

0038/
11

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACIÓN

CARACTERIZACIÓN ANATOMO-FUNCIONAL
DEL REFLEJO EYACULATORIO DE LA RATA
MACHO: ANÁLISIS DEL EFECTO
FARMACOLÓGICO DE YOHIMBINA
Y 8 - OH - DPAT

292530

TESIS

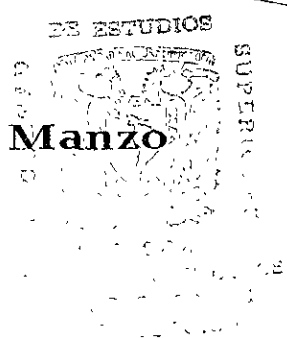
Que para Obtener el Grado de:
DOCTOR EN CIENCIAS
(BIOLOGIA)

PRESENTA:

M. en C. Miguel Carro Juárez

Directora de Tesis:

Dra. Gabriela Rodríguez Manzo



MEXICO D. F.

ABRIL DE 2001



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DEDICO ESTA TESIS

A MI FAMILIA

DELFINO, MARGARITA, JACOB, MARIANELA, DELFINO, JORGE, OSCAR
EDUARDO

Y

A MI MAESTRA

DRA. GABRIELA RODRIGUEZ MANZO

AGRADECIMIENTOS

A los miembros de mi Comité de Evaluación Dra. Gabriela Morali de la Brena, Dra. María Esther Cruz Beltran, Dra. Leticia Morales Ledezma, Dra. María Elena Ayala, Dr. Alonso Fernández Guasti y Dr. Alejandro Domínguez, por sus atinadas y valiosas sugerencias y comentarios sobre esta tesis.

A mis compañeros y amigos:

Lucía, Erika, Carolina, Dr. Ofir, Margarita Virginia, Maribel, Elizabeth, Vianey, Efrén, Rafael, y a las flacas y los flacos por su apoyo, amistad y gran compañerismo.

Especialmente a la Dra. Silvia Cruz y a todos los integrantes de su laboratorio por su entusiasta colaboración y por el apoyo brindado durante la realización de esta tesis.

A los Sres. Victor, Isai y Abraham por su importante ayuda en el trabajo de laboratorio.

A los coordinadores del programa de Doctorado en Biología de la FES-Zaragoza, por su apoyo e interés en la formación de recursos humanos.

El trabajo experimental de esta tesis se realizo bajo la tutoría de la Dra. Gabriela Rodríguez Manzo, en las instalaciones del Departamento de Farmacobiología del CINVESTAV-IPN y del Instituto Nacional de Psiquiatría.

INDICE

| | |
|--|-----|
| RESUMEN | i |
| SUMMARY | iii |
| CAPITULO 1 CONTROL FISIOLÓGICO DE LA EYACULACION | 1 |
| CAPITULO 2 MODELOS EXPERIMENTALES PARA EL ESTUDIO DE LA EYACULACION EN EL MAMIFERO | 9 |
| A) CONDUCTA COPULATORIA | 9 |
| B) REFLEJOS SEXUALES EX-COPULA | 11 |
| C) REFLEJO COITAL | 12 |
| REGULACION DE REFLEJOS SEXUALES POR LOS SISTEMAS SEROTONERGICO Y NORADRENERGICO | 16 |
| PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA | 24 |
| HIPOTESIS | 26 |
| OBJETIVOS: GENERAL | 26 |
| ESPECIFICOS | 26 |
| RESULTADOS | 27 |
| CAPITULO 3 SENSORY AND MOTOR ASPECTS OF THE COITAL REFLEX IN SPINAL MALE RATS | 28 |
| CAPITULO 4 EXHAUSTION OF THE COITAL REFLEX IN SPINAL MALE RATS IS REVERSED BY THE SEROTONERGIC AGONIST 8-OH-DPAT | 29 |
| CAPITULO 5 LA FATIGA DEL REFLEJO COITAL EN LA RATA MACHO ES REVERTIDA POR YOHIMBINA | 30 |
| DISCUSION GENERAL | 48 |
| CONCLUSIONES | 65 |
| LITERATURA CITADA | 67 |

RESUMEN

En la presente tesis se realizó una caracterización anatómo-funcional del reflejo coital y se evaluaron los efectos farmacológicos de la 8-OH-DPAT y de la yohimbina sobre la fatiga del patrón motor genital que subyace al reflejo coital.

En la primera parte de la tesis se evaluaron los aspectos motores y sensoriales del reflejo coital a través del registro de la actividad electromiográfica en cada uno de los músculos genitales, en respuesta a la estimulación mecánica ya fuera de la uretra, del pene o de la piel escrotal. Además, la posibilidad de que un mecanismo facilitador de esas respuestas musculares estuviera localizado en la médula espinal fue evaluada eliminando las vías aferentes genitales. Los resultados muestran que la respuesta refleja coital puede ser evocada por estimulación mecánica aplicada tanto a la uretra, como al pene o a la piel escrotal. Dicha respuesta puede ser registrada en cada uno de los músculos genitales. En animales deafferentados, el patrón motor genital se presenta de manera espontánea, repetidamente y con las mismas características, en cuanto a frecuencia, duración y número de descargas, que los patrones motores obtenidos reflejamente. Sin embargo, estos animales presentaron un número de patrones motores cuatro veces mayor al obtenido por activación refleja. Esto debido a que la estimulación repetida de la uretra (en promedio siete veces), el pene y la piel escrotal produjo la fatiga del reflejo coital. Las respuestas espontáneas no muestran el fenómeno de fatiga.

En la segunda parte de la tesis se describieron las características del desarrollo de la fatiga del reflejo coital y se demostró que el patrón motor genital se presenta

receptor 5-HT 1A, 8-OH-DPAT, era capaz de revertir dicha fatiga. La administración sistémica del antagonista serotoninérgico para el receptor 5-HT 1A, WAY 100635, previa a la aplicación de 8-OH-DPAT bloqueó el efecto de esta última, sugiriendo que el efecto de la 8-OH-DPAT es ejercido sobre los receptores serotoninérgicos 5-HT1A.

En la última parte de la tesis, se evaluó el efecto de la aplicación sistémica de yohimbina, un antagonista adrenérgico α_2 , sobre el reflejo coital fatigado encontrándose que provocaba la expresión inmediata de un patrón motor similar al observado durante el reflejo coital pero en ausencia de estimulación mecánica a estructuras genitales. La aplicación sistémica del agonista adrenérgico α_2 clonidina, previo a la yohimbina, bloqueaba la respuesta inducida por esta última, sugiriendo que el efecto de la yohimbina fue ejercido sobre los adrenoceptores α_2 .

Así, con los resultados obtenidos en esta tesis podemos concluir: a) que el patrón motor genital, componente principal del reflejo coital, puede ser evocado por estimulación a distintas estructuras genitales y ser registrado en toda la musculatura genital; b) que dicho patrón motor se presenta de manera espontánea en animales deaferentados; c) que el reflejo coital se fatiga cuando es evocado repetidamente; d) que dicha fatiga puede ser revertida farmacológicamente por el agonista para el receptor serotoninérgico 5-HT1A, 8-OH-DPAT y por el antagonista adrenérgico α_2 , yohimbina, y e) que el desarrollo de la saciedad sexual pudiera tener un componente espinal.

Los presentes resultados se discuten en el contexto de los componentes consumatorios de la conducta sexual masculina.

SUMMARY

In the present thesis, the anatomo-functional characterization of the coital reflex and the pharmacological effect of the systemic administration of the 8-OH-DPAT and yohimbine upon the genital motor pattern underlying the coital response are described.

In the first part of the thesis, the sensory and motor features of the coital reflex in anaesthetized and spinal-cord transected male rats were evaluated by recording the electromyographic activity in all genital muscles in response to mechanical stimulation of the urethra, penis or scrotal skin. In addition, the possibility that a facilitator mechanism of these muscular responses were located in the spinal cord was evaluated by removing the genital afferents. Results show that the coital reflex can be evoked by mechanical stimulation of the urethra, penis and scrotal skin and that response can be recorded in every genital muscle. In deafferentated animals the genital motor pattern appears spontaneously, repeatedly and show some features as those exhibited by the reflexively evoked responses. However, the number of spontaneous motor patterns exhibited was fourthfold than the reflexively responses. This difference was due to the fact that repeated stimulation (7 times in average) provoked fatigue of coital reflex. Spontaneous responses did not show the exhaustion phenomenon.

In the second part of the thesis the features of the development of coital reflex exhaustion were described and the ability of the 5-HT_{1A} serotonergic agonist 8-OH-DPAT to reverse such exhaustion was established. Systemic administration of the 5HT_{1A} serotonergic antagonist, WAY 100635, previous to the application of 8-OH-DPAT prevented the coital reflex exhaustion induced by the serotonergic agonist.

suggesting that the effect of 8-OH-DPAT was exerted upon 5-HT 1A receptors.

In the third part of the thesis the effect of the systemic administration of yohimbine, an α_2 adrenergic antagonist, upon the exhaustion of the coital reflex was evaluated. It was found that this compound induces the immediate expression of a motor pattern similar to that observed in the coital reflex, but in absence of genital stimulation. Systemic application of clonidine, an α_2 adrenergic agonist, previous to yohimbine administration precluded the appearance of the yohimbine-induced response, suggesting that the effect of yohimbine was exerted upon α_2 adrenoceptors.

The results obtained in the present thesis allow us to conclude that: a) the genital motor pattern, main component of the coital reflex, can be evoked by stimulation of different genital structures and can be recorded in every genital muscle; b) this motor pattern appears spontaneously in deafferentated animals; c) the genital motor pattern can be exhausted when repeatedly evoked; d) such exhaustion can be pharmacologically reversed by the 5-HT_{1A} agonist 8-OH-DPAT and the α_2 adrenoceptor antagonist, yohimbine, e) the development of sexual satiation might possess a spinal component. Results are discussed in the context of the consummatory components of male rat sexual behavior.

CAPITULO 1

INTRODUCCION

Control Fisiológico de la Eyaculación

La eyaculación es una de las respuestas reflejas involucradas en la función sexual masculina. Existen una serie de estudios que describen los reflejos sexuales asociados a la función reproductiva en machos de mamíferos de diferentes especies tales como la rata, el gato y, en menor proporción, en el hombre. La rata ha mostrado ser el modelo más adecuado para estudiar las funciones sexuales masculinas de erección, emisión y eyección debido a la similitud con el humano en cuanto a los mecanismos de control (Anderson y Wagner, 1995). La erección se define como la rigidez o tumescencia peneana. En la mayoría de las especies, la erección es un evento neurovascular complejo en la que participan numerosos tejidos, tales como músculo liso de las arterias y de los cuerpos cavernosos y esponjoso, así como la túnica albugínea (Christ, 1999). La condición normal del pene es la flacidez que en algunas especies como el humano es el estado en el que permanece aproximadamente 23 de las 24 horas del día. El pene se torna erecto de manera espontánea, durante la etapa del sueño que está acompañada de movimientos oculares rápidos o durante la estimulación sexual (Christ, 1999). La erección propiamente dicha se debe a las contracciones de la musculatura genital tanto lisa como estriada que conducen a una tumescencia de los cuerpos cavernosos y esponjoso del pene (Anderson y Wagner, 1995).

Las otras dos funciones sexuales, la emisión y la eyección, constituyen en conjunto el denominado proceso eyaculatorio. La emisión se refiere a la deposición, dentro de la uretra posterior, de los fluidos seminales provenientes de los vasos deferentes, vesículas seminales y glándula

prostática. La eyeción en cambio, se refiere al paso del fluido seminal a través de la uretra y a su expulsión desde el meato uretral (Benson, 1994). Estas respuestas fisiológicas se expresan normalmente durante el coito y están íntimamente relacionadas entre sí. Sin embargo, la emisión y la eyaculación son dos eventos motores independientes. Ambos fenómenos son respuestas reflejas mediados por la médula espinal que pueden presentarse en ausencia de erección y viceversa. La estimulación genital desencadena la eyaculación. La información aferente genital viaja a través de los nervios somáticos de los plexos pélvico y sacro, los cuales conducen esta información directamente hacia la médula espinal que integra dicha información para enviar los estímulos que provocarán la descarga de semen y su posterior expulsión. Esta descarga se produce por medio de contracciones rítmicas, vigorosas, e involuntarias que conducen las secreciones del epidídimo, ámpula, vesículas seminales, próstata y glándulas parauretrales dentro de la uretra (ver Newman y col., 1982, para revisión). Tales movimientos son el resultado de la coordinación funcional de los órganos sexuales, glándulas accesorias, músculos perineales y el pene. El mecanismo por el cual se produce la emisión está pobremente entendido, quizá debido a la breve duración del evento. La emisión depende de la integridad tanto de las glándulas sexuales accesorias como del cuello de la vejiga. Es un reflejo espinal, que se presenta en respuesta a la estimulación genital, pero que está bajo considerable control cerebral (Newman y col., 1982).

