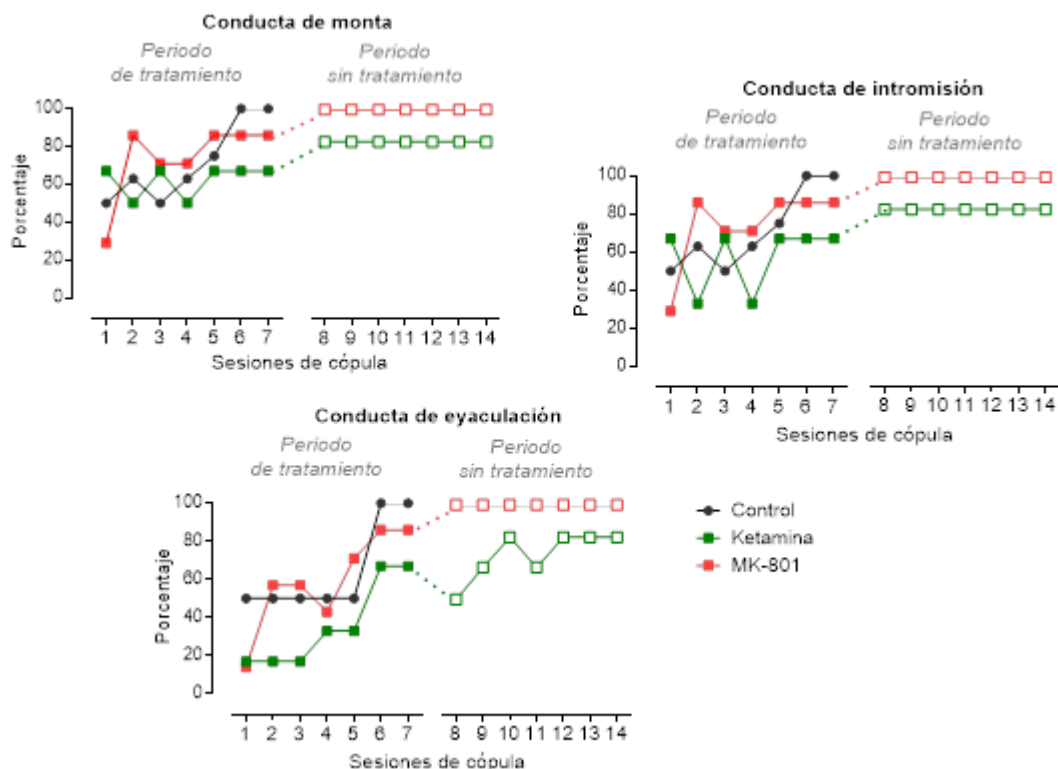


Figura 15. Porcentaje de animales que muestran las conductas de monta, de intromisión y de eyacuación a lo largo del periodo de tratamiento (45-60 PN) con ketamina (0.3 mg/kg), MK-801 (0.03 mg/kg) o vehículo (sol. salina) y durante el periodo sin tratamiento (64-80 PN). Control n=8, ketamina n=6, MK-801 n=7.

La figura 16 muestra los parámetros específicos de la primera y última ocasión en que las ratas macho expresaron el patrón copulatorio completo durante el tratamiento repetido con ketamina o MK-801, independientemente del día en que esto sucedió. A diferencia de lo que sucedió con el tolueno, los grupos tratados con ketamina o MK-801 sí lograron expresar el patrón copulatorio completo durante el periodo de tratamiento.

En los animales que sólo recibieron solución salina (grupo control) el número de intromisiones, la latencia de eyacuación y el intervalo post-eyaculatorio disminuyeron significativamente con la experiencia sexual. La latencia de intromisión y el número de montas permanecieron sin cambios. En el grupo tratado con ketamina sólo se redujo la latencia de intromisión, mientras que en las ratas

tratadas con MK-801, todos los parámetros de la cópula disminuyeron con la repetición de la conducta sexual.

Al comparar los parámetros de la cópula entre grupos, encontramos que el MK-801 afectó negativamente la conducta sexual la primera vez que los animales expresaron un patrón copulatorio completo ya que presentaron más montas y tuvieron una latencia de eyacuación mayor que la de los animales control.

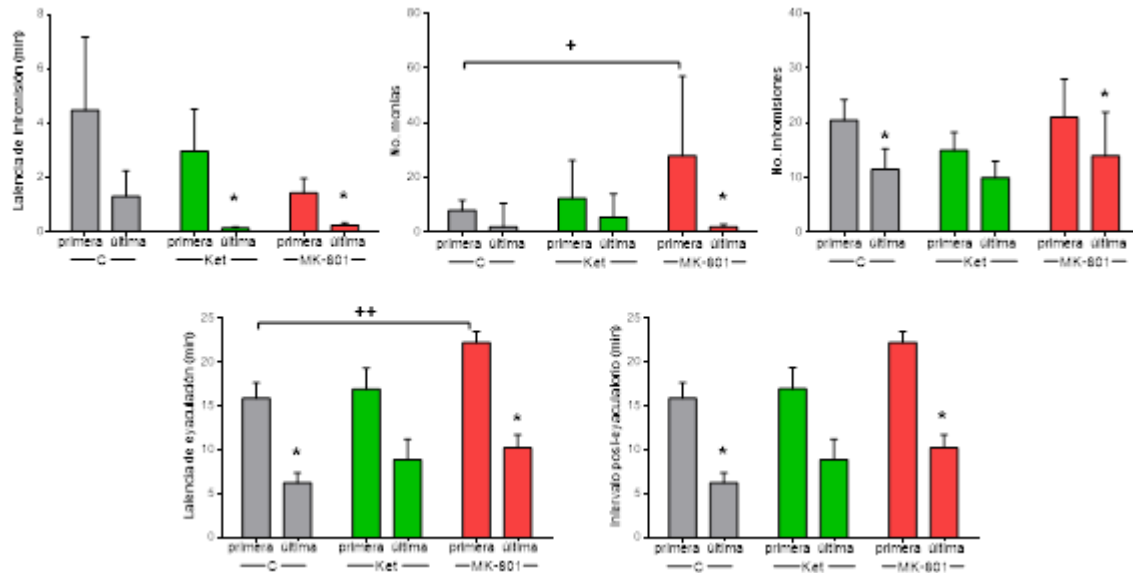


Figura 16. Parámetros específicos en la primera y última expresión del patrón copulatorio completo de ratas macho durante el tratamiento con ketamina (Ket) o MK-801. El grupo control (C) sólo recibió solución salina. Los parámetros se representan como medianas \pm rango intercuartil. Prueba de Wilcoxon, * $p < 0.05$, primera vs. última sesión; U de Mann Whitney + $p < 0.05$, ++ $p < 0.01$ vs. control. C $n = 8$, Ket $n = 6$, MK-801 $n = 7$.

6.4 Efecto de una exposición aguda a tolueno en la etapa adulta sobre la cópula de las ratas expuestas repetidamente a tolueno, ketamina o MK-801 durante la adolescencia

La figura 17 muestra el efecto de un reto con tolueno en las ratas adultas tratadas previamente con el disolvente, la ketamina o el MK-801 durante la adolescencia. Todos los animales de cada grupo expresaron el patrón copulatorio completo. En los animales pre-tratados con tolueno, el reto con el mismo aumentó significativamente el número de montas expresado en una serie copulatoria

respecto al grupo expuesto a la misma concentración de tolueno de manera aguda y de edad equivalente. El resto de los parámetros no fue diferente en ambos grupos. Ante el reto con tolueno, el grupo pre-tratado con ketamina no expresó más montas, pero sí menos intromisiones y menor latencia de eyaculación que el grupo expuesto a la misma concentración de tolueno de forma aguda. El resto de los parámetros no se afectó. El grupo pre-tratado con MK-801 respondió al reto con latencias de intromisión y eyaculación menores a las que expresó el grupo expuesto a la misma concentración de tolueno de forma aguda. Los demás parámetros no se afectaron.