La eyaculación depende básicamente de la musculatura perineal estriada. Se ha propuesto que durante la eyaculación, la contracción del esfínter proximal y la relajación intermitente del esfínter distal, permiten que el

semen entre a la uretra bulbar y que a través de la compresión de la uretra, dada por tres o cuatro contracciones de los músculos bulboesponjosos, se expulse el semen (Newman y col., 1982). Esta acción es reforzada por contracciones simultáneas del esfínter vesical distal y los músculos del piso pélvico. La eyección seminal es una respuesta refleja desencadenada por la entrada del semen a la uretra bulbar.

La eyaculación ha sido estudiada en animales de laboratorio principalmente desde el punto de vista conductual y endocrinológico, este último con el objeto de establecer la participación de hormonas esteroides en su regulación. Sin embargo, poco se conoce acerca de los mecanismos neurales periféricos que controlan esta respuesta genital. Diversos estudios fisiológicos han mostrado que es difícil inducir la expresión de los reflejos sexuales en animales anestesiados, dada la incapacidad de éstos para ejecutar completamente los patrones de movimiento. Por otro lado, en animales en libre movimiento, es difícil analizar los eventos genitales regulados por mecanismos nerviosos, tanto autonómicos como somáticos, involucrados en la eyaculación.

Existen estudios en diferentes especies en los que se consideran a la eyaculación como un evento puramente mecánico, por lo que se analizan únicamente el proceso de expulsión de semen a través del conducto uretral (eyección) (Benson, 1994). Por esto, la fase de eyección (salida del semen por el meato uretral) ha sido considerada como el único indicador del evento eyaculatorio. En algunas especies de mamíferos tales como el hombre y la rata, el uso de técnicas electrofisiológicas ha permitido describir que la eyección es producida por las contracciones coordinadas de los músculos bulboesponjosos e isquiocavernosos, apoyadas por la contracción de los esfínteres anal y externo de la uretra

En otras especies, como el perro, la actividad refleja producida por electroeyaculación, se ha registrado en los músculos del piso pélvico y los esfínteres (Shafik, 1997). Estos estudios revelan que existe una activación refleja de casi toda la musculatura pélvica y esfintérica durante el evento eyaculatorio.

En el hombre, también se presenta actividad refleja semejante a la registrada en estas especies de laboratorio. Así, mediante masturbación se obtiene la activación refleja de los músculos del esfínter externo de la uretra y del esfínter anal externo, del elevador del ano, así como de los músculos bulbocavernosos e isquiocavernosos (Kollberg y col., 1972; Gerstenberg y col., 1993).

Así, se puede concluir que las respuestas motoras asociadas a la eyaculación en diversas especies de mamíferos presentan patrones similares (Fig. 2).

Las respuestas motoras descritas están asociadas a eventos hemodinámicos relacionados con la erección, tales como el incremento en la presión intracavernosa durante el evento eyaculatorio (Meisel y Sachs, 1994). Por lo tanto, las respuestas musculares asociadas a la eyaculación son complejas, ya que involucran tanto actividad autonómica en las respuestas vasculares, como actividad somática en la respuesta muscular estriada.

Si bien, la actividad de los músculos perineales durante la eyaculación ha sido estudiada por diferentes grupos de investigadores, el papel que se les ha asignado varía de acuerdo al autor. En la rata sólo se tiene identificada la participación de los músculos bulboesponjosos, isquiocavernosos y elevador del ano durante este proceso (Holmes y col., 1991; Holmes y Sachs, 1994; Schmith and Schmith, 1983). Estas respuestas se encuentran localizadas en la base

del pene (McKenna y Nadelhaft, 1987). Sin embargo, se sabe que el tracto genital de la rata macho se encuentra rodeado de otros músculos genitales igualmente importantes como es el caso del esfínter externo de la uretra y el músculo uretral. Estos últimos músculos se encuentran localizados rodeando la uretra en su porción más proximal (Popesko y col., 1994). Los músculos que se han estudiado durante la eyaculación están localizados en la base del pene y los demás músculos genitales localizados dentro de la cavidad no han sido analizados. Por ello es necesario profundizar en su estudio y en el de otros músculos asociados al tracto genital para establecer la participación de cada uno de ellos en la eyaculación y otros eventos reproductivos.

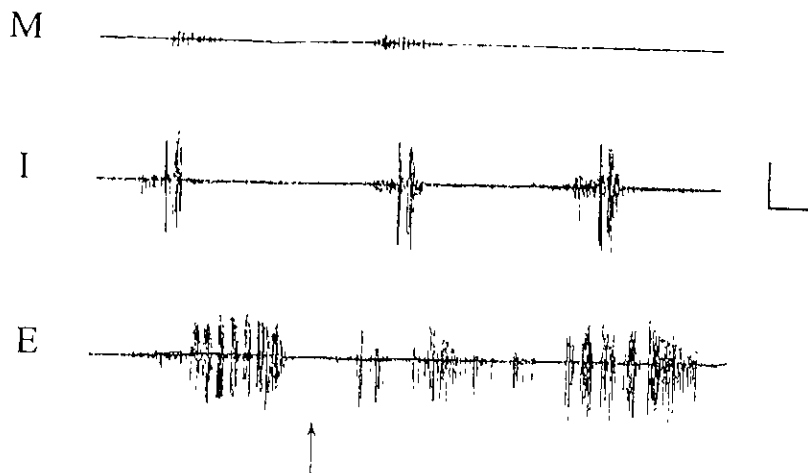


Fig. 1. Actividad electromiográfica de los músculos genitales bulboesponjosos registrada durante la copula en la rata macho. Modificada de Holmes y col., 1991. K: penetración; L: eyaculación; E: salida de semen. Se usó un canal de entrada de cada trazo de 100 μ V, 500 Hz.

El tracto uretral por donde fluye el eyaculado está compuesto de secciones que se encuentran tanto dentro como fuera de la cavidad pélvica y están rodeadas por diferentes músculos estriados. Este arreglo anatómico hace suponer que la eyaculación mantiene una dinámica que depende en gran medida de la musculatura estriada en al menos dos eventos: uno que se desarrolla dentro de la cavidad (emisión) y el otro fuera de ésta (eyección).

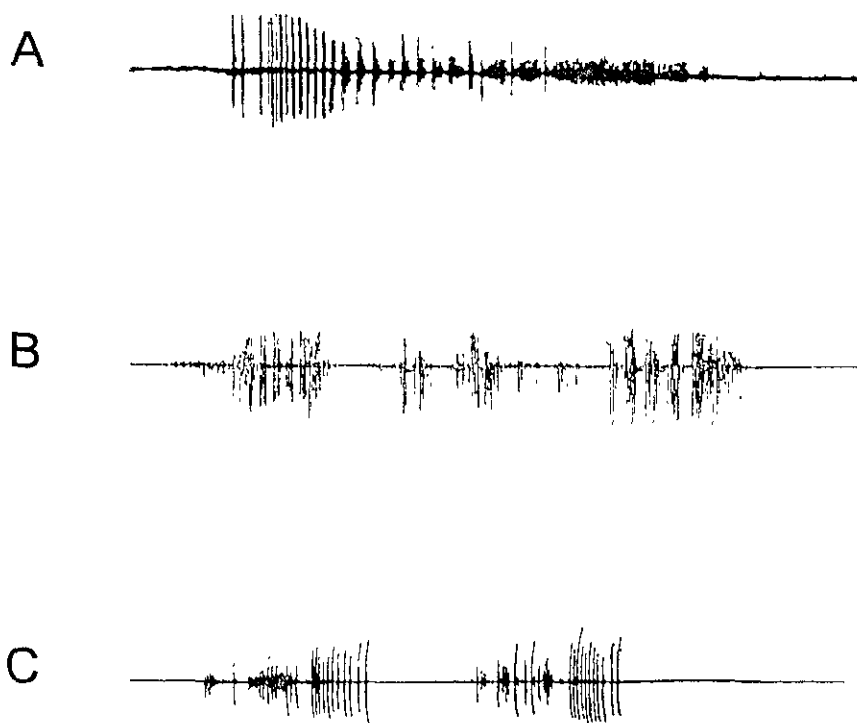


Fig. 2. Actividad electromiográfica registrada en los músculos bulbospongiosos durante la eyaculación, producida por masturbación en el hombre A), durante la eyaculación en la rata copulando B), y en la rata anestesiada en respuesta a la estimulación uretral en el modo 2 del reflejo cefalí (C). Modificado de: Gernsbein y col., 1992 (A), Hojman y col., 1991 (B) y Gernsbein y col., 1991 (C).

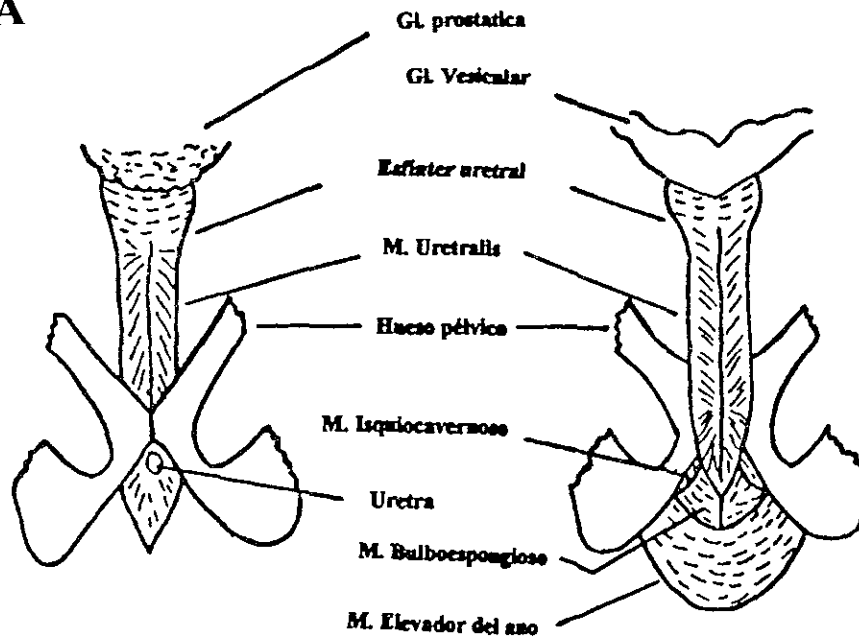
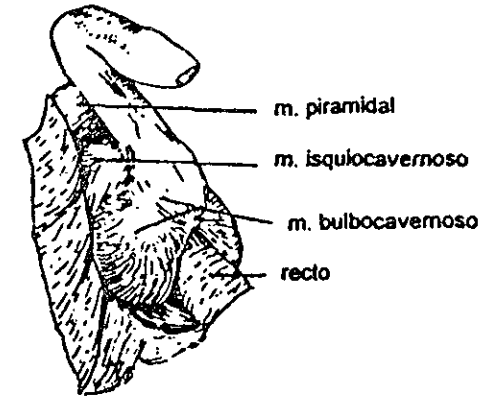
A**Vista ventral****Vista dorsal****B**

Fig 3. Organización anatómica de los músculos estriados asociados al tracto genital en la rata macho. En A, se esquematiza la musculatura estriada genital localizada dentro de la cavidad pélvica. En B, se muestra un esquema que muestra la posición de los músculos genitales localizados fuera de la cavidad pélvica (perineales).

CAPITULO 2

MODELOS EXPERIMENTALES PARA EL ESTUDIO DE LA EYACULACION EN EL MAMIFERO

A) Conducta Copulatoria

Uno de los modelos experimentales más utilizados para el estudio de la eyaculación es el análisis de la conducta copulatoria. Con esta aproximación se ha estudiado la regulación del proceso eyaculatorio, básicamente en roedores, empleando lesiones específicas a zonas discretas del cerebro, estimulación eléctrica directa a esas áreas cerebrales, manipulaciones hormonales o tratamiento con drogas específicas para distintos sistemas de neurotransmisión (ver Meisel y Sachs, 1994, para revisión). El análisis de la conducta sexual ofrece la ventaja de permitir el examen de la fisiología de la eyaculación en el contexto normal de la conducta sexual. Sin embargo, tiene la limitante de dificultar el análisis del evento eyaculatorio mismo que en muchas ocasiones es interpretativo y la mayoría de las veces difícilmente mesurable.