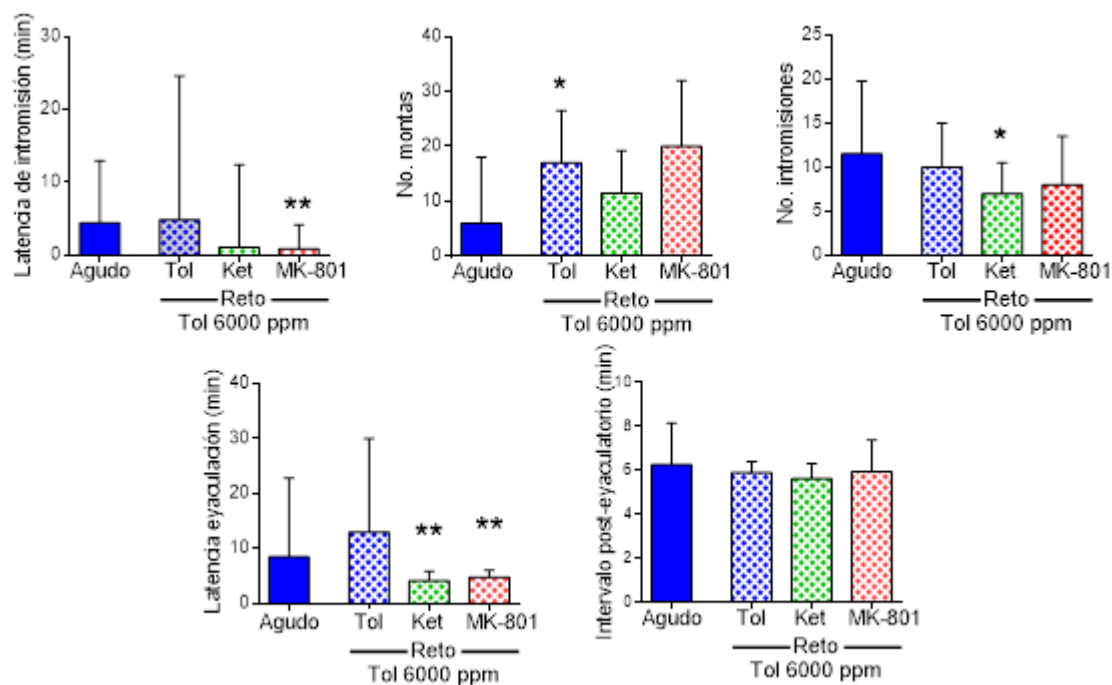


Figura 17. Parámetros específicos de la cópula ante el reto con tolueno (6000 ppm de tolueno, barras achuradas) en la edad adulta (83 PN) de los grupos tratados con tolueno (Tol), ketamina (Ket) o MK-801 en la adolescencia, respecto a un grupo de ratas adultas expuestas a la misma concentración de manera aguda (Agudo). Los parámetros se representan como medianas \pm rango intercuartil. U de Mann Whitney, Reto vs. Agudo, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$, agudo $n = 8$, tol $n = 8$ Ket $n = 6$, MK-801 $n = 8$.

Una diferencia observada entre los grupos tratados repetidamente con ketamina o MK-801 y el tratado repetidamente con tolueno fue que, en los primeros, las conductas copulatorias aparecieron desde los primeros días de tratamiento, provocando que estos animales cursaran por el doble de sesiones de cópula.

Finalmente, ni la ketamina, ni el MK-801, a las dosis utilizadas deterioraron la coordinación motriz de machos adultos jóvenes (día 63 PN), al mostrar un número de caídas similar al grupo control (Ket: 1.0 caídas [0 – 2], MK: 0 caídas [0 – 0.75] vs. C: 0 caídas [0 - 0]; mediana [rango intercuartil], U de Mann Whitney Tx vs. control, no significativo; n=8 para cada grupo).

7. DISCUSIÓN

7.1 Efecto de la exposición aguda a tolueno en animales sexualmente expertos

Nuestros resultados muestran que una exposición aguda a tolueno en animales adultos jóvenes con experiencia sexual tuvo efectos inhibitorios sobre la cópula que se expresaron como un retraso en el inicio de la interacción sexual con una hembra sexualmente receptiva, acompañado de una disminución de la excitación sexual y de la motivación sexual incentiva. Estos datos sugieren que el tolueno tiene un efecto inhibitorio sobre los aspectos apetitivos de la cópula. Por otro lado, también se observó que el tolueno produce un aumento importante en el número de montas y una tendencia a la disminución en el número de erecciones sin contacto que, en conjunto, sugieren afectación en los reflejos sexuales, lo que deteriora la ejecución de la cópula.

No existen estudios previos en la literatura que analicen los efectos del tolueno sobre la conducta sexual masculina, pero sí los hay del alcohol, que como se mencionó comparte algunos mecanismos de acción y efectos conductuales con el tolueno. El consumo agudo de alcohol tiene un efecto bifásico sobre la conducta sexual masculina, a dosis bajas la facilita y a dosis altas la inhibe (Ferraro y Kiefer 2004). En este trabajo sólo se probaron concentraciones altas de tolueno (de 500 a 6000 ppm, ver anexo) y sólo la de 6000 ppm tuvo efectos inhibidores sobre distintos aspectos de la conducta sexual. Queda por determinar si concentraciones menores a 500 ppm de tolueno pudieran tener algún efecto facilitador.

A la concentración probada, el tolueno disminuyó las erecciones sin contacto y aumentó el número de montas que preceden a la eyaculación. Cuando la respuesta

de erecciones no es la adecuada, los animales muestran dificultades para lograr la intromisión del pene en la vagina que se expresan como un aumento en el número de montas (Hull y Rodríguez-Manzo 2017). En conjunto estos efectos sugieren una afectación en la respuesta de erección que podría explicarse porque la sensibilidad genital estuviera deteriorada, porque la capacidad de respuesta motora no fuera la adecuada, y/o porque la percepción del estímulo olfativo estuviera alterada. La estimulación olfatoria es la vía principal para producir las erecciones sin contacto (Kondo et al. 1999). Las señales olfativas se procesan por dos vías: una que se origina en la cavidad nasal, a través de las neuronas receptoras olfatorias de la mucosa, que envían sus proyecciones al bulbo olfatorio principal; y otra que se origina en el órgano vomeronasal, ubicado en la base de la cavidad nasal y que envía sus proyecciones a los bulbos olfatorios accesorios (Keller et al. 2010). Las feromonas que emite una hembra sexualmente receptiva son detectadas por el órgano vomeronasal. En animales adultos con experiencia sexual previa, la remoción de los bulbos olfatorios (bulbectomía) inhibe la cópula y la preferencia por una hembra receptiva (Edwards et al. 1990). Sin embargo, una lesión menor, como es la desaferentación de los bulbos olfatorios, sólo aumenta la latencia de eyaculación sin afectar la latencia de monta, el número de montas o la preferencia por una hembra receptiva (Edwards et al. 1996). Dado que estas alteraciones son diferentes a las producidas por la exposición aguda a tolueno, la afectación de las vías olfatorias, aunque no puede descartarse, no parece ser la causa. Por otro lado, se sabe que la experiencia sexual previa agudiza la detección de las feromonas emitidas por una hembra receptiva (Lydell y Doty 1972; Nielsen et al. 2013). La mejoría en la discriminación del estímulo sexual producida por la experiencia sexual pudo haber compensado el deterioro de la sensibilidad producida por la inhalación aguda del tolueno en nuestro trabajo.

El tolueno también retrasó el inicio de la interacción sexual de los machos con la hembra y disminuyó el tiempo que pasaron los animales en la zona incentivada de una hembra receptiva. Ambos parámetros se consideran indicadores de motivación sexual incentivada (Ågmo 2003). Por ejemplo, macho no copuladores, pre-púberes o

castrados no se aproximan a la hembra sexualmente receptiva, indicando ausencia de motivación sexual (Hernández-González et al. 2008; Portillo y Paredes 2004).

Alteraciones en la sensibilidad olfativa tampoco explican esta disminución de la motivación sexual incentivada, ya que cuando las ratas macho sexualmente experimentadas son sometidas al procedimiento de bulbectomía, no cambian su motivación por una hembra receptiva versus una no receptiva, aunque sí reducen el tiempo de investigación ano-genital (Hull et al. 2006).

La disminución en el tiempo de permanencia en la zona incentivada de la hembra receptiva no fue un efecto inespecífico provocado por la inactividad física, ya que el tolueno a 6000 ppm no deterioró la coordinación motriz, ni la actividad motora. Tampoco parece ser el resultado de un desinterés en los estímulos, ya que no permanecieron más tiempo en la zona neutra, ni se mantuvieron inactivos en toda la arena.

Varias regiones cerebrales participan en el control de la motivación sexual masculina, como es APOm (Everitt 1990; Hull et al. 1995), el núcleo accumbens (Kippin et al. 2004) y la corteza prefrontal (Hernández-González et al. 2008). Está bien establecido que la liberación de dopamina en el núcleo accumbens desempeña un papel fundamental en los aspectos recompensantes de la cópula y del consumo de drogas de abuso (Ikemoto y Panksepp 1999), lo que facilitaría la motivación sexual. El tolueno favorece la liberación de dopamina en el núcleo accumbens a concentraciones similares a las utilizadas en este trabajo (Koga et al. 2007), sin embargo, nosotros encontramos un efecto inhibitorio sobre la motivación sexual. Esto sugiere la participación de otras regiones cerebrales. Recientemente, se ha sugerido que la corteza prefrontal regula la motivación sexual de la rata macho (Hernández-González et al. 2012; Hernández-González et al. 2014). La corteza prefrontal envía proyecciones de naturaleza glutamatérgica al área tegmental ventral, al núcleo accumbens y al APOm (Hull y Rodríguez-Manzo 2017). Tras una exposición aguda a tolueno (4000-8000 ppm) hay un incremento en la liberación de dopamina en la corteza prefrontal (Koga et al. 2007; Rivera-García et al. 2015). Por

lo tanto, la disminución en la motivación sexual que encontramos tampoco podría relacionarse con este neurotransmisor en esta vía.

Otra posibilidad sería que el tolueno disminuyera la producción de óxido nítrico, porque existen evidencias de que el bloqueo del receptor NMDA en núcleos particulares del hipotálamo lo disminuye (Melis et al. 2000) y el óxido nítrico es crítico para las conductas sexuales y la respuesta de eyaculación (Lagoda et al. 2004; Melis et al. 2000). Este punto será motivo de investigaciones posteriores.