La conducta copulatoria en la rata macho es estereotipada. Consiste de una serie intermitente de montas sin intromisión alternadas con montas con intromisión, en las cuales el macho inserta brevemente el pene dentro de la vagina de la hembra. Durante la última intromisión de la serie, el macho eyacula. Sigue un periodo breve de refractoriedad a la estimulación sexual, después del cual el macho puede reiniciar la cópula. En una hora de cópula, una rata macho es capaz de eyacular varias veces (Meisel y Sachs, 1994).

Entre las respuestas conductuales que presenta una rata macho durante la cópula está la monta a la hembra, durante la cual el macho trata de insertar el pene en la vagina por

medio de movimientos pélvicos. Si no ocurre la inserción penéana intravaginal, el acto es referido como monta (Sachs y Barfield, 1976). Después de esta, el macho desmonta a la hembra y usualmente se acicala los genitales. La intromisión consiste de una monta en la cual el macho logra la inserción penéana intravaginal. Se puede identificar por la presentación de un embite pélvico largo y profundo y una retirada posterior rápida del macho respecto de la hembra (Sachs y Barfield, 1976). Una vez que ocurre la intromisión, el macho se acicala el área genital invariablemente. Después de un número variable de intromisiones, el macho monta otra vez a la hembra, logra una inserción vaginal (intromisión) y eyacula dentro de la vagina. La conducta eyaculatoria es fácil de identificar pues se caracteriza por un embite pélvico más profundo y de mayor duración que el de una intromisión y una elevación de las patas anteriores acompañada en la mayoría de las ocasiones de una caída lateral (Sachs y Barfield, 1976). Debemos hacer la distinción entre eyaculación y patrón conductual eyaculatorio. Durante el registro conductual se asume que ha ocurrido la eyaculación cuando se presenta el patrón motor conductual asociado a dicho evento. Sin embargo, para decir que ocurrió la eyaculación se requiere además de la presentación del patrón conductual eyaculatorio, de verificar la presencia de un tapón seminal de la vagina de la hembra (Meisel y Sachs, 1994).

La descripción del patrón copulatorio de la rata enmascara numerosos procesos complejos que lo acompañan. Por ejemplo, al estudiar la conducta, únicamente podemos observar el despliegue de los aspectos no genitales de la eyaculación dejando de lado los eventos genitales asociados con la erección y la eyaculación misma.

El análisis de la conducta copulatoria ha permitido la obtención de datos importantes sobre su control neural. Así, diversos estudios han descrito la participación de estructuras neurales superiores tales como el bulbo olfatorio, la amígdala, el área preóptica media o el núcleo paragigantocelularis en el control de la conducta sexual masculina. Dichos estudios han demostrado que estas estructuras regulan la expresión de la conducta sexual, ya que su lesión o estimulación alteran la cópula (Marson y McKenna, 1992; Meisel y Sachs, 1994; Liu y Sachs, 1999). No obstante, estos estudios no describen los efectos de dichas manipulaciones sobre los aspectos genitales de la eyaculación, sino únicamente sobre algunas respuestas reflejas de erección y sobre algunos parámetros conductuales (Meisel y Sachs, 1994, para revisión).

B) Reflejos Sexuales Ex-cópula

Otro modelo para el estudio de la función sexual del macho involucra el análisis de reflejos sexuales fuera del contexto de la cópula (ex-cópula). Los reflejos sexuales ex-cópula fueron descritos por Hart y colaboradores en la década de los sesenta en la rata y se registran en animales no anestesiados. En este modelo, los animales son colocados en posición supina dentro de un contenedor que les restringe el movimiento. Los reflejos ex-cópula se producen retrayendo manualmente la vaina del pene y sosteniéndola hasta que se producen erecciones reflejas que mantienen una cierta frecuencia de expresión (Hart y Kitchel, 1966; Hart; 1967; 1968). Los reflejos sexuales que son producidos de esta forma, consisten de erecciones del cuerpo peneano (tumescencia del glande del pene, como resultado del frenado sanguíneo del cuerpo cavernoso) y antero:ercciones del glande

(Hart y Kitchell, 1966). La similitud en la forma y las bases mecánicas entre las respuestas en pruebas ex-cópula y aquellas observadas durante la cópula ha sido establecida por técnicas conductuales y electromiográficas. Sin embargo, la relación temporal de esta respuesta, no corresponde a la que se presenta durante la conducta sexual. Usando el modelo de reflejos ex-cópula se ha demostrado que la sección espinal facilita su expresión, sugiriendo la existencia de una influencia inhibitoria tónica cerebral (Sachs y Garinello, 1980; Sachs y Bitran, 1990). Marson y col., (1992) observaron que en animales a los que se les lesionaba el núcleo paragigantocellularis, las respuestas reflejas ex-cópula se reducían significativamente, principalmente las relacionadas con la erección del glande. Propusieron que la inhibición tónica descendente sobre los reflejos sexuales podría ser ejercida parcialmente por este núcleo del tallo cerebral. Aunque este modelo permite la visualización de algunos movimientos peneanos, quizá presentes durante la cópula, tiene limitantes, ya que no es claro si esta respuesta puede participar en el proceso fisiológico de erección peneana. Tampoco es claro si en este modelo se puede estudiar las respuestas eréctiles y de eyaculación espontáneas o reflejas (Meisel y Sachs, 1994).

C) Reflejo Coital

Para el estudio de la función sexual en la rata se desarrolló un modelo llamado reflejo coital en machos anestesiados con uretano y con sección de la médula espinal. En esta preparación se ha evidenciado parcialmente cómo se produce una respuesta eyaculatoria semejante a la obtenida en machos conduciéndose libremente (Chung y col., 1988; McKenna y col., 1991). El reflejo coital (Fig. 4) consiste de

contracciones clónicas de los músculos perineales (bulboesponjosos e isquiocavernosos), disparo autonómico rítmico, erecciones peneanas fásicas, dorsiflexión del cuerpo del pene, ensanchamiento y enrojecimiento del glande y expulsión del contenido uretral (McKenna y col., 1991). Esta respuesta muscular fue denominada reflejo uretrogenital, término que describe las vías reflejas involucradas, es decir, el sitio de estimulación, y los órganos responsivos (McKenna y col., 1991). En este modelo, se registra actividad electromiográfica en los músculos bulboesponjosos e isquiocavernosos en respuesta a la estimulación de la uretra pélvica (Fig. 4). Dicho electromiograma, es muy semejante al registrado durante la eyaculación en humanos (Fig. 2) y perros (Holmes y col., 1991; Gerstenberg y col., 1993; Shafik, 1997). Este modelo, es hasta la fecha el único que ha mostrado ser útil para el estudio detallado de las respuestas neuromusculares de la eyaculación. Por otro lado, el estudio de la actividad refleja en la musculatura perineal observada en este modelo, ha permitido establecer el papel que juegan los centros superiores en el control de los reflejos sexuales asociados a la eyaculación e identificar los sistemas de neurotransmisión que participan en su control. Usando el modelo del reflejo coital, se ha podido establecer el papel que juegan los centros superiores en el control de los reflejos sexuales asociados a la eyaculación. Así, se ha demostrado que el núcleo paragigantocelularis, localizado en el tallo cerebral, regula la expresión de los reflejos sexuales ejerciendo una inhibición descendente continua (Marson y col., 1992). En animales sin espinalizar y con lesión química del núcleo paraqigantocellularis (Fig. 5), el reflejo coital se puede evocar repetidamente (Marson y col., 1992). Por lo tanto se concluye que este núcleo cumple

tónicamente las respuestas motoras involucradas en el reflejo coital.

Las respuestas reflejas obtenidas usando el modelo del reflejo coital demuestran una secuencia compleja de actividad muscular pélvica como resultado de la estimulación genital. Se sabe que este reflejo es una respuesta pudendo-pudendal, que involucra la activación de aferentes genitales contenidas en el nervio pudendo y la respuesta en los músculos perineales, que son también inervados por este nervio (McKenna y Nadelhaft, 1989).

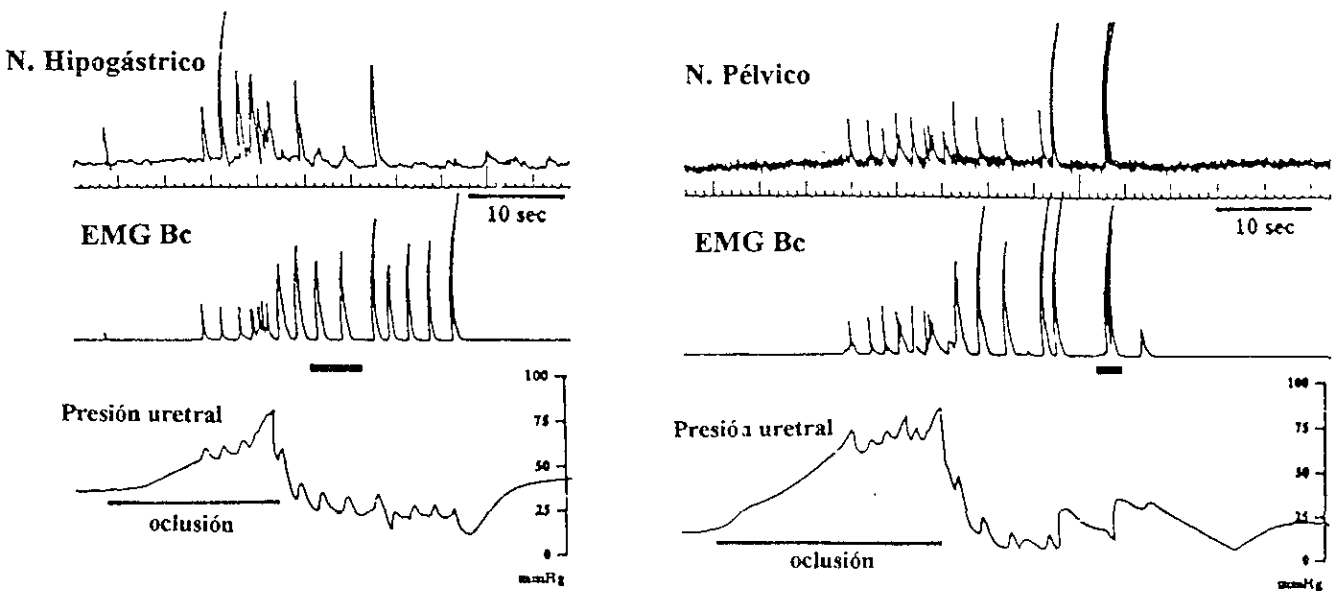


FIG. 4. Registro neurofisiológico del reflejo coital en la rata macho. Esta muestra una actividad eléctrica tanto en la actividad genital como en la actividad muscular perineal. (McKenna y Nadelhaft, 1989).

Hasta este momento, no ha sido posible identificar adecuadamente el papel que el reflejo coital juega en la actividad sexual en animales conduciéndose libremente. Sin embargo, el análisis de las respuestas musculares sugiere que el reflejo coital tiene propiedades semejantes a las observadas en las respuestas sexuales del animal intacto (Fig. 2), y se ha propuesto que representa el concomitante neural de la eyaculación.

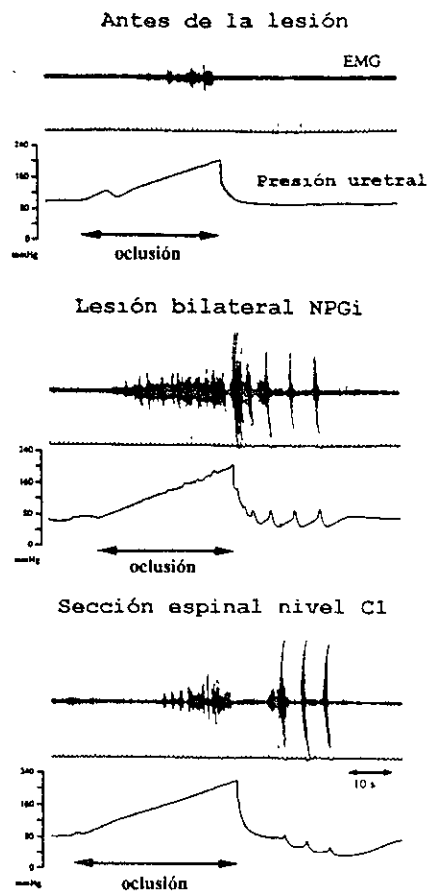


Fig. 5. Trazos EMG que muestran el registro del reflejo coital después de la lesión al núcleo paragigantocelularis con ácido cámbico (trazo medio) y después de la sección de la médula espinal (trazo inferior). Nótese (trazo superior) que el reflejo coital no puede ser evocado en el período de los dos primeros ensayos experimentales. (Modificado de Murray y El-Lenny, 1980).

A pesar de la posible utilidad del reflejo coital para el estudio de los reflejos sexuales, existen varios cuestionamientos que necesitan ser aclarados para asociar definitivamente la respuesta observada en este modelo con la eyaculación fisiológica. Por ejemplo, es importante aclarar si las respuestas genitales de este modelo, que incluyen erección peneana, movimientos del pene, activación somática y autonómica y eyaculación, disparados al mismo tiempo, son los indicadores de los eventos que ocurren durante la eyaculación.

REGULACION DE REFLEJOS SEXUALES POR LOS SISTEMAS SEROTONERGICO Y NORADRENERGICO

La cópula en la rata macho es un fenómeno complejo que involucra la activación integral de varios sistemas de neurotransmisión relacionados con la producción de los reflejos sexuales (Dahlof y col., 1988; González-Mariscal y col., 1994). Entre estos sistemas de neurotransmisión están el sistema serotoninérgico y el noradrenérgico (Hansen y Ross, 1983; González-Mariscal y col., 1994, Marson y McKenna, 1994).

La serotonina participa en la modulación de la conducta sexual masculina de la rata (Larsson y col., 1978; Gonzales y col., 1982; Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti, 1995), a través de la activación de mecanismos inhibitorios a varios niveles en el sistema nervioso central. Así, por ejemplo, algunas vías serotoninérgicas que inervan el hipotálamo y el área preóptica, juegan un papel importante en el control inhibitorio de la conducta sexual (Larsson y col., 1978) mientras que otros ejercen también efectos inhibitorios sobre

Usando el modelo del reflejo coital se ha demostrado que la inhibición tónica ejercida por el núcleo paragigantocelularis sobre los reflejos sexuales está mediada por vías serotoninérgicas (Marson y col., 1992; Marson y McKenna, 1992). Esto fue demostrado lesionando ratas con la neurotoxina 5,7 dihidroxitriptamina. Esta neurotoxina causa degeneración de neuronas serotoninérgicas en las vías descendentes del núcleo a la médula espinal. Como resultado de la lesión, las respuestas motoras asociadas al reflejo coital se presentaban repetidamente (Marson y McKenna, 1994). Los autores antes citados, concluyeron que las respuestas involucradas en la expresión de los reflejos sexuales pueden ser parcialmente controladas por serotonina (Fig. 6) a través de una inhibición tónica. La espinalización y remoción concomitante de estas vías produce la facilitación de la expresión de las respuestas genitales.

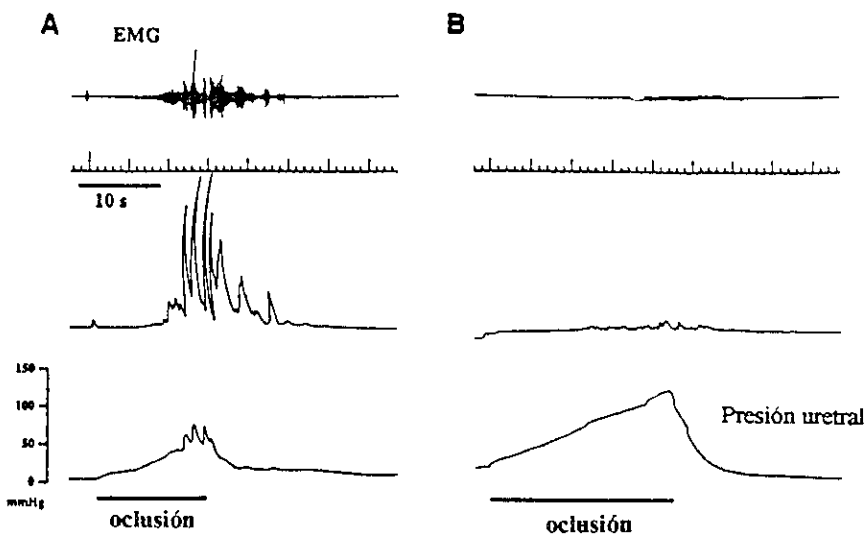


Fig. 6. Facilitación e inhibición del patrón motor asociado al reflejo coital. En A, se muestra el reflejo coital registrado después de la sección de la médula espinal y en B, se muestra el efecto de la aplicación sistémica de serotonina sobre el reflejo coital en la misma preparación. (5) de Marson y McKenna, 1994.

Existen numerosos subtipos de receptores serotoninérgicos (van de Kar, 1991; Barnes y Sharp, 1999) en diversas regiones del sistema nervioso. Estudios farmacológicos han demostrado que los agonistas para el receptor serotoninérgico 5-HT_{1A}, como la 8-OH-DPAT (8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralina) (Dahlof y col., 1988; Ahlenius y col., 1989), facilitan la expresión de la conducta sexual, disminuyendo el número de montas e intromisiones, así como la latencia de eyaculación (Ahlenius y Larsson, 1997). Agonistas para el receptor 5-HT_{1B} como el RU24969 (5-methoxy-3-(1,2,3,6-tetrahydro-4-pyrinyl)-indole), tienen efectos inhibitorios sobre la conducta sexual masculina (Fernández-Guasti y col., 1989, Fernández-Guasti y Rodríguez-Manzo, 1992). Así, la estimulación de diferentes subtipos de receptores provoca respuestas diferentes.

Las respuestas sexuales reflejas también son afectadas de manera diferencial por la activación de receptores serotoninérgicos específicos. Al respecto, se ha descrito que la activación del subtipo de receptor serotoninérgico 5-HT_{2C} media la erección peneana (Millan y col., 1997), y que el bloqueo de los receptores 5-HT_{1A} y 5-HT_{1B} potencia la erección producida por algunos fármacos (Millan y Perrin-Monneyron, 1997). Sin embargo, no se ha descrito el efecto de la activación de los distintos subtipos de receptores serotoninérgicos sobre respuestas reflejas asociadas a la eyaculación, como es el caso del reflejo coital.

El uso de fármacos serotoninérgicos de los que se sabe facilitan la conducta eyaculatoria puede resultar útil en el estudio de los procesos relacionados con la actividad refleja asociada a la eyaculación.

Dada la distribución anatómica de terminales serotoninérgicas en el sistema nervioso, y el hecho de que el

las neuronas serotonérgicas son importantes en la actividad motora. Las motoneuronas del tallo cerebral y de la médula espinal, reciben una densa inervación serotonérgica. Las conexiones serotonérgicas a las motoneuronas están preferencialmente dirigidas a motoneuronas que inervan músculos grandes de los miembros, mientras que aquéllas que inervan a músculos más finamente controlados, reciben muy escasa inervación serotonérgica. Así, en la médula espinal, las conexiones serotonérgicas inervan preferencialmente a músculos axiales más que a musculatura distal (Jacobs y Fornal, 1999). Se ha descrito sin embargo, que las motoneuronas que inervan a músculos genitales (bulboesponjosos e isquiocavernosos además del esfínter externo del ano y la uretra) reciben una densa inervación serotonérgica mayor a la de otros núcleos de motoneuronas, proveniente de distintas regiones superiores (Holstege y Tan, 1987; Rajaofetra y col., 1992; Marson y McKenna, 1996). Este hecho resulta interesante ya que la musculatura genital está involucrada en diversas funciones reproductivas.

Algunos estudios describen el control de la actividad motora por serotonina, específicamente por la activación selectiva de distintos subtipos de receptores. Así, se ha encontrado que algunos reflejos espinales motores rápidos y lentos contralaterales e ipsilaterales al sitio de estimulación en la rata neonata son controlados por serotonina. En ese estudio se observó que la aplicación de 8-OH-DPAT, deprime la respuesta refleja lenta ipsilateral y contralateral (Wallis y Du, 1992), sugiriendo que la activación del subtipo de receptor 5HT1A media la depresión de algunos reflejos motores espinales. También en gatos se ha mostrado que la activación selectiva de este mismo subtipo de receptor media la actividad refleja rápida. Este se

evidenció cuando se eliminó la actividad refleja por medio de la sección espinal y la aplicación inmediata de 8-OH DPAT restableció dichos reflejos (Aggelopoulos y col., 1996). Esto sugiere que la activación de este subtipo de receptor incrementa la actividad refleja espinal polisináptica.

Los reflejos sexuales son modulados en la médula espinal lumbosacra, y se ha sugerido que la eyaculación puede ser mediada por la activación de receptores 5HT_{1A} en estas mismas regiones de la médula espinal (Lee y col., 1990). Así, se sugiere la posibilidad que este subtipo de receptor medie las respuestas reflejas involucradas en la actividad eyaculatoria, hipótesis respaldada por datos de observaciones conductuales.

El sistema noradrenérgico también participa en la regulación de las funciones sexuales. Los receptores adrenérgicos α_2 (Clark y col., 1984), parecen jugar un papel preponderante en dicha regulación. Así, el bloqueo de los receptores adrenérgicos α_2 por yohimbina, un potente antagonista, facilita marcadamente algunos parámetros de la conducta sexual masculina cuando es aplicada agudamente (Goldberg y Robertson, 1983; Smith y col., 1987). Las ratas tratadas con yohimbina muestran un acortamiento del intervalo intercopulatorio, así como un acortamiento en la latencia de eyaculación (Clark y col., 1985; Koskinen y col., 1991). Recientemente fue señalada la participación del sistema noradrenérgico central en la expresión de la conducta sexual en ratas macho sexualmente exhaustas (Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti, 1995). En este estudio, se evidenció la participación del sistema noradrenérgico en la expresión de algunos patrones motores de la cópula, específicamente sobre el patrón motor de la eyaculación. Así, Rodríguez-Manzo y

Fernández-Guasti (1995), mostraron que la aplicación sistémica de yohimbina, a ratas macho sexualmente exhaustas y con lesión neurotóxica del sistema noradrenérgico central, incrementaba marcadamente el porcentaje de animales que mostraban el patrón motor eyaculatorio, inhibiendo sin embargo, la emisión seminal.

Con estos resultados, estos autores sugirieron que los efectos farmacológicos de la yohimbina debían ser ejercidos sobre receptores adrenérgicos centrales localizados en neuronas no noradrenérgicas además de aquellos localizados en el sistema noradrenérgico. Estos estudios resaltan la posible participación de esta amina sobre los eventos motores involucrados en la cópula, como es el caso de la eyaculación y la emisión. A este respecto, no existen estudios fisiológicos que señalen la participación del sistema noradrenérgico en la actividad muscular refleja involucrada en el proceso de eyección ni evidencias sobre la participación del sistema noradrenérgico en reflejos asociados con la eyaculación, como es el caso del reflejo coital.

Se sabe que el sistema noradrenérgico media algunos reflejos espinales. Harris y Clarke, (1993) mostraron que en conejos decerebrados, la aplicación intratecal de yohimbina incrementa las respuestas reflejas de las motoneuronas del músculo gastrocnemio a la estimulación eléctrica de aferentes cutáneas, produciéndose así, un fenómeno de facilitación (Harris y Clarke, 1992; 1993). Estos estudios sugieren la posibilidad de que el sistema noradrenérgico se encuentre ejerciendo un control inhibitorio sobre algunos reflejos espinales. En otro estudio en ratas espinalizadas, se mostró que la aplicación intratecal de noradrenalina facilita e inhibe las respuestas reflejas flexoras mediadas por

aferentes del grupo II. Así, en ratas pretratadas con yohimbina, el efecto de la aplicación intratecal de noradrenalina revirtió el proceso de inhibición de las respuestas reflejas (Sakitama, 1993), sugiriendo que el efecto facilitador, observado en estas respuestas, está producido por mecanismos que incrementan la excitabilidad de las motoneuronas. También se ha mostrado en gatos y ratas, que la noradrenalina juega un papel importante en el inicio y modulación de patrones de locomoción (Chau y col., 1998, Sqalli-Houssaini y Cazalets, 2000) y en la mediación de respuestas reflejas.