7.2 Efecto de la exposición repetida a tolueno durante la adolescencia

Nuestros resultados muestran que el tratamiento repetido con tolueno durante la adolescencia también tuvo efectos negativos en la conducta sexual de las ratas macho. En particular, los animales presentaron una inhibición total de la expresión de las conductas copulatorias a lo largo del periodo que estuvieron expuestos al tolueno. Una vez finalizada la última exposición, las conductas copulatorias aparecieron gradualmente y el patrón copulatorio llegó a expresarse de forma estable en todos los individuos. Es decir, la exposición repetida a tolueno durante la adolescencia evitó que los animales desarrollaran la conducta sexual en la etapa en la que normalmente se adquiere, pero esta inhibición no fue permanente.

No hemos encontrado evidencias de otras drogas de abuso o agentes exógenos que produzcan una inhibición similar. Hay algunos antecedentes en el mismo sentido con el consumo de alcohol. Por ejemplo, Oliva y col. (2006) mostraron que sólo entre el 25 y el 33% de las ratas macho que consumieron alcohol de manera repetida entre los días 50 y 105 PN fueron capaces de presentar conductas copulatorias en su primera interacción sexual. Otros investigadores han descrito un aumento en las latencias de monta, intromisión y eyaculación, así como en el intervalo post-eyaculatorio en animales con experiencia sexual previa que fueron tratados repetidamente con alcohol (Menéndez et al. 1991). En esos estudios, los efectos negativos disminuyeron progresivamente hasta alcanzar parámetros normales, lo que sugiere que se desarrolló tolerancia a los efectos inhibidores del alcohol (Pinel et al. 1992). En nuestro estudio, no hubo indicios de tolerancia, la

inhibición de la aparición de la cópula por el tolueno se mantuvo a lo largo de todo el tratamiento.

Se desconocen los mecanismos por los cuales la exposición repetida a tolueno inhibe la aparición de la conducta sexual. Entre las posibilidades, podría pensarse en: a) cambios a nivel endócrino; b) alteraciones permanentes en la olfacción que impiden la adecuada detección de la hembra receptiva; y c) alteraciones de la transmisión glutamatérgica o de otros sistemas de neurotransmisión.

En cuanto a la primera posibilidad, se sabe que interferir con el desarrollo endócrino (mediante la castración previa a la pubertad, por ejemplo) evita permanentemente la aparición de las conductas copulatorias y que la restitución de la testosterona o estradiol logra revertir dicha inhibición (Larsson 1967). En general, la testosterona tiene un efecto facilitador sobre la conducta sexual (McGinnis y Dreifuss 1989).

Los datos acerca de los efectos del tolueno sobre hormonas sexuales masculinas son escasos e inconsistentes. Por ejemplo, Svensson y col. (1992; 1992) reportaron que el tolueno redujo los niveles de testosterona, de FSH y de LH en trabajadores expuestos crónicamente a concentraciones que oscilan en las 80 ppm. En contraste, en otro estudio realizado en trabajadores mexicanos se encontró un aumento en los niveles séricos de testosterona, pero una disminución de las hormonas FSH y LH (Miranda-Figueroa et al. 2013). Este tipo de estudios no suele indagar sobre posibles alteraciones en la conducta sexual de los individuos, además de que es difícil descartar el efecto de otras variables de confusión como el consumo de alcohol. En nuestro trabajo no analizamos si la administración crónica de tolueno podría alterar los niveles de hormonas sexuales masculinas. Sin embargo, Ono y col. (1999) no encontraron cambios en los niveles séricos de las tres hormonas en ratas macho sometidas a concentraciones de 6000 ppm de tolueno, 2 hrs al día, durante 5 semanas. En dicho estudio, el periodo de exposición al disolvente fue más prolongado que el nuestro, y la determinación de los niveles hormonales sólo se realizó al finalizar el tratamiento. Estos datos sugieren que, si existen efectos del tolueno sobre hormonas sexuales, no son evidentes al menos en las condiciones experimentales utilizadas.

Otra posible explicación del efecto inhibitor del tratamiento repetido con tolueno sobre la aparición de la conducta sexual podría deberse a que la constante inhalación del disolvente produjera un daño significativo en la detección olfativa de las feromonas que emite una hembra receptiva. En este aspecto, hay estudios que muestran que exposiciones a tolueno entre 400-1600 ppm durante un periodo más prolongado que el que utilizamos en nuestro trabajo (5 hrs al día por 4 semanas) disminuyen progresivamente la sensibilidad olfativa y producen modificaciones estructurales del epitelio olfatorio. La disminución de la olfacción se presenta tras 2 semanas de iniciar el periodo de tratamiento y hasta 2 semanas después de retirar el disolvente. Transcurrido ese tiempo, la sensibilidad olfativa regresa a la normalidad (Jacquot et al. 2006). Estos datos indican que el tolueno puede afectar la sensibilidad olfativa, pero no permiten explicar por qué en nuestro estudio ningún animal expresó alguna de las conductas copulatorias desde el primer día de exposición.

No podemos descartar que el tratamiento utilizado en nuestro trabajo produzca un deterioro de la sensibilidad olfativa, pero si así fuera, no cabría esperar una inhibición tan marcada en la aparición de la conducta sexual. Si bien existen evidencias de que la lesión selectiva de las neuronas sensoriales en el epitelio del bulbo olfatorio principal con sulfato de zinc inhibe la conducta sexual de animales sexualmente naïve (Keller et al. 2006), otros autores han encontrado que aun cuando se realice una bulbectomía olfatoria en ratas sexualmente naïve, la mayoría (75%) logra realizar intromisiones y un 10% logra eyacular en una primera sesión de cópula (Bermant y Taylor 1969). De tal forma que, en animales anósmicos que carecen de experiencia sexual previa, las conductas copulatorias logran instalarse desde la primera interacción con una hembra receptiva (Bermant y Taylor 1969).

Al cesar la inhalación, las conductas copulatorias aparecieron paulatinamente, el patrón copulatorio completo se instaló en todos los animales y su expresión se estabilizó como en el grupo control.

Otra explicación para la inhibición sostenida de la cópula durante el periodo de exposición a tolueno podría relacionarse con el constante antagonismo del receptor

NMDA. En un modelo de ratón knock-down que expresa una baja proporción de receptores NMDA funcionales (5-10%), se reportó que los machos no se aparean y presentan inhibición de la interacción social (Mohn et al. 1999). Este último efecto se ha reportado con otros antagonistas NMDA (como la ketamina, la PCP o el MK-801) (Wilson y Koenig 2014). Además, en un estudio previo del laboratorio en ratas adolescentes (35 días PN) expuestas repetidamente a tolueno (8000 ppm, 2 veces al día, por 20 días) se observó una disminución de la interacción social durante el tratamiento, efecto que desapareció poco después de retirar el disolvente (Nava Rodríguez 2016). De esta forma, antagonizar al receptor NMDA en una etapa crítica podría afectar transitoriamente las interacciones sexual y social, particularmente en la adolescencia periodo en que ambas conductas debieran aumentar de forma natural.

Si el antagonismo NMDA fuera el responsable de las alteraciones encontradas en la interacción sexual, nuestros resultados del tratamiento repetido a ketamina y a MK-801 serían similares a las que produjo el tolueno; sin embargo, esto no fue lo que ocurrió. El tratamiento con ketamina no tuvo un efecto significativo sobre el mejoramiento de la cópula. Respecto al tratamiento con MK-801, este sí tuvo un impacto negativo sobre el proceso de adquisición de la cópula, particularmente en la primera expresión del patrón copulatorio, pero la inhibición desapareció tras sucesivas sesiones de conducta y administraciones repetidas del fármaco.

La primera diferencia entre el tratamiento con tolueno y el tratamiento con los antagonistas NMDA de referencia fue la vía de administración. La inhalación es una vía muy eficiente de administración que permite un inicio rápido de acción, mientras que la administración sistémica utilizada (i.p.) requiere de procesos de absorción y distribución. No obstante, estos factores se compensan seleccionando una latencia adecuada para evaluar los efectos conductuales. Otra diferencia podría ser que las dosis utilizadas en este estudio se encuentran en uno o dos órdenes de magnitud por debajo de las utilizadas en otros estudios que evalúan otro tipo de pruebas conductuales [MK-801: 0.1 - 0.6 mg/kg; ketamina 7 - 30 mg/kg] (Wilson y Koenig 2014; Kamińska y Rogóz 2015). Sin embargo, el rango de dosis para los

tratamientos con ketamina y MK-801 representó una limitación en este proyecto porque las dosis más altas inducen efectos motores que podrían interferir con la ejecución de la cópula (ver anexo). No hay reportes que muestren equivalencias farmacológicas entre el tolueno y la ketamina o el MK-801. Estudios previos de nuestro laboratorio han mostrado efectos muy similares entre el tolueno y la ketamina a las concentraciones de 4000 y 8000 ppm y las dosis de 3 y 10 mg/kg, respectivamente (Rivera-García et al. 2015). Esta similitud no se encontró para los efectos sobre la conducta sexual, lo que sugiere que el efecto del tolueno es complejo e involucra varios sistemas de neurotransmisión.

7.3 Respuesta a un reto de tolueno en animales adultos tratados con antagonistas NMDA durante la adolescencia

La exposición a un reto con tolueno en la etapa adulta en animales tratados previamente con tolueno durante la adolescencia evidenció un efecto de sensibilización, que se manifestó por la presentación de un número mayor de montas en una serie copulatoria en comparación con los animales control expuestos una sola vez a tolueno. Ante el reto con tolueno, no se encontró sensibilización cruzada en los grupos tratados previamente con ketamina o MK-801 durante la adolescencia.