Las motoneuronas que inervan a los músculos genitales están contenidas en el núcleo de Onuf (Schorder, 1980). Este núcleo de motoneuronas, recibe proyecciones descendentes de estructuras superiores, entre las que destaca una inervación noradrenérgica, que ha mostrado ser mayor que la que recibe el resto de las motoneuronas espinales. Las vías noradrenérgicas descendentes que inervan a este núcleo incluyen a las provenientes del locus coeruleus y de las regiones A5 y A7 (Weslund y col., 1983; Fritschy y col., 1987; Lyons y col., 1989; Rajaofetra y col., 1992; Marson y McKenna, 1996).

Las acciones directas de la noradrenalina sobre las motoneuronas espinales de mamíferos parecen ser facilitatorias (Hounsgaard y Kiehn, 1989). Por ejemplo, White y Newman (1980) demostraron que la aplicación iontoforética de noradrenalina sobre motoneuronas lumbares produce cambios de larga duración en su excitabilidad incrementando la frecuencia de disparo. En este mismo estudio, sugieren que la noradrenalina incrementa los efectos de las entradas excitatorias a motoneuronas espinales por acciones sobre distintos circuitos (White y Newman, 1980). Así, la

participación del sistema noradrenérgico en la conducta motora y en las diversas acciones sinápticas que modulan los reflejos a través de la activación de múltiples tipos de receptores, apoya la importancia de tratar de entender como participa dicho sistema de neurotransmisión en las acciones motoras involucradas en el reflejo eyaculatorio.

La presente tesis tuvo como objetivo analizar detalladamente los aspectos sensoriales y motores de la respuesta denominada reflejo coital, que los relacionen con los reflejos sexuales masculinos que se presentan durante la cópula. También, tuvo como objetivo evaluar el efecto de la aplicación sistémica de un agonista serotoninérgico 5-HT_{1A}, la 8-hidroxi-di-n-dipropilaminotetralina (8-OH-DPAT) y de un antagonista noradrenérgico α_2 , la yohimbina sobre el patrón motor genital que subyace al reflejo coital. Esto último con el objeto de establecer la posible participación de los sistemas serotoninérgico y noradrenérgico en su regulación. Los datos de la tesis se discuten en el contexto de los aspectos sensoriales, motores y de regulación neuroquímica de los reflejos sexuales masculinos en rata.

HIPOTESIS

Hipótesis 1: Los músculos genitales, además de los perineales, están involucrados funcionalmente en el reflejo coital.

Hipótesis 2: Los receptores adrenérgicos α_2 y serotoninérgicos 5-HT_{1A} participan en la regulación de la expresión del reflejo coital.

OBJETIVOS

General: Profundizar en el conocimiento de la regulación anatomo-funcional y farmacológica del reflejo coital.

Específicos:

- 1) Describir la participación diferencial de la musculatura pélvica y perineal en el reflejo coital en la rata macho.
- 2) Evaluar el posible efecto de la estimulación de los receptores serotoninérgicos 5-HT_{1A} en la expresión del reflejo coital después de la fatiga en la rata macho.
- 3) Evaluar el posible efecto de la estimulación de los receptores adrenérgicos α_2 en la expresión del reflejo coital después de la fatiga en la rata macho.

RESULTADOS

CAPITULO 3

SENSORY AND MOTOR ASPECTS OF THE COITAL REFLEX IN SPINAL MALE
RATS

Research report

Sensory and motor aspects of the coital reflex in the spinal male rat

M. Carro-Juárez^a, G. Rodríguez-Manzo^{b,*}

^a *Unidad de Posgrado, Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Tlaxcala, C.P. 9000, AP 37 Tlaxcala, Mexico*

^b *Departamento de Farmacología y Toxicología, Centro de Investigaciones y de Estudios Avanzados del IPN, PO Box 220026, and División de Neurociencias, Instituto Mexicano de Psiquiatría, México 14000, Mexico*

Received 28 May 1999, received in revised form 7 September 1999, accepted 9 September 1999

Abstract

In the present study the sensory and motor aspects of the coital reflex model in male rats were evaluated. Electromyographic reflex activity after mechanical stimulation of the urethra, penis and scrotal skin was recorded in all genital muscles. The possibility that a facilitatory mechanism of these muscular responses was located in the rat spinal cord was evaluated by removing the genital afferents. Results showed that urethral, penile and scrotal stimulation evoked the coital reflex in all genital muscles. Similarly, coital responses were obtained spontaneously in deafferented animals. The parameters among the motor patterns evoked with the different mechanical stimuli were very similar. Parameters of spontaneous motor patterns were not importantly different from those obtained reflexively. A conspicuous difference between these responses was the presence of an after-discharge activity in genitally-stimulated animals. Additionally, it was found that this motor pattern can be exhausted with repeated stimulation. Spontaneous responses did not show the exhaustion phenomenon. Results are discussed in the context of the sensory-motor aspects of male sexual behaviour. © 2000 Elsevier Science B.V. All rights reserved.

Keywords: Coital reflex; Sexual reflex; Spinal reflex; Central pattern generator; Striated muscle

1. Introduction

Ejaculation is the physiological process that describes the expulsion of the semen from the urethra. This process consists of two different stages, an emissive and an ejective phase of ejaculation [20]. From these two events, the ejective phase has been considered as the only indicator of the ejaculatory event [9, 11, 15, 17]. Traditionally, it has been described that in some mammalian species such as human and rat, seminal ejection is produced by the co-ordinated contraction of the bulbospongiosus and ischio cavernosus muscles [5, 9, 11, 18, 28, 30] and supported by the contraction of the anal and urethral sphincters [11, 20, 27]. These muscular responses can be evoked by the adequate mechanical stimulation of internal and external genital structures

[5, 8, 10–12, 21]. Thus, striated muscular activity involved in the ejective phase of ejaculation depends strongly on the stimulation of genital structures [20]. An experimental model for the study of the reflexes associated to sexual function was developed by McKenna and colleagues [3, 17]. In this model, genital responses similar to those observed during ejaculation in non-anaesthetised humans are elicited in urethane-anaesthetised spinal rats by mechanical stimulation of the urethra. These responses, named the coital reflex, consist of clonic contractions of the perineal muscles, rhythmic autonomic firing, phasic penile erections, dorsoflexion of the body of the penis, engorgement and flaring of the glans and expulsion of the urethral contents. According to these authors, the only stimulus that has been shown to produce the coital reflex is the mechanical stimulation of the urethra [17]. Therefore, this response has also been called the urethro-genital reflex, a term that describes the stimulation site and the responding organs. The reflex activity observed in the

* Corresponding author.

E-mail: gromanzo@rednet.mx (G. Rodríguez-Manzo).

perineal musculature in this model has been useful to identify the central structures involved in the inhibition of sexual reflexes, as well as the neurotransmitter systems participating in their control [13–15]. However, little is known about the sensorial and motor components of this reflex.

During the study of the rat ejaculatory response using the coital reflex model, we observed that mechanical stimulation of the penis and scrotal skin evoked some events in genital structures similar to those described after urethral stimulation. On the other side, it has been described that in spinal rats, sexual reflexes (i.e. cup clusters, penile erection, etc.) may be evoked by stimulating the genital skin [12,19,24–26] or its nerves [21]. Thus, we wondered if similar muscular responses to those achieved by urethral stimulation could be obtained by separately stimulating internal or external genital structures in anaesthetised spinal rats. Besides, it has been suggested that the muscular pattern associated to the coital reflex is present only in the perineal muscles (i.e. bulbospongiosus and ischiocavernosus muscles) [3,17]. However, since the genital tract of the male rat is completely surrounded by striated muscles [2,28], it is probable that other muscles could also be involved in this reflexive response.

Thus, the aim of the present study was to analyse in detail the sensory and motor aspects involved in the coital reflex in spinal male rats and to provide a more complete description of this sexual response associated to ejaculation.

2. Material and methods

2.1 Animals

Twenty four sexually experienced male Wistar rats (300–350 g) were used. Rats were housed by groups (four animals per cage) under inverted LD cycle conditions 12:12 h, at 22°C, and with free access to food and water.

2.2 Groups

Animals were divided into four groups. The first group (G1) was used to evoke the coital reflex by stimulation of the urethra with saline solution. Second group (G2) was utilised to evoke the coital reflex by applying a gentle pressure to the penis with a forceps. A third group (G3) was employed to evoke the reflex by brushing the scrotal skin. Finally, a fourth group (G4) was used for the recording of possible muscular responses in deafferented animals and served as a control group.

2.3. Surgical procedures

All animals were laparatomised under urethane anaesthesia (0.7 g/kg, i.p.) by a single midline incision to expose the pelvic muscles. Animals in G1 were implanted with a PE-50 catheter (0.965 mm OD) inserted into the pelvic urethra via a bladder incision that was firmly tied to the bladder neck. The catheter was connected to a Harvard syringe pump attached to a three valves stopcock connected to a pressure transducer. Two platinum wires were inserted into the external urethral sphincter, and into the urethralis, levator ani, ischiocavernosus and bulbocavernosus muscles of the animals in all other groups to record electromyographic (EMG) activity. The wires (Grass) were connected to a polygraph (Grass M7) for conventional recording. In animals of G2 the penis was extended to obtain its protrusion for stimulation. In the animals of G3, the scrotal skin was carefully shaved to allow the adequate application of mechanic stimuli. Animals in G4 were neurectomised and the afferent pathways from the sacral and pelvic plexus to the penis, urethra and scrotal skin were removed. To this purpose, an additional surgery was performed. In these animals an incision was done dorsally to expose the sacral plexus as previously described by McKenna and Nadelhaft [16]. At the end of each surgical approach, all animals in each group were spinalised by transection at T6 level and prepared for recording.

2.4. Reflexive activation of muscular responses

In animals of G1, reflex responses were produced by mechanically stimulating the pelvic urethra. Stimulation was carried out by injecting saline solution (200 μ l/min, Harvard Syringe Pump) through the catheter, during 30 s. Reflexive responses in G2 were evoked by exerting sustained pressure (no more than 2 g) with a forceps in the penile skin during 30 s. In the animals of G3, the reflexive responses were induced by brushing the scrotal skin with a cotton swab during 30 s. Finally, in the animals of G4, only the spontaneous activity in response to spinalisation was recorded. The duration of the EMG recording was of 3 h for all individual animals in all groups.

2.5 Data analysis

The parameters recorded for each motor response were: latency to the appearance of the motor response, frequency of EMG bursts, duration of the muscular train, number of motor responses. All numerical values were expressed as means \pm SE. Mean values were calculated for each muscle of individual animals and quantitative comparisons between groups were calculated from these means. Statistical comparisons were done by

means of a one-way ANOVA followed by the Student–Newman–Keuls method.

3. Results

3.1. Features of the genital motor pattern

3.1.1. Sensory aspects

The results obtained after mechanical stimulation of the urethra, penis or scrotum reveal that stimulation of each of these structures was capable of evoking similar reflex responses, originally described for the urethro-genital reflex.

3.1.2. Motor aspects

In agreement with previous descriptions the striated muscular responses obtained after stimulating the different genital structures consisted of clonic contractions of the striated perineal muscles and expulsion of the urethral contents. EMG reflexive responses could be recorded in all genital muscles, i.e. the external urethral sphincter and the urethralis, levator ani, bulbospongiosus and ischiocavernosus muscles. As it can be seen in Fig. 1, all these muscles showed synchronised reflex discharges. The characteristics of these muscular patterns, summarised in Table 1, were very similar among the different stimulation procedures. The data included in this table were registered in the bulbospongiosus

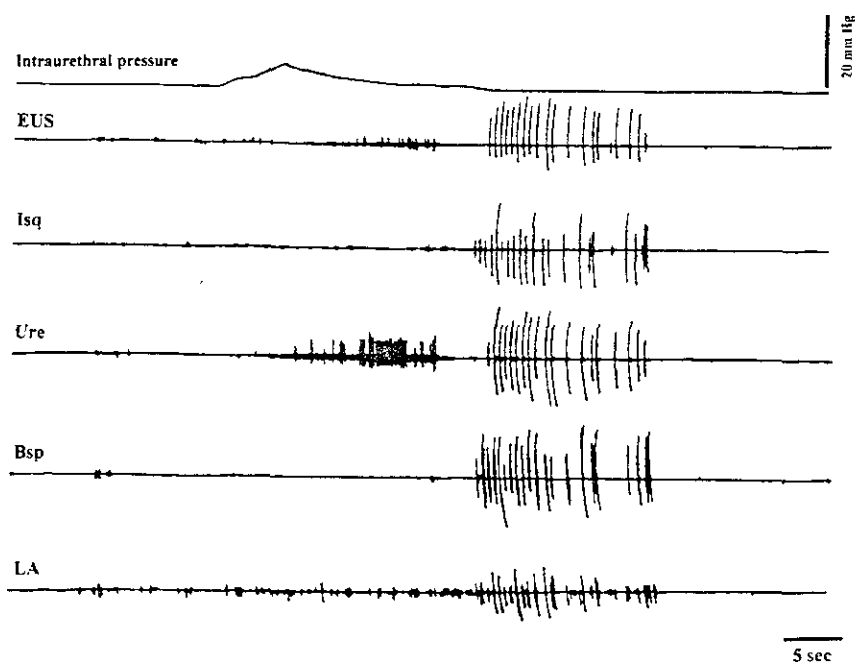


Fig. 1. Typical recording of the EMG activity during a coital reflex. Traces show synchronised activation of all the genital muscles. Coital reflex was elicited by stimulating the urethra. EUS, external urethral sphincter; Isq, ischiocavernosus muscle; Ure, urethralis muscle; Bsp, bulbospongiosus muscle; LA, levator ani muscle.

Table 1
Comparison of the evoked genital motor pattern parameters recorded in the genital bulbospongiosus muscle after different mechanical stimuli*

| Parameter | Urethral stimulation V = 6 (mean \pm SL) | Penile stimulation V = 6 (mean \pm SL) | Scrotal stimulation V = 6 (mean \pm SE) |
|--------------------------|---|---|--|
| Latency (s) | 14.6 \pm 3.01 | 15.4 \pm 3.69 | 23.2 \pm 2.94 |
| Duration (s) | 6.28 \pm 0.38 | 5.74 \pm 0.44 | 7.12 \pm 0.32* |
| Frequency (Hz) | 1.48 \pm 0.11 | 1.25 \pm 0.03 | 1.31 \pm 0.10 |
| Number of bursts | 6.30 \pm 0.18 | 5.89 \pm 0.16 | 6.33 \pm 0.14 |
| Number of motor patterns | 6.00 \pm 0.52 | 5.83 \pm 0.70 | 6.00 \pm 0.37 |

* $P < 0.05$ Student–Newman–Keuls Method, scrotal vs. urethral stimulation.

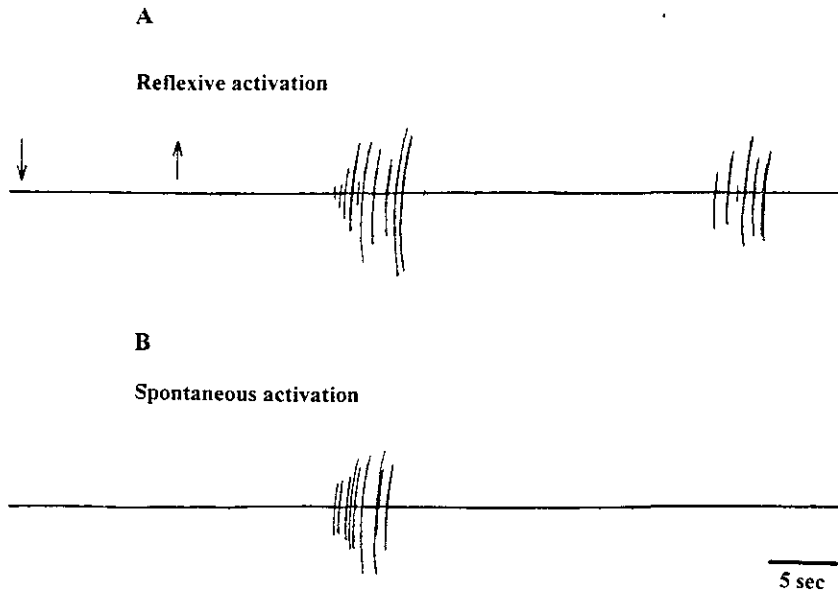


Fig. 2. EMG reflex activity of the bulbospongiosus muscle upon coital response. (A) muscular pattern recorded in response to scrotal stimulation that shows the after-discharge activity that appears few seconds after the stimulation period (B) the muscular pattern recorded spontaneously. Notice that this spontaneous muscular response does not show after-discharge activity. ↓, ON, ↑, OFF

muscle, and are illustrative of the muscular responses obtained in all other genital muscles. The responses showed similar latencies, frequency of EMG bursts, mean number of bursts, as well as mean number of motor patterns, independently of the structure that was stimulated. A slight variation in the duration of the motor response was observed with different stimuli (penile < urethral < scrotal) and were statistically significant only between scrotal and penile stimulated groups (Student–Newman–Keuls, $P < 0.05$).

Once the coital reflex was expressed, a second series of bursts (after-discharge) appeared at variable latencies (in the order of seconds) in all genital muscles recorded. These after-discharge responses appeared without applying any additional stimulation (Fig. 2). The reflexive activation of the above mentioned pelvic muscles together with its after-discharge, was evoked in all the animals by stimulation either of the urethra, the penis or the scrotum, at intervals of 3–5 min after the first response and could be evoked repeatedly in the same animal (median six times).

3.2 Spontaneous activation of the genital motor pattern

The motor response denominated coital reflex was obtained spontaneously after spinal cord transection in deafferented rats. This motor response was present almost immediately after the spinal lesion and exhibited the following features: (a) It appeared after spinalisation with a mean latency of 3 min. (b) It could be recorded during 2 h after spinal cord transection. (c) A mean number of 34.3 muscular patterns was recorded

during these 2 h. Following this period the muscular response suddenly disappeared without previous modification of the pattern characteristics: (d) The muscular response occurred at intervals of 3.5 min in average; (e) The response was recorded in all muscles surrounding the genital tract (i.e. external urethral sphincter, urethralis, levator ani, bulbospongiosus and ischiocavernosus muscles); (f) All muscular responses were associated with penile movements and also with brief erections and dorsiflexion of the penile body. (g) There were no differences in the frequency of discharge (1.29 ± 0.03 Hz) and number of bursts (6.03 ± 0.07 bursts/s) between the muscular responses spontaneously obtained in deafferented rats and those reflexively evoked. A statistically significant difference was found only in the duration of the train in spontaneous responses when compared to those obtained after scrotal stimulation (mean \pm SE = 5.25 ± 0.24 versus 7.12 ± 0.32 s, respectively; Student–Newman–Keuls test $P < 0.05$). (h) Spontaneous muscular patterns did not exhibit after-discharges (Fig. 2).

3.3 Exhaustion of the coital reflex

The muscular pattern reflexively obtained could be exhausted when repeatedly evoked. This phenomenon was observed in all animals stimulated in the genital structures tested. Exhaustion of the genital motor patterns initiated immediately after the presentation of the first response, since in the subsequent ones, the number of bursts in its after-discharge response diminished progressively. Thus, the change in the properties of the

after-discharge was the first indicator that the reflexive response advanced towards exhaustion. After this, a change in the properties of the motor pattern itself occurred. Once the after-discharge response of each motor pattern disappeared (following 2–3 motor responses), the properties of the muscular train changed by reducing the number of bursts as well as its duration (Fig. 3). After the elicitation of approximately six genital motor patterns, the exhaustion of the coital reflex took place. At this moment, the coital reflex could not be evoked again.

4. Discussion

Present findings support and extend previous descriptions on the coital reflex in male rats. The coital reflex consists of a complex sequence of pelvic activity in response to genital stimulation, which principally involves muscular actions producing the expulsion of the urethral content and penile movements. Previous reports on the coital reflex have pointed that the only stimulus eliciting this response is the mechanical stimulation of the urethra [17]. Present data disagree with those observations. We found that scrotal and penile mechanical stimulation also produces striated muscular responses and penile movements similar to those described for the coital reflex. Thus, this reflex, specifically

the muscular pattern, can also be evoked by mechanical stimulation of other genital structures.

It is important to state that sexual reflexes can be expressed in spinal animals, due to the fact that the tonic inhibition exerted by higher structures is removed [13–15,19]. Thus, in the absence of this inhibitory influence, it is not surprising that the stimulation of any genital structure activates the ejaculatory muscular pattern in a similar manner to that observed in intact animals [24,25].

There is a study [4] reporting that stimulation to the penis produces the coital reflex, but only after the stimulation of the pelvic urethra. Present data disagree with that report, since we evoked the coital reflex by separately stimulating the scrotum, the penis or the urethra. In line with present data, it has been reported that urethral stimulation is not necessary for the expression of the striated muscular component of ejaculation in copulating male rats [10]. This conclusion is based on the finding that this component remains spared after anaesthetising this structure.

On the other side, present data also suggest that this last conclusion might not be straightforward, since stimulation to other genital structures may contribute to the elicitation of this muscular response in copulating rats. The fact that in spinal male rats, the neurectomy of the dorsal penile nerve does not affect the expression of sexual reflexes supports this suggestion [12]. Hence, the activation of other genital afferent pathways appears to be as important as the activation of the urethral afferents for the expression of the coital response.

These other afferent pathways include those of the scrotal skin. Present data, describing the elicitation of clusters of sexual reflexes in response to stimulation of the scrotal skin, suggest that scrotal stimulation might play an important role in the sexual response. In support of this notion, we have found that in spinally intact urethane-anaesthetised male rats, the stimulation of the afferents from the scrotum produces ejaculation [1].

With respect to the muscular aspects of the coital reflex, it has been proposed that only the ischioavernosus and bulbospongiosus muscles participate in the coital reflex [3,17]. In the present study, however, we observed that not only the perineal muscles, but all striated muscles of the genital tract participate in this response. Thus, present data extend previous descriptions on the motor component of the coital reflex in male rats.

Another finding of the present study is that the muscular pattern and the muscular-associated mechanical responses of the penis (penile movements and erection) can be spontaneously expressed in all genital muscles of genitally-deafferented rats. This is a surprising result, since the coital response, in this prepara-

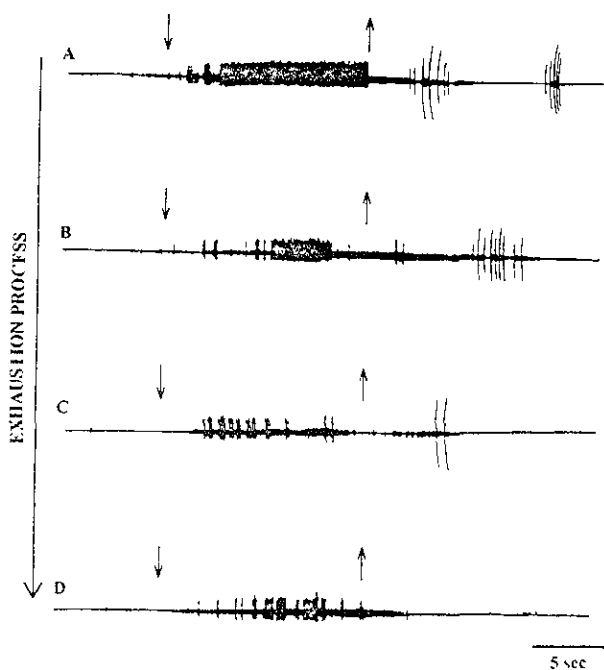


Fig. 3. Typical EMG recording of the urethralis muscle after repetitive mechanical stimulation of the penis. Traces show the exhaustion process of the coital reflex. A to D. Arrows indicate the stimulation period.

tion, has only been obtained after reflexive activation [4,14,15,17,29]. Thus, this is the first time that a spontaneous set of muscular responses associated to sexual function is described in spinal male rats.