Se sabe que la exposición repetida a altas concentraciones de tolueno puede producir tolerancia o sensibilización dependiendo de la respuesta. La sensibilización se ha descrito para el incremento de la actividad locomotriz que se observa en animales tratados crónicamente con tolueno (Batis et al. 2010; Bowen et al. 2007), asociado a una facilitación de la transmisión dopaminérgica en el sistema mesolímbico (Beyer et al. 2001). La tolerancia se ha descrito sólo para algunos efectos fisiológicos, pero no para otros como el deterioro de la memoria (Nava Rodríguez 2016). En ambos casos, se han utilizado concentraciones de tolueno similares a las de este estudio y por tiempos de 2 a 4 semanas. Estos resultados sugieren que el tolueno produce cambios plásticos importantes que involucran a

sistemas de neurotransmisión diferentes, los cuales podrían estar implicados en la sensibilización reportada frente al reto de tolueno en la edad adulta.

La posibilidad de que el efecto de sensibilización que encontramos, se deba a factores farmacocinéticos es baja porque el tolueno produce una inducción de la enzima principal involucrada en su metabolismo, el citocromo P450 isoforma 2E1 (CYP2E1) (Nakajima y Wang 1994). En este caso, lo que cabría esperar es una vida media más corta y, por lo tanto, una menor duración de sus efectos.

Otra explicación radica en los cambios neuroadaptativos a largo plazo que induce la exposición repetida al disolvente. En particular, Duncan y col. (2014) exploraron los efectos de un reto con MK-801 (0.5 mg/kg) en animales adultos, después de 20 días de la última exposición intermitente al tolueno (10,000 ppm, 3 semanas), y encontraron un efecto breve de sensibilización, seguido de un efecto de tolerancia que permaneció por mayor tiempo. Como se mencionó anteriormente, la exposición repetida a tolueno induce neuroadaptaciones en los receptores NMDA (Williams et al. 2005), las cuales son consistentes con el tipo de modificaciones que inducen otras drogas de abuso en el circuito mesocorticolímbico (van Huijstee et al. 2015; Fitzgerald et al. 1996). Aunque este tipo de modificaciones se relacionan con el proceso de adicción, también podrían ser relevantes para la conducta sexual.

Con el propósito de analizar si el antagonismo NMDA persistente estaba relacionado con el efecto de sensibilización encontrado, sometimos a los animales tratados repetidamente con ketamina y MK-801 al reto con tolueno. Los fármacos de referencia no produjeron sensibilidad cruzada. Por un lado, las dosis de ketamina y MK-801 probadas están por debajo de las dosis que inducen procesos adictivos (Caffino et al. 2016; Corbett 1989) y quizá no sean suficientes para inducir modificaciones en el circuito mesocorticolímbico. En el mismo sentido, como se mencionó previamente, podemos pensar que las dosis administradas de los fármacos de referencia no fueron equivalentes en cuanto a la potencia del antagonismo NMDA, mismo que conduciría a pocas o nulas neuroadaptaciones a largo plazo y a la falta de efecto ante el reto con tolueno. En conjunto, estas pueden ser algunas razones del por qué no observamos sensibilización cruzada ante el reto

con tolueno. Por lo tanto, nuestros resultados no nos permiten concluir que el efecto de sensibilización sea de naturaleza glutamatérgica.

Por otro lado, en el grupo tratado con MK-801, el reto con tolueno tuvo otro tipo de impacto en la respuesta conductual, al encontrar que el tolueno no tuvo el efecto típico en la latencia de intromisión, mismo que se presentó consistentemente en nuestras exposiciones agudas en animales adultos jóvenes y adultos. Este resultado muestra que el tratamiento repetido con MK-801 sí modificó la respuesta al tolueno, lo que sugiere que el antagonismo del receptor NMDA participa en algunos de los efectos del tolueno sobre la cópula. En apoyo a esta interpretación, se ha reportado que, en animales con experiencia sexual, el consumo agudo de alcohol (Pfaus y Pinel 1989; Pinel et al. 1992) y la administración aguda de MK-801 (0.1 o 0.2 mg/kg) (Fleming y Kucera 1991; Powell et al. 2003) aumentaron la latencia de monta e intromisión y el número de montas, parámetros que se modificaron por la exposición aguda a 6000 ppm de tolueno. Como se mencionó, estas sustancias comparten el antagonismo del receptor NMDA.

Otra posible explicación para la ausencia de sensibilización cruzada puede estar relacionada con la experiencia sexual. Los animales tratados con ketamina y MK-801 presentaron las conductas copulatorias desde las primeras sesiones de cópula durante el periodo de tratamiento, y lograron tener un patrón copulatorio a pesar de la presencia del fármaco. Además, la cópula siguió reforzándose en el periodo sin tratamiento. Se ha reportado que los machos que presentan un patrón copulatorio estable como resultado de experiencias sexuales sucesivas, son más resistentes a los efectos disruptores de factores exógenos sobre la cópula, como son las drogas de abuso o estímulos estresantes (Larsson 1956; Pfaus y Wilkins 1995). En apoyo a esto, en este trabajo los parámetros de la cópula que aparecieron alterados en las primeras experiencias sexuales del grupo tratado con MK-801 mejoraron conforme avanzaban las sesiones sucesivas de cópula. En el grupo tratado repetidamente con ketamina, la tendencia es la misma. Por otro lado, se ha sugerido que la experiencia sexual es un factor suficiente para inducir cambios plásticos en el

circuito mesolímbico, los que a su vez se convierten en un factor capaz de cambiar la sensibilidad a las drogas de abuso (Pitchers et al. 2010).

Existen datos tanto clínicos, así como en modelos animales que muestran que el consumo prolongado de tolueno provoca alteraciones en el aprendizaje y la memoria, dependientes de la corteza prefrontal (Lin et al. 2010; Yücel et al. 2008; Rosenberg et al. 2002). La exposición aguda a concentraciones altas de tolueno (8000-12,000 ppm) disminuye los niveles de glutamato en la corteza prefrontal (Perrine et al. 2011). En un estudio realizado por Hernández-González y col. (2012) se encontró que dicha corteza participa en el procesamiento de una memoria de trabajo dependiente de la motivación sexual de un macho por una hembra receptiva. Por lo tanto, no habría que descartar la participación de dicha estructura cerebral en los efectos negativos del tolueno y el MK-801 sobre la conducta sexual.

Las evidencias presentadas en este apartado no nos permiten concluir directamente cuáles son los mecanismos por los que la exposición a tolueno, de forma aguda o repetida, puede producir los efectos negativos en los distintos aspectos de la conducta sexual de la rata macho se requieren más estudios al respecto.

8. CONCLUSIONES

- La exposición aguda a tolueno disminuyó los aspectos apetitivos de la conducta sexual y deterioró la ejecución de la cópula en ratas macho adultas jóvenes.
- La exposición repetida a tolueno durante la adolescencia en ratas macho sexualmente naïve inhibió la aparición de las conductas copulatorias en la etapa en que debieron aparecer. Esta alteración fue transitoria, pues al suspender la exposición al disolvente, las conductas copulatorias aparecieron paulatinamente hasta expresarse en forma estable.
- El reto con una exposición única a tolueno en la etapa adulta mostró un efecto de sensibilización en los animales expuestos durante la adolescencia a tolueno, lo cual sugiere que el tolueno tiene efectos a largo plazo sobre la conducta sexual.
- No se observó una relación directa entre el antagonismo del receptor NMDA, la inhibición de la cópula y la sensibilización producida por el tratamiento repetido con tolueno durante la adolescencia.

9. PERSPECTIVAS

A partir de los resultados obtenidos se plantean las siguientes perspectivas:

- Estudiar si el tratamiento con tolueno en ratas macho pre-púberes interfiere con la regulación endócrina característica de la pubertad, y si dicho tratamiento tiene consecuencias a largo plazo sobre la conducta sexual.
- Determinar las concentraciones de las hormonas sexuales en plasma en distintos puntos del periodo de tratamiento repetido con tolueno y posterior al mismo.
- Profundizar en el estudio de la sensibilidad olfativa utilizando paradigmas conductuales que midan umbrales de detección e integridad de la olfacción en los distintos esquemas de exposición a tolueno.
- Evaluar si en el mismo esquema de exposición repetida a tolueno presenta otros efectos, cuando la evaluación de la cópula se realiza antes de cada exposición al disolvente.
- Evaluar la preferencia sexual de los animales expuestos de forma aguda a tolueno.
- Identificar los sistemas de neurotransmisión involucrados en el fenómeno de inhibición de la expresión de la conducta sexual utilizando herramientas farmacológicas.

10. REFERENCIAS

- Ågmo, A. (1997). Male rat sexual behavior. *Brain research protocols*, 1(2), 203–209.
- Ågmo, A. (2003). Unconditioned sexual incentive motivation in the male Norway rat (*Rattus norvegicus*). *Journal of Comparative Psychology*, 117(1), 3–14.
- Andersen, S. L. (2003). Trajectories of brain development: Point of vulnerability or window of opportunity? *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 27(1–2), 3–18.
- Anderson, P., Christy, M. E., y Evans, B. E. (1983). 5-Alkyl or hydroxyalkyl substituted-10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]cyclohepten-5,10-imines and anticonvulsant use thereof. 1983-08-16.
- Balster, R. L., Cruz, S. L., Howard, M. O., Dell, C. A., y Cottler, L. B. (2009). Classification of abused inhalants. *Addiction*, 104(6), 878–882.
- Batis, J. C., Hannigan, J. H., y Bowen, S. E. (2010). Differential effects of inhaled toluene on locomotor activity in adolescent and adult rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 96(4), 438–448.
- Beckley, J. T., y Woodward, J. J. (2013). Volatile solvents as drugs of abuse: focus on the cortico-mesolimbic circuitry. *Neuropsychopharmacology*, 38(13), 2555–67.
- Bermant, G., y Taylor, L. (1969). Interactive effects of experience and olfactory bulb lesions in male rat copulation. *Physiology and Behavior*, 4, 13–17.
- Beyer, C. E., Stafford, D., LeSage, M. G., Glowa, J. R., y Steketee, J. D. (2001). Repeated exposure to inhaled toluene induces behavioral and neurochemical cross-sensitization to cocaine in rats. *Psychopharmacology*, 154(2), 198–204.
- Blanke, M. L., y VanDongen, A. M. J. (2009). Activation Mechanisms of the NMDA Receptor. En A. M. Van Dongen (Ed.), *Biology of the NMDA Receptor*. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor and Francis.
- Bosson, M. G., y Niesink, R. J. M. (2010). Adolescent brain maturation, the endogenous cannabinoid system and the neurobiology of cannabis-induced schizophrenia. *Progress in Neurobiology*, 92(3), 370–385.
- Bowen, S. E., Charlesworth, J. D., Tokarz, M. E., Wright, M. J., y Wiley, J. L. (2007). Decreased sensitivity in adolescent vs. adult rats to the locomotor activating effects of toluene. *Neurotoxicology and Teratology*, 29(6), 599–606.
<http://doi.org/10.1016/j.ntt.2007.08.001>
- Caffino, L., Piva, A., Giannotti, G., Di Chio, M., Mottarlini, F., Venniro, M., ... Fumagalli, F. (2016). Ketamine Self-Administration Reduces the Homeostasis of the Glutamate Synapse in the Rat Brain. *Molecular Neurobiology*, 1–8.
- Carroll, R. C., y Zukin, R. S. (2002). NMDA-receptor trafficking and targeting: implications for synaptic transmission and plasticity. *Trend in Neuroscience*, 25(11), 571–577.
- Cartágenes, S. C., Fernandes, L. M. P., de Andrade, E. F., Prediger, R. D., y Maia, C. S. F. (2017). Ketamine. En R. R. Watson y S. Zibadi (Eds.), *Addictive Substances and Neurological Disease* (pp. 373–382). London: Academic Press.
- Copeland, J., y Dillon, P. (2013). Ketamine. En P. M. Miller (Ed.), *Principles of Addiction*

- (pp. 733–741). San Diego: Academic Press.
- Corbett, D. (1989). Possible abuse potential of the NMDA antagonist MK-801. *Behavioural brain research*, 34(3), 239–246.
- Cruz, S. L., y Balster, R. L. (2013). Neuropharmacology of Inhalants. En P. M. Miller (Ed.), *Biological Research on Addiction* (pp. 637–645). San Diego: Academic Press.
- Cruz, S. L., Rivera-García, M. T., y Woodward, J. J. (2014). Review of toluene action: clinical evidence, animal studies and molecular targets. *Journal of Drug Alcohol Research*, 3, 1–15.
- Dick, A. L. W., Axelsson, M., Lawrence, A. J., y Duncan, J. R. (2014). Specific impairments in instrumental learning following chronic intermittent toluene inhalation in adolescent rats. *Psychopharmacology*, 231(8), 1531–1542.
- Dick, A. L. W., Pooters, T., Gibbs, S., Giles, E., Qama, A., Lawrence, A. J., y Duncan, J. R. (2015). NMDA receptor binding is reduced within mesocorticolimbic regions following chronic inhalation of toluene in adolescent rats. *Brain research*, 1624, 239–252.
- Dominguez, J. (2009). A role for preoptic glutamate in the regulation of male reproductive behavior. *The Neuroscientist*, 15(1), 11–19.
- Dominguez, J., Gil, M., y Hull, E. (2006). Preoptic Glutamate Facilitates Male Sexual Behavior. *Journal of Neuroscience*, 26(6), 1699–1703.
- Domjan, M. (1992). Adult Learning and Mate Choice: Possibilities and Experimental Evidence. *American Zoologist*, 32(1), 48–61.
- Duncan, J. R., Gibbs, S. J., y Lawrence, A. J. (2014). Chronic intermittent toluene inhalation in adolescent rats alters behavioural responses to amphetamine and MK801. *European Neuropsychopharmacology*, 24(3), 480–486.
- Dunham, N. W., y Miya, T. S. (1957). A Note on a Simple Apparatus for Detecting Neurological deficit in Rats and Mice. *Journal of the American Pharmaceutical Association*, 46(3), 208–209.
- Edwards, D. A., Griffis, K. T., y Tardivel, C. (1990). Olfactory bulb removal: Effects on sexual behavior and partner-preference in male rats. *Physiology and Behavior*, 48(3), 447–450.
- Edwards, D. A., Walter, B., y Liang, P. (1996). Hypothalamic and olfactory control of sexual behavior and partner preference in male rats. *Physiology and Behavior*, 60(5), 1347–1354.
- Everitt, B. J. (1990). Sexual motivation: A neural and behavioural analysis of the mechanisms underlying appetitive and copulatory responses of male rats. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 14(2), 217–232.
- Fernandes, L. M. P., de Andrade, E. F., Monteiro, M. C., Cartágenes, S. C., Lima, R. R., Prediger, R. D., y Maia, C. S. F. (2017). Ethanol: Neurotoxicity and Brain Disorders. En R. R. Watson y S. Zibadi (Eds.), *Addictive Substances and Neurological Disease* (pp. 201–215). London: Academic Press.
- 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(3), 427–433.

- Fitzgerald, L. W., Ortiz, J., Hamedani, a G., y Nestler, E. J. (1996). Drugs of abuse and stress increase the expression of GluR1 and NMDAR1 glutamate receptor subunits in the rat ventral tegmental area: common adaptations among cross-sensitizing agents. *The Journal of neuroscience*, 16(1), 274–282.
- Fleming, A. S., y Kucera, C. (1991). Sexual experience effects are blocked both by the protein-synthesis inhibitor, cycloheximide, and by the noncompetitive NMDA antagonist, MK-801. *Behavioral and Neural Biology*, 56(3), 319–328.
- Frohman, K. S., Pitchers, K. K., Balfour, M. E., y Coolen, L. M. (2010). Mixing pleasures: Review of the effects of drugs on sex behavior in humans and animal models. *Hormones and Behavior*, 58(1), 149–162.
- Gogtay, N., Giedd, J. N., Lusk, L., Hayashi, K. M., Greenstein, D., Vaituzis, a C., ... Thompson, P. M. (2004). Dynamic mapping of human cortical development during childhood through early adulthood. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(21), 8174–8179.
- Goswami, S. K., Venkata, Archana Kossireddi Jaffer, N. Z., y Inamdar, M. N. (2015). Chronic administration of ketamine induces depression in Wistar rat , but does not affect sexual function. *Journal of Young Pharmacists*, 7(2), 133–134.
- Guarraci, F. A. (2010). “Sex, drugs and the brain”: The interaction between drugs of abuse and sexual behavior in the female rat. *Hormones and Behavior*, 58(1), 138–148.
- Hernández-González, M., Almanza-Sepúlveda, M. L., Olvera-Cortés, M. E., Gutiérrez-Guzmán, B. E., y Guevara, M. Á. (2012). Prefrontal electroencephalographic activity during the working memory processes involved in a sexually motivated task in male rats. *Experimental Brain Research*, 221(2), 143–153.
- Hernández-González, M., Guevara, M. A., y Ágmo, A. (2008). Motivational influences on the degree and direction of sexual attraction. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1129, 61–87.
- Hernández-González, M., Guevara, M. A., y Ágmo, A. (2014). Electroencephalographic activity during sexual behavior: A novel approach to the analysis of drug effects on arousal and motivation relevant for sexual dysfunctions. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 121, 158–169.
- Holder, M. K., y Blaustein, J. D. (2014). Puberty and adolescence as a time of vulnerability to stressors that alter neurobehavioral processes. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 35(1), 89–110.
- Hull, E. M., Du, J., Lorrain, D. S., y Matuszewich, L. (1995). Extracellular Dopamine in the Medial Preoptic Area: Implications for Sexual Motivation and Hormonal Control of Copulation. *The Journal of neuroscience*, 15(11), 7465–7471.
- Hull, E., y Rodríguez-Manzo, G. (2017). Male sexual behavior. En D. W. Pfaff y M. Joëls (Eds.), *Hormones, Brain and Behavior* (3º, Vol. 1, pp. 1–57). Amsterdam: Academic Press.
- Hull, E., Wood, R., y McKenna, K. (2006). Neurobiology of male sexual behavior. En J. D. Neill (Ed.), *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction* (3a ed., pp. 1729–1824). 33: Academic Press.