It has been reported that the sexual reflexes can be obtained in male rats neurectomised of the dorsal penile nerve, as well as in animals with penile sheath removal by spinal cord transection [12,25]. The spinal cord itself contains neural circuits that, when activated, can co-ordinate different muscles to produce movements, even when all movement-related afferent inputs are abolished (see [7] for review). Such findings indicate that the spinal cord contains central pattern generators that can produce a complex motor output similar to that seen in the intact animal. Even when this proposal is only related to locomotion involving a limb or different types of interlimb co-ordination [7], the same may be applied for the motor pattern involved in ejaculation. Actually, the presence of a spinal pacemaker regulating the expression of sexual reflexes, activated by a tonic stimulus, has been suggested for rats [24,25]. Also, it has been shown that the coital reflex is a product of a spinal pattern generator and that it may represent a system analogous to other spinal systems of fictive locomotion [17]. Present data extend and support these proposals, since the spontaneous motor response of the genital muscles does not differ importantly from those obtained reflexively.

A characteristic of the rhythmic motor patterns is that they must be modifiable. The movement repertoire of spinal animals contains the essential features of the movement pattern, but lacks the refinement observed in intact animals [7]. This refinement is partially provided by the afferent inputs.

In the present study we observed the presence of after-discharge activity in the evoked responses similar to those recorded in ejaculating animals and for the coital reflex [9,17]. Thus, it is possible that in this model the activation of the genital afferents could act upon the spinal generator to modify the expression of the sexual motor pattern until it reaches some features of the ejaculatory pattern observed in intact animals. Hence, the after-discharge activity could represent the refinement of this response provided by genital stimulation. Thus, the observed increased response potential in the absence of genital stimulation could mirror the continuous discharge of the central pattern generator, without the control provided by the afferent stimulation. In the presence of this apparently inhibitory control, the after-discharge appears limiting the number of motor patterns displayed. Notwithstanding, other physiological studies are necessary to determine how this putative central pattern generator for male sexual function operates.

An interesting finding, using this model, is the exhaustion of the genital motor pattern observed in the animals subjected to genital stimulation. In this spinal animal preparation, the first evidence indicative of the initiation of exhaustion of the coital reflex is the progressive abolition of the after-discharge activity. After this, the motor pattern itself gradually disappears and exhaustion is evident. As the genital muscular pattern progressively vanishes, the penile movements associated to the muscular contractions also disappear progressively. At present, we have no explanation for this striking findings. However, it could be thought that exhaustion of the coital reflex might be related to the sexual exhaustion phenomenon observed in the copulating male rat. Sexual exhaustion is defined as a long lasting sexual behaviour inhibition that appears after repeated ejaculation [22]. The development and achievement of sexual exhaustion in copulating rats is characterised by a decrease in the number of intromissions and an exponential increase in the length of the postejaculatory interval [22]. A mean number of seven successive ejaculatory series precede sexual exhaustion [22,23]. Interestingly, a similar mean number of coital reflexes was recorded in this preparation prior to the establishment of the reflex exhaustion. Thus, this is the first time that a phenomenon similar to sexual exhaustion is shown in an acute preparation in spinal anaesthetised animals. The fact that the spontaneous ambulatory behaviour of sexually exhausted rats is not altered [22], suggests that in copulating male rats sexual exhaustion might be related, at least partially, to the incapacity of expression of the coital reflex.

There are several studies that show that much of the activity labelled as sexual behaviour is partially mediated by the spinal cord [6,19,26]. In this respect, the present study shows that some of the features of sexual behaviour, such as exhaustion, may be expressed in this preparation. This finding suggests that the spinal cord might participate in the control of motor aspects of the sexual exhaustion phenomenon. Thus, this model could be useful for the study of exhaustion of copulatory motor acts such as ejaculation.

As previously suggested, the possibility that the inhibitory mechanisms of ejaculation [19,26] are located into the spinal cord, supports the idea that a spinal pacemaker controls that response. Further experiments are necessary to test this proposal.

Acknowledgements

We acknowledge Raul Cardoso for the preparation of the figures.

References

- [1] Carro-Juarez M, Rodríguez-Manzo G. Aspectos sensoriales y motores del reflejo uretrogenital en la rata macho. *Memorias del XLI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas*. 1998. pp. 84.
- [2] Carro-Juárez M. The urethralis muscle of the male rat. *Arch Androl*. 1999 (in press).
- [3] Chung SK, McVary KT, McKenna KE. Sexual reflexes in male and female rats. *Neurosci Lett* 1988;94:343–8.
- [4] Duran I, Rojas-Piloni G, Cueva-Rolon R. Facilitation and inhibition of the urethrogenital reflex in spinal cord-transected rats. *Brain Res* 1997;775:1–10.
- [5] Gerstenberg G, Levin RJ, Wagner G. Erection and ejaculation in man. Assessment of the electromyographic activity of the bulbocavernosus and ischiocavernosus muscles. *Br J Urol* 1993;65:395–402.
- [6] Giuliano F, Rampin O, Bernabe J, Rousseau JP. Neural control of penile erection in the rat. *J Auton Nerv Syst* 1995;55:36–44.
- [7] Grillner S. Neurobiological bases of the rhythmic motor acts in vertebrates. *Science* 1985;228:143–9.
- [8] Hart BL, Kitchell R. Penile erection and contraction of penile muscles in the spinal and intact dog. *Am J Physiol* 1966;210:257–62.
- [9] Holmes GM, Chapple WD, Leipheimer RE, Sachs BD. Electromyographic analysis of the male rat perineal muscles during copulation and reflexive erections. *Physiol Behav* 1991;49:1235–46.
- [10] Holmes GM, Sachs BD. The ejaculatory reflex in copulating rats: normal bulbospongiosus activity without apparent urethral stimulation. *Neurosci Lett* 1991;125:195–7.
- [11] Kollberg S, Petersen I, Stener I. Preliminary results of an electromyographic study of ejaculation. *Acta Chir Scand* 1972;123:478–83.
- [12] Lumia AR, Sachs BD, Meisel RL. Spinal transection restores sexual reflexes of rats following suppression by penile sheath removal. *Physiol Behav* 1980;25:89–92.
- [13] Marson L, McKenna KE. The identification of a brainstem site controlling spinal sexual reflexes in male rats. *Brain Res* 1990;515:303–8.
- [14] Marson L, List M, McKenna KE. Lesions of the nucleus paragigantocellularis alter copula penile reflexes. *Brain Res* 1992;592:187–92.
- [15] Marson L, McKenna KE. Serotonergic neurotoxic lesions facilitate male sexual reflexes. *Pharmacol Biochem Behav* 1994;47:883–8.
- [16] McKenna KE, Nadelhaft I. The organization of the pudendal nerve in the male and female rat. *J Comp Neurol* 1986;248:532–49.
- [17] McKenna KE, Chung SK, McVary KT. A model for the study of sexual function in anesthetized male and female rats. *Am J Physiol* 1991;261:1276–85.
- [18] Mitsuya H, Asai J, Suyama K, Ushida T, Hosoe K. Application of X-ray cinematography in urology. I. Mechanism of ejaculation. *J Urol* 1976;83:86–92.
- [19] Meisel RL, Sachs BD. Spinal transection accelerates the developmental expression of penile reflexes in male rats. *Physiol Behav* 1980;24:289–92.
- [20] Newman H, Reiss H, Northrup JD. Physical basis of emission, ejaculation, and orgasm in the male. *Urology* 1982;19:341–50.
- [21] Pescatori ES, Calabro A, Artibani W, Pagano F, Triban Ch, Itahano G. Electrical stimulation of the dorsal nerve of the penis evokes reflex tonic erections of the penile body and reflex ejaculatory responses in the spinal rat. *J Urol* 1993;149:627–32.
- [22] Rodríguez-Manzo G, Fernández-Guasti A. Reversal of sexual exhaustion by serotonergic and noradrenergic agents. *Behav Brain Res* 1994;62:127–34.
- [23] Rodríguez-Manzo G, Fernández-Guasti A. Participation of the central noradrenergic system in the reestablishment of copulatory behavior of sexually exhausted rats by yohimbine, naloxone, and 8-OH-DPAT. *Brain Res Bull* 1995;38:399–404.
- [24] Sachs BD, Garinello LD. Spinal pacemaker controlling sexual reflexes in male rats. *Brain Res* 1979;171:152–6.
- [25] Sachs BD, Garinello LD. Hypothetical spinal pacemaker regulating penile reflexes in rats: evidence from transection of spinal cord and dorsal penile nerves. *J Comp Physiol Psychol* 1980;94:530–5.
- [26] Sachs BD, Bitran D. Spinal block reveals roles for brain and spinal cord in the mediation of reflexive penile erections in rats. *Brain Res* 1990;528:99–108.
- [27] Shañik A. Pelvic floor muscles and sphincters during erection and ejaculation. *Arch Androl* 1997;39:71–8.
- [28] Schmidt MH, Schmidt HS. The ischiocavernosus and bulbospongiosus muscles in mammalian penile rigidity. *Sleep* 1993;16:171–83.
- [29] Vathy I, Marson L. Effects of prenatal morphine and cocaine exposure on spinal sexual reflexes in male and female rats. *Physiol Behav* 1998;63:445–50.
- [30] Watson JW. Mechanism of erection and ejaculation in bull and ram. *Nature* 1964;204:95–6.

CAPITULO 4

EXHAUSTION OF THE COITAL REFLEX IN SPINAL MALE RATS IS
REVERSED BY THE SEROTONERGIC AGONIST 8-OH-DPAT



ELSEVIER

Research report

Exhaustion of the coital reflex in spinal male rats is reversed by the serotonergic agonist 8-OH-DPAT

M. Carro-Juárez^a, G. Rodríguez-Manzo^{b,*}

^a Unidad de Posgrado, Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Tlaxcala, C.P.90000, AP.37 Tlaxcala, Mexico

^b Departamento de Farmacobiología y Toxicología, CINVESTAV, IPN, P.O. Box 22026 México 14000 D.F., México and División de Investigaciones en Neurociencias, Instituto Mexicano de Psiquiatría, México, D.F., México

Received 26 April 2000; received in revised form 1 September 2000; accepted 3 September 2000

Abstract

Previous studies from our laboratory have shown that the genital motor pattern associated to the coital reflex in spinal male rats becomes exhausted when repeatedly evoked. Exhaustion of the genital motor pattern could be related to the sexual exhaustion phenomenon observed in copulating male rats. The present study was aimed to describe the features of coital reflex exhaustion and to determine if the 5-HT_{1A} agonist 8-OH-DPAT was able to reverse exhaustion of this ejaculatory-like response. Additionally, the effect of pre-treatment with the 5-HT_{1A} antagonist WAY 100635 on the 8-OH-DPAT induced motor response was evaluated. Results revealed that development of coital reflex exhaustion initiated with a progressive increase in the latency of response and was characterised by a change in the properties of the motor pattern itself. Once exhausted, i.v. administration of 8-OH-DPAT provoked the immediate expression of a potent motor pattern similar to the coital reflex, but in the absence of urethral stimulation. Injection of WAY 100635 induced, per se, expression of the coital reflex after exhaustion. Notwithstanding, pre-treatment with WAY 100635 was able to block the 8-OH-DPAT-induced motor response implying that its effect was exerted upon 5-HT_{1A} receptors. Data suggest that the sexual exhaustion phenomenon might possess a spinal component. © 2001 Elsevier Science B.V. All rights reserved.

Keywords: Coital reflex; 8-OH-DPAT; Ejaculation; Masculine sexual function; Sexual exhaustion

1. Introduction

The coital reflex can be elicited in urethane-anaesthetised, spinal male rats by stimulation of genital structures [7,8,21]. This reflex consists of clonic contractions of the genital muscles accompanied by expulsion of the urethral contents, phasic penile erection and engorgement and flaring of the glans [7,8,21]. This response can be useful for the study of the neural mechanisms involved in the spinal control of sexual reflexes [7,8,21], since it has been suggested to represent the neural concomitants of ejaculation.

Anatomical studies have revealed the presence of 5-Hydroxytryptamine (5-HT) containing neurones in the nucleus paragigantocellularis, that project to the lumbosacral spinal cord and autonomic areas related to sexual function [18,20]. Marson and McKenna [18,20] have shown that this nucleus exerts an inhibitory influence on the expression of the coital reflex. Additionally, it has also been demonstrated that lesion of the nucleus paragigantocellularis facilitates the expression of sexual reflexes in ex copula tests [19].