- Ikemoto, S., y Panksepp, J. (1999). The role of nucleus accumbens dopamine in motivated behavior: A unifying interpretation with special reference to reward-seeking. *Brain Research Reviews*, 31(1), 6–41.
- Ishigami, A., Tokunaga, I., Kubo, S. I., y Gotohda, T. (2005). Immunohistochemical study of rat spermatogenesis after toluene-inhalation. *Legal Medicine*, 7(1), 42–46.
- Jacquot, L., Pourie, G., Buron, G., Monnin, J., y Brand, G. (2006). Effects of toluene inhalation exposure on olfactory functioning: Behavioral and histological assessment. *Toxicology Letters*, 165(1), 57–65.
- Johnston, M. V. (2004). Clinical disorders of brain plasticity. *Brain and Development*, 26(2), 73–80.
- Kamińska, K., y Rogóz, Z. (2015). The effect of combined treatment with risperidone and antidepressants on the MK-801-induced deficits in the social interaction test in rats. *Pharmacological Reports*, 67(6), 1183–1187.
- Kanter, M. (2011). Thymoquinone attenuates lung injury induced by chronic toluene exposure in rats. *Toxicology and Industrial Health*, 27(5), 387–395.
- Kasanetz, F., y Manzoni, O. J. (2009). Maturation of Excitatory Synaptic Transmission of the Rat Nucleus Accumbens From Juvenile to Adult. *Journal of neurophysiology*, 101, 2516–2527.
- Keller, M., Douhard, Q., Baum, M. J., y Bakker, J. (2006). Sexual experience does not compensate for the disruptive effects of zinc sulfate-lesioning of the main olfactory epithelium on sexual behavior in male mice. *Chemical senses*, 31(8), 753–62.
- Keller, M., Pillon, D., y Bakker, J. (2010). Olfactory systems in mate recognition and sexual behavior. En G. Litwack (Ed.), *Vitamins and Hormones: Pheromones* (Vol. 83, pp. 331–350). London: Academic Press, Elsevier.
- Kippin, T. E., Sotiropoulos, V., Badih, J., y Pfau, J. G. (2004). Opposing roles of the nucleus accumbens and anterior lateral hypothalamic area in the control of sexual behaviour in the male rat. *European Journal of Neuroscience*, 19(July 2003), 698–705. <http://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2003.03160.x>
- Koga, Y., Higashi, S., Kawahara, H., y Ohsumi, T. (2007). Toluene Inhalation Increases Extracellular Noradrenaline and Dopamine in the Medial Prefrontal Cortex and Nucleus Accumbens in Freely-Moving Rats. *The Journal of the Kyushu Dental Society*, 61(1), 39–54.
- Kondo, Y., Tomihara, K., y Sakuma, Y. (1999). Sensory requirements for noncontact penile erection in the rat. *Behavioral neuroscience*, 113(5), 1062–1070.
- Lagoda, G., Muschamp, J. W., Vigdorichik, A., y Hull, E. M. (2004). A nitric oxide synthesis inhibitor in the medial preoptic area inhibits copulation and stimulus sensitization in male rats. *Behavioral neuroscience*, 118(6), 1317–1323.
- Larsson, K. (1956). *Conditioning and sexual behavior in the male albino rat*. (J. Elmgren, Ed.). Stockholm: Almqvist and Wiksell.
- Larsson, K. (1967). Testicular hormone and developmental changes in mating behavior of the male rat. *Journal of comparative and physiological psychology*, 63(2), 223–30.

- Lin, B.-F., Ou, M.-C., Chung, S.-S., Pang, C.-Y., y Chen, H.-H. (2010). Adolescent toluene exposure produces enduring social and cognitive deficits in mice: an animal model of solvent-induced psychosis. *The world Journal of Biological Psychiatry*, 11(6), 792–802.
- Livingston, A., y Waterman, A. E. (1978). The Development of Tolerance to Ketamine in Rats and the Significance of Hepatic Metabolism. *British Journal of Pharmacology*, 64, 63–69.
- Lubman, D. I., Yücel, M., y Lawrence, A. J. (2008). Inhalant abuse among adolescents: neurobiological considerations. *British journal of pharmacology*, 154(2), 316–26.
- Lydell, K., y Doty, R. L. (1972). Male rat odor preferences for female urine as a function of sexual experience, urine age, and urine source. *Hormones and Behavior*, 3(3), 205–212.
- Marjot, R., y McLeod, A. A. (1989). Chronic non-neurological toxicity from volatile substance abuse. *Human Toxicology*, 8, 301–306.
- McGinnis, M. Y., y Dreifuss, R. M. (1989). Evidence for a role of testosterone-androgen receptor interactions in mediating masculine sexual behavior in male rats. *Endocrinology*, 124(2), 618–626.
- Meisel, R. L., y Sachs, B. D. (1994). The physiology of male sexual behavior. En E. Knobil y J. Neill (Eds.), *Physiology of Reproduction* (2a ed., pp. 3–105). New York: Raven Press.
- Melis, M. R., y Argiolas, A. (2011). Central control of penile erection: A re-visitation of the role of oxytocin and its interaction with dopamine and glutamic acid in male rats. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 35(3), 939–955.
- Melis, M. R., Succu, S., Spano, M. S., y Argiolas, A. (2000). Effect of excitatory amino acid, dopamine, and oxytocin receptor antagonists on noncontact penile erections and paraventricular nitric oxide production in male rats. *Behav Neurosci*, 114(4), 849–857.
- Mendelson, S. D., y Pfau, J. G. (1989). Level searching: A new assay of sexual motivation in the male rat. *Physiology and Behavior*, 45(2), 337–341.
- Menéndez, A. E., Velasco Plaza, A., y Marin, B. (1991). Effect of alcohol treatment on sexual behaviour of male rats. *The Indian Journal of Medical Research*, 94, 320–326.
- Miranda-Figueroa, G., Paz-Román, M. del P., Aguilar-Madrid, G., Juárez-Pérez, C. A., Basurto-Acevedo, L., Basurto-Acevedo, L., y Haro-García, L. (2013). Perfil hormonal masculino de trabajadores expuestos a tolueno en una fábrica de empaques industriales. *Revista Medica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, 51(3), 270–275.
- Mohn, A. R., Gainetdinov, R. R., Caron, M. G., y Koller, B. H. (1999). Mice with reduced NMDA receptor expression display behaviors related to schizophrenia. *Cell*, 98(4), 427–436.
- Nakajima, T., y Wang, R.-S. (1994). Induction of cytochrome P450 by toluene. *Int. J. Biochem.*, 26(12), 1333–1340.
- Nava Rodríguez, V. J. (2016). *Tolerancia, abstinencia y posible recuperación de efectos*

conductuales y neuroquímicos tras la administración crónica de tolueno en ratas adolescentes. CINVESTAV-IPN.

- Nelson, G. A. (1971). *Controlled Test Atmospheres. Principles and techniques.* University of California Press.
- Nielsen, B. L., Jérôme, N., Saint-Albin, A., Rampin, O., y Maurin, Y. (2013). Behavioural response of sexually naïve and experienced male rats to the smell of 6-methyl-5-hepten-2-one and female rat faeces. *Physiology and Behavior*, *120*, 150–155.
- Oliva, S. U., Messias, A. G., Silva, D. A. F., Pereira, O. C. M., Gerardin, D. C. C., y Kempinas, W. G. (2006). Impairment of adult male reproductive function in rats exposed to ethanol since puberty. *Reproductive Toxicology*, *22*, 599–605.
- Ono, A., Kawashima, K., Sekita, K., Hirose, A., Ogawa, Y., Saito, M., ... Kurokawa, Y. (1999). Toluene inhalation induced epididymal sperm dysfunction in rats. *Toxicology*, *139*, 193–205.
- Paoletti, P., Bellone, C., y Zhou, Q. (2013). NMDA receptor subunit diversity: impact on receptor properties, synaptic plasticity and disease. *Nature reviews. Neuroscience*, *14*(6), 383–400.
- Perrine, S. A., O'Leary-Moore, S. K., Galloway, M. P., Hannigan, J. H., y Bowen, S. E. (2011). Binge toluene exposure alters glutamate, glutamine and GABA in the adolescent rat brain as measured by proton magnetic resonance spectroscopy. *Drug and Alcohol Dependence*, *115*(1–2), 101–106.
- Perron, B. E., Howard, M. O., Maitra, S., y Vaughn, M. G. (2009). Prevalence, timing, and predictors of transitions from inhalant use to Inhalant Use Disorders. *Drug and Alcohol Dependence*, *100*(3), 277–284.
- Pfaus, J. G., Mendelson, S. D., y Phillips, A. G. (1990). A correlational and factor analysis of anticipatory and consummatory measures of sexual behavior in the male rat. *Psychoneuroendocrinology*, *15*(5–6), 329–340.
- Pfaus, J. G., y Pinel, P. J. (1989). Alcohol inhibits and disinhibits sexual behavior in the male rat. *Psychobiology*, *17*(2), 195–201.
- Pfaus, J. G., y Wilkins, M. F. (1995). A Novel Environment Disrupts Copulation in Sexually Naive But Not Experienced Male Rats : Reversal With Naloxone. *Neurobiology y Behavioral*, *57*(6), 1045–1049.
- Pfaus, J. G., Wilkins, M. F., DiPietro, N., Benibgui, M., Toledano, R., Rowe, A., y Couch, M. C. (2010). Inhibitory and disinhibitory effects of psychomotor stimulants and depressants on the sexual behavior of male and female rats. *Hormones and Behavior*, *58*(1), 163–176.
- Pinel, J. P. J., Pfaus, J. G., y Christensen, B. K. (1992). Contingent tolerance to the disruptive effects of alcohol on the copulatory behavior of male rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, *41*(1), 133–137.
- Pitchers, K. K., Balfour, M. E., Lehman, M. N., Richtand, N. M., Yu, L., y Coolen, L. M. (2010). Neuroplasticity in the Mesolimbic System Induced by Natural Reward and Subsequent Reward Abstinence. *Biological Psychiatry*, *67*(9), 872–879.
- Portillo, W., y Paredes, R. G. (2004). Sexual incentive motivation, olfactory preference,

- and activation of the vomeronasal projection pathway by sexually relevant cues in non-copulating and naive male rats. *Hormones and Behavior*, 46(3), 330–340.
- Powell, W. S., Dominguez, J. M., y Hull, E. M. (2003). An NMDA antagonist impairs copulation and the experience-induced enhancement of male sexual behavior in the rat. *Behavioral neuroscience*, 117(1), 69–75.
- Rakic, P., Bourgeois, J. P., y Goldman-Rakic, P. S. (1994). Synaptic development of the cerebral cortex: implications for learning, memory, and mental illness. En J. van Pelt, M. A. Corner, U. H.B.M., y F. H. Lopes da Silva (Eds.), *Progress in Brain Research: The Self-Organization Brain* (Vol. 102, pp. 227–243). Amsterdam: Elsevier.
- Riegel, A. C., y French, E. D. (2002). Abused inhalants and central reward pathways: electrophysiological and behavioral studies in the rat. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 965, 281–291.
- Rivera-García, M. T., López-Rubalcava, C., y Cruz, S. L. (2015). Preclinical characterization of toluene as a non-classical hallucinogen drug in rats: Participation of 5-HT, dopamine and glutamate systems. *Psychopharmacology*, 232, 3797–3808.
- Rodríguez-Manzo, G., y Canseco-Alba, A. (2014). A Role for Learning and Memory in the Expression of an Innate Behavior: The Case of Copulatory Behavior. En A. Meneses (Ed.), *Identification of Neural Markers Accompanying Memory* (pp. 135–147). London: Elsevier.
- Rodríguez-Manzo, G., y Fernández-Guasti, A. (1995). Sociedad Sexual. En *Temas selectos de neurociencias* (Velázquez, pp. 229–248). Universidad Autónoma Metropolitana.
- Rosenberg, N. L., Grigsby, J., Dreisbach, J., Busenbark, D., y Grigsby, P. (2002). Neuropsychologic Impairment and MRI Abnormalities Associated with Chronic Solvent Abuse. *Clinical Toxicology*, 40(1), 21–34.
- Sachs, B. D. (1996). Penile erection in response to remote cues from females: Albino rats severely impaired relative to pigmented strains. *Physiology and Behavior*, 60(3), 803–808.
- Sachs, B. D., y Meisel, R. L. (1979). Pubertal development of penile reflexes and copulation in male rats. *Psychoneuroendocrinology*, 4(4), 287–296.
- Santos, E., y Noggle, C. A. (2011). Synaptic Pruning. En S. Goldstein y J. A. Naglieri (Eds.), *Encyclopedia of Child Behavior and Development* (pp. 1464–1465). Springer.
- Schneider, M. (2013). Adolescence as a vulnerable period to alter rodent behavior. *Cell and Tissue Research*, 354, 99–106.
- Sengupta, P. (2013). The Laboratory Rat: Relating Its Age With Human's. *International Journal of Preventive Medicine*, 4(6), 624–630.
- Silva, M. A., Villaseñor, R. M. V., Márquez, S. R., González, M. H., Jaime, H. B., García, X. G., y Montiel, J. L. C. (2013). Testosterone Levels and Development of the Penile Spines and Testicular Tissue during the Postnatal Growth in Wistar Rats. *Advances in Sexual Medicine*, 3(3), 1–9.
- Södersten, P., Damassa, D. A., y Smith, E. R. (1977). Sexual behavior in developing male rats. *Hormones and Behavior*, 8(3), 320–341.

- Spear, L. (2000). The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 24(4), 417–463.
- Suzuki, T., Kashimura, S., y Umetsu, K. (1983). Thinner abuse and aspermia. *Medicine, Science and the Law*, 23(3), 199–202.
- Svensson, B.-G., Nise, G., Erfurth, E.-M., Nilsson, A., y Skerfving, S. (1992). Hormone status in occupational toluene exposure. *American Journal of Industrial Medicine*, 22(1), 99–107.
- Svensson, B. G., Nise, G., Erfurth, E. M., y Olsson, H. (1992). Neuroendocrine effects in printing workers exposed to toluene. *British journal of industrial medicine*, 49(6), 402–8.
- van Huijstee, A. N., Mansvelter, H. D., y Luscher, C. (2015). Glutamatergic synaptic plasticity in the mesocorticolimbic system in addiction. *Cellular Neuroscience*. <http://doi.org/10.3389/fncel.2014.00466>
- Vezzani, A., Serafini, R., Stasi, M. A., Caccia, S., Conti, I., Tridico, R. V., y Samanin, R. (1989). Kinetics of MK-801 and its effect on quinolinic acid-induced seizures and neurotoxicity in rats. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 249(1), 278–83.
- Vigdorchik, A. V., Parrish, B. P., Lagoda, G. a., McHenry, J. a., y Hull, E. M. (2012). An NMDA antagonist in the MPOA impairs copulation and stimulus sensitization in male rats. *Behavioral Neuroscience*, 126(1), 186–195.
- Villatoro, J. A., Mendoza, M. A., Moreno, M., Oliva, N., Fregoso, D., Bustos, M., ... Medina-Mora, M. E. (2014). Tendencias del uso de drogas en la Ciudad de México: Encuesta de Estudiantes del 2009. *Salud Mental*, 37(5), 423–435.
- Wegener, N., Nagel, J., Gross, R., Chambon, C., Greco, S., Pietraszek, M., ... Danysz, W. (2011). Evaluation of brain pharmacokinetics of (+)MK-801 in relation to behaviour. *Neuroscience Letters*, 503(1), 68–72.
- Williams, J. M., Stafford, D., y Steketee, J. D. (2005). Effects of repeated inhalation of toluene on ionotropic GABA A and glutamate receptor subunit levels in rat brain. *Neurochemistry International*, 46(1), 1–10.
- Wilson, C. A., y Koenig, J. I. (2014). Social interaction and social withdrawal in rodents as readouts for investigating the negative symptoms of schizophrenia. *European Neuropsychopharmacology*, 24(5), 759–773.
- Woodson, J. C. (2002). Including “learned sexuality” in the organization of sexual behavior. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 26(1), 69–80.
- Yücel, M., Takagi, M., Walterfang, M., y Lubman, D. I. (2008). Toluene misuse and long-term harms: A systematic review of the neuropsychological and neuroimaging literature. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 32(5), 910–926.
- Zanato, V. F., Martins, M. P., Anselmo-Franci, J. A., Petenusci, S. O., y Lamano-Carvalho, T. L. (1994). Sexual development of male Wistar rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 27(5), 1273–1280.

ANEXO

Efecto de la exposición aguda a tolueno sobre la cópula de ratas macho adultas

La figura 18 muestra las curvas concentración-respuesta a tolueno en ratas macho adultas, sexualmente expertas. Todos los animales expresaron el patrón copulatorio completo. La concentración de 6000 ppm de tolueno aumentó significativamente la latencia de intromisión con respecto al grupo control, sin afectar el resto de los parámetros, mientras que las concentraciones de 500 y 2000 ppm no modificaron ninguno de los parámetros. Con base en estos datos se eligió la concentración de 6000 ppm.

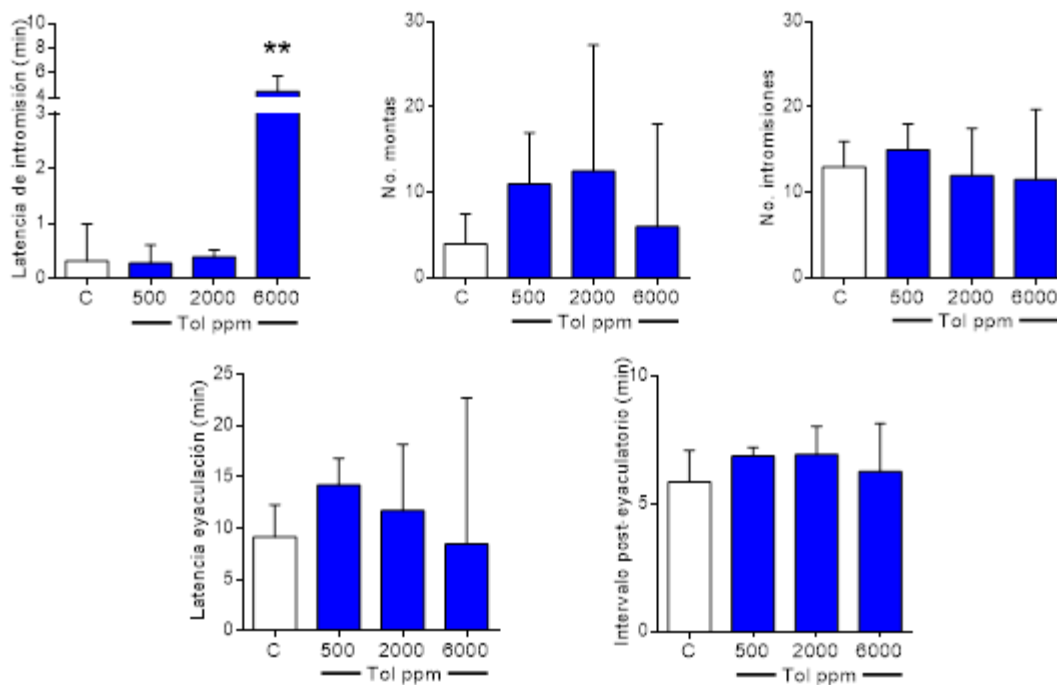


Figura 18. Curva concentración-respuesta en ratas macho adultas (83 PN), sexualmente expertas. Parámetros específicos de la cópula tras una exposición aguda a tolueno (Tol) a concentraciones de 500, 2000 o 6000 ppm o aire (control, C). Las latencias se representan en media \pm error estándar y el número de montas e intromisiones en mediana \pm rango intercuartil. ANOVA de Kruskal-Wallis seguido de Dunn $**p < 0.01$ Tol vs. C; Tol n=8, control n=10.

Efecto de la exposición aguda a ketamina sobre la cópula de ratas macho adultas

La figura 19 muestra las curvas dosis-respuesta a ketamina en ratas macho adultas, sexualmente expertas. Todos los animales expresaron el patrón copulatorio completo. Se observa que la dosis de 3 mg/kg de ketamina disminuyó la latencia de eyaculación respecto al control, más no tuvieron efecto sobre los otros parámetros. Las dosis de 0.1, 0.3, 1 y 10 mg/kg no modificaron ninguno de los parámetros en comparación con el vehículo. La dosis más alta (10 mg/kg) redujo significativamente el número de cruces en la prueba de actividad ambulatoria espontánea (tabla 2). Al no encontrar efectos negativos sobre la cópula en respuesta a la ketamina, se decidió escoger una dosis baja. Debido a que la dosis de 0.1 mg/kg de ketamina, mostró una gran dispersión de los datos en la latencia de intromisión, se eligió la siguiente dosis (0.3 mg/kg).

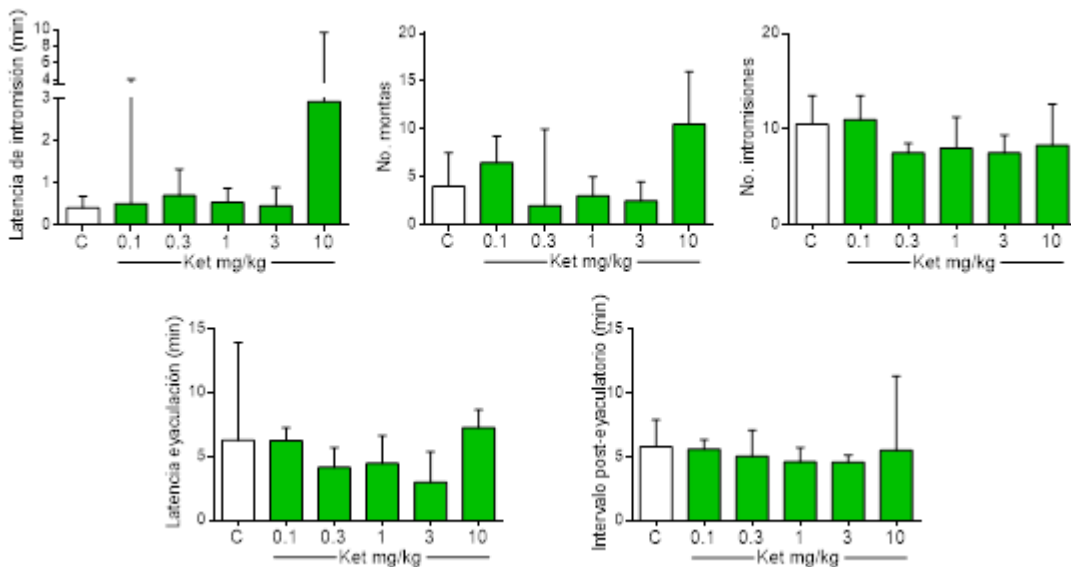


Figura 19. Curva dosis-respuesta en ratas macho adultas (83 PN), sexualmente expertas. Parámetros específicos de la cópula tras una exposición aguda ketamina (Ket) a las dosis de 0.1, 0.3, 1, 3 o 10 mg/kg o vehículo (control, C). Las latencias se representan en media \pm error estándar y el número de montas e intromisiones en mediana \pm rango intercuartil. ANOVA de Kruskal-Wallis seguido de Dunn * $p < 0.05$ Ket vs. C; $n = 6$ para cada grupo.

Efecto de la exposición aguda a MK-801 sobre la cópula de ratas macho adultas

La figura 20 muestra las curvas dosis-respuesta a MK-801 en ratas macho adultas, sexualmente expertas. Todos los animales incluidos en cada grupo expresaron el patrón copulatorio completo. Las dosis de 0.03 y 0.1 mg/kg de MK-801 aumentaron la latencia de intromisión, mientras que la dosis de 0.01 mg/kg no modificó ninguno de los parámetros. Se excluyeron a 5 ratas del grupo con la dosis más alta (0.1 mg/kg) por no completar el patrón copulatorio en los 30 min de duración de la prueba. La tabla 2 muestra que las diferentes dosis de MK-801 no alteraron la actividad ambulatoria espontánea; sin embargo, durante la sesión de cópula se hicieron las siguientes observaciones con la dosis de 0.1 mg/kg: dificultad para ejecutar las montas, marcha en círculos y dificultad para permanecer erguidos. Con base en estos resultados, se eligió la dosis de 0.03 mg/kg.

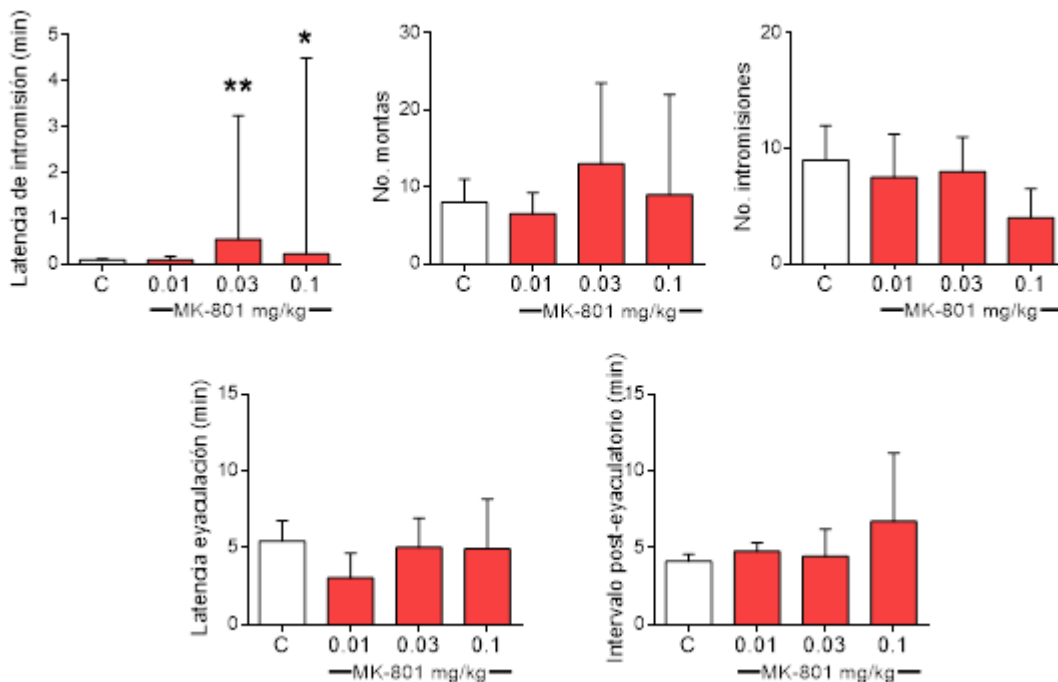


Figura 20. Curva dosis-respuesta en ratas macho adultas (83 PN), sexualmente expertas. Parámetros específicos de la cópula tras una administración aguda a MK-801 a dosis 0.01, 0.03 o 0.1 mg/kg o vehículo (control, C). Las latencias se representan en media \pm error estándar y el número de montas e intromisiones en mediana \pm rango intercuartil. ANOVA de Kruskal-Wallis seguido de Dunn ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$ MK-801 vs. C; $n = 8$ para cada grupo.

Efectos de ketamina y MK-801 sobre la actividad ambulatoria espontánea

La tabla 2 muestra los resultados de las diferentes dosis de ketamina y MK-801 sobre la prueba de actividad ambulatoria de ratas macho adultas. Se encontró que sólo la dosis de 10 mg/kg de ketamina tiene efectos negativos.

Tabla 2. Efectos de las diferentes dosis de ketamina y MK-801 sobre la actividad ambulatoria espontánea de ratas adultas

Ketamina	No. de cruces	MK-801	No. de cruces
Control	40 [37 – 50]	Control	45 [35.5 - 61.75]
0.1	49.5 [31 – 58.5]	0.01	40.5 [30 – 43.75]
0.3	48.5 [34.75 – 50.5]	0.03	39 [29 – 44.5]
1	40.5 [33 – 46.25]	0.1	54 [35 – 66.5]
3	46.5 [36.75 – 58.75]		
10	21.5 [15.75 – 27.75] *		

La evaluación se realizó al día 83 PN. El número de cruces de un cuadrante a otro se representan en mediana [rango intercuartil]. ANOVA de Kruskal Wallis seguida de Dunn * $p < 0.05$; ketamina $n=6$ para cada grupo, MK-801 $n=8$ para cada grupo.