It has long been assumed that 5-HT exerts both inhibitory and excitatory influences on sexual reflexes and sexual behaviour in male rats, depending on the differential activation of 5-HT receptor subtypes see [4] for review, [5,11–13]. In behaving rats, the use of specific 5-HT agonists has allowed the identification of the role played by different 5-HT receptor subtypes in

* Corresponding author. Tel./fax: 52-525-5130432.
E-mail address: roma@neuroserver.imp-neuro.edu.mx (G. Rodríguez-Manzo).

male sexual behaviour. However, little is known about their effects on the physiology of ejaculation in rats. A great number of observations suggest a specific involvement of central 5-HT_{1A} receptors in the mediation of male rat ejaculatory behaviour [4]. Thus, stimulation of this receptor subtype by systemic injection of the serotonergic agonist 8-OH-DPAT produces a marked facilitation of male sexual behaviour in sexually experienced rats. This facilitation is evidenced by a drastical reduction of the ejaculation latency and the number of mounts and intromissions preceding it [4]. Similar facilitatory effects are obtained with this drug when applied to sexually exhausted male rats [24,25]. Though it is well known that this 5-HT_{1A} agonist facilitates the expression of male rat sexual behaviour, the mechanism through which it acts to facilitate ejaculatory behaviour or the anatomical substrate mediating this response are still unknown.

The coital reflex exhibits some features observed in intact copulating male rats, such as exhaustion. In a previous study, we reported that the coital reflex may be exhausted when repeatedly evoked [7] and that, interestingly, the mean number of evoked responses before the establishment of this phenomenon is coincident with the mean number of ejaculatory series observed in copulating rats before sexual exhaustion [7,25]. We wondered if 8-OH-DPAT could reverse exhaustion of the coital reflex in a similar manner as it reverses sexual exhaustion in intact copulating male rats.

Thus, the aim of the present study was to describe the features of coital reflex exhaustion and to determine if the 5-HT_{1A} agonist, 8-OH-DPAT, was able to reverse the exhaustion of this ejaculatory-like reflex response in spinal male rats. Additionally, the specificity of the 8-OH-DPAT-induced motor response was evaluated by administering the 5HT_{1A} antagonist WAY 100635 previous to the 5-HT_{1A} agonist.

2. Materials and methods

2.1. Animals

Forty-eight sexually experienced male Wistar rats (300–350 g body weight) were used. Animals were housed by groups (four rats per cage), under an inverted LD cycle 12:12 h, at 22°C, and with free access to food and water.

2.2. Groups

Animals were divided into six groups. The first group was used to describe the features of the coital reflex exhaustion phenomenon. Groups 2 and 3 were used to analyse the effect of two different doses of 8-OH-DPAT

(10 or 20 µg per animal, i.v., respectively) on the already exhausted coital reflex. The fourth group was injected with saline solution (0.4 ml/animal, i.v.) after exhaustion of the coital reflex and served as control. The fifth group was used to evaluate the effect of a single dose of the 5-HT_{1A} antagonist WAY 100635 (10 µg/animal, i.v.) on the exhausted coital reflex. The sixth group was employed to evaluate the effect of pre-treatment with WAY 100635 (10 µg/animal, i.v.) on the 8-OH-DPAT induced response (10 µg/animal, i.v.).

2.3. Surgical procedures

All animals were laparatomised, under urethane anaesthesia (0.7 g/kg, i.p.), by a single midline incision to expose the pelvic urethra. Animals were implanted with a PE-50 catheter (0.965 mm OD) inserted into the pelvic urethra via a bladder incision. The catheter was firmly tied to the bladder neck and connected to a Harvard syringe pump, attached to a three valves stopcock connected to a pressure transducer. Two platinum wires were inserted into the bulbospongiosus muscles to record electromyographic (EMG) activity. The wires (Grass) were connected to a polygraph (Grass M7) for conventional recording. An additional surgery was practised in the medial portion of the leg to locate the femoral vein for drug administration. After this procedure, the vein was exposed and prepared for the infusion of the selected drugs. At the end of each surgical approach, in all animals, the spinal cord was blunt transected at T6 level and prepared for recording.

2.4. Activation of the coital reflex

In all animals, reflex responses were evoked by mechanical stimulation of the pelvic urethra. Stimulation was carried out by injecting saline solution (200 µl/min) through the catheter during 10 s. The coital reflex was elicited at 3 min intervals.

2.5. Drugs

8-hydroxy-di-propyl amino tetraline (8-OH-DPAT) (SIGMA) and *N*-[2-[4-(2-methoxyphenyl)-1-piperazinyl]ethyl]-*N*-2-pyridinyl-cyclohexane-carboxamide maleate (WAY 100635) (RBI) were dissolved in physiological saline solution (0.4 ml/rat). Vehicle (physiological saline solution), 8-OH-DPAT and WAY 100635 were intravenously applied immediately after exhaustion of the coital reflex. Doses were selected on the basis of previous data [17].

2.6. Data analysis

The parameters recorded for each motor response were number of motor patterns, latency to the appear-

ance of the motor response and number and frequency of EMG bursts. All numerical values were expressed as means \pm SE. Mean values were calculated for each animal and quantitative comparisons between groups were calculated from these means. For the analysis of the development of the coital reflex exhaustion, a one-way ANOVA for repeated measurements (RMANOVA) followed by the Tukey test, when necessary, were used. Independent groups were compared by means of a Kruskal–Wallis ANOVA followed by the Mann–Whitney *U* test. The Sigma Stat program (version 2.03) was used for all statistical analyses.

3. Experiment 1: Features of coital reflex exhaustion

As previously reported, in the spinal preparation, the exhaustion of the coital reflex could be induced by repetitive mechanical stimulation of genital structures [7]. In the present experiment, in a group of rats (group 1), exhaustion of the coital reflex was induced by repeated mechanical stimulation of the urethra. Thus, after spinalisation, the coital reflex was repeatedly evoked by mechanically stimulating the urethra at 3 min intervals, during a period of at least 40 min. During this period, once the first reflexive response was evoked, the stimulation protocol continued until exhaustion (6–7 evoked responses). We established as a criterion to consider the ejaculatory-like reflex exhausted the incapacity of the spinal cord to show the motor pattern of the coital reflex upon urethral stimulation after its repeated elicitation. Thus, once the spinal apparatus ceased to express the motor pattern of the coital reflex in response to stimulation, a resting period of 10 min was left. Thereafter, the urethra was stimulated two more times to assure that it stopped responding. At this moment, the stimulation protocol was finished and the coital reflex was considered as exhausted.

4. Experiment 2: Effect of 8-OH-DPAT on the exhausted coital reflex

For this experiment, the animals were divided into three independent groups (group 2–4, $n = 8$ each). All animals in all groups were subjected to the coital reflex exhaustion paradigm. Once the coital reflex was exhausted, animals in group 2 received a single i.v. injection of 10 μ g 8-OH-DPAT, those in group 3 a unique dose of 20 μ g of the 5-HT_{2A} agonist and group 4 the vehicle (saline solution, 0.4 ml rat). After the application of each treatment, motor responses were registered.

5. Experiment 3: Effect of WAY 100635 pre-treatment upon the 8-OH-DPAT-induced motor pattern

In this experiment sixteen animals, divided into two groups (groups 5 and 6) were used. In the first group the effect of treatment with WAY 100635 (10 μ g animal, i.v.) upon the exhausted coital reflex was analysed (group 5). The second group (group 6) was used to test the effect of the application of a unique dose of WAY 100635 (10 μ g/animal, i.v.) previous to the injection of a single dose of 8-OH-DPAT (10 μ g/animal, i.v.) upon the exhausted coital reflex.

6. Results

6.1. Experiment 1: Features of coital reflex exhaustion

The muscular pattern of the coital reflex, evoked by mechanical stimulation of the urethra, consisted of a complex motor response that included a first muscular train followed by after-discharge activity (see Fig. 1A). This motor pattern was associated with potent expulsion of the urethral content (ejaculation) and strong brief erections and clusters of sexual reflexes. As previously described, this motor pattern could be exhausted when repeatedly evoked [7]. The exhaustion phenomenon was observed in all animals tested. A change in the features of this motor pattern initiated immediately after the elicitation of the first reflex response. From a general point of view, these changes consisted of (1) a progressive diminution in the number of bursts in the after-discharge response; and (2) a change in the properties of the motor pattern itself (Fig. 1B–E).

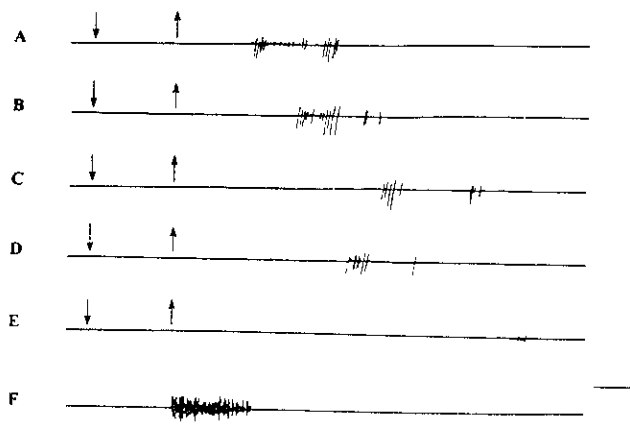


Fig. 1. EMG recording of the bulbospongiosus muscle during repeated mechanical stimulation of the urethra until exhaustion (A–E) and in response to 10 μ g 8-OH-DPAT after exhaustion (F). Arrows indicate the mechanical stimulation period and their size corresponds directly upon a stimulation by 50 μ N/s.

Table 1
Development of coital reflex exhaustion. Comparison of the parameters among the first five evoked coital reflexes recorded during the exhaustion process

| Number of evoked motor pattern | Latency | Number of bursts | Frequency of discharge |
|--------------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|
| First | 8.08 ± 1.39 | 6.88 ± 0.77 | 1.63 ± 0.14 |
| Second | 10.14 ± 1.39 | 6.00 ± 0.54 | 1.75 ± 0.08 |
| Third | 12.28 ± 2.38 | 5.63 ± 0.71 | 1.70 ± 0.08 |
| Fourth | 14.24 ± 3.07 | 5.75 ± 0.65 | 1.19 ± 0.13 ^c |
| Fifth | 17.03 ± 3.23 ^a | 4.00 ± 0.33 ^b | 1.36 ± 0.17 |

^a Latency: Tukey test versus first response, $P < 0.002$, versus second response, $P < 0.05$.

^b Number of bursts: Tukey test versus first response, $P < 0.001$, versus second response, $P < 0.02$; versus fourth response, $P < 0.05$.

^c Frequency of discharge: Tukey test versus second response, $P < 0.02$; versus third response, $P < 0.05$.

Exhaustion of the coital reflex was a progressive event that allowed the elicitation of a mean number of 6.6 genital motor responses prior to exhaustion. This number of motor patterns was not constant for all animals. Thus, in some rats the response disappeared after the elicitation of five reflexes, while in the opposite limit animals were able to show up to 11 responses. In each individual animal the first reflexive response was the strongest and the last the weakest, independently of the number of responses exhibited by individual subjects. Analysis of the first five sequential reflexive responses revealed that the development of coital reflex exhaustion was initiated with a progressive increase in the latency of response and a progressive diminution in the number of bursts in the after-discharge component. Table 1 shows a comparison of the parameters of the first 5 evoked motor patterns. Since the first muscular train was observed in all evoked responses and given that the after-discharge activity showed not to be constant (this activity was present only in the first two or three motor responses), the present study included only the analysis of the parameters of the first muscular train. The analysis of variance for repeated measures (RMANOVA) revealed the existence of statistically significant differences in all registered measures during coital reflex exhaustion (One way RMANOVA $P = 0.002$ for latency, $P = 0.001$ for number of bursts and $P = 0.006$ for frequency of discharge). As it can be seen in Table 1, the increase in the latency of response became statistically significant in the fifth evoked response when compared with the first and the second responses. Besides, the change in the properties of the motor pattern itself was reflected in a progressive diminution in the number of bursts. Thus, the decrease in the number of bursts in the fifth train reached statistical significance when compared with the first, second and fourth ones. In relation to the frequency of discharge, a slight increase, not reaching statistical significance, was observed in the second and third responses. After this, the frequency of discharge was diminished in the fourth and fifth evoked responses. This diminution was statistically significant for the

fourth response when compared to the second and third ones. It is important to mention that expulsion of the urethral content and penile movements accompanying these motor patterns, were also progressively attenuated until disappearing.

6.2. Experiment 2: Effect of 8-OH-DPAT on the exhausted coital reflex

The data obtained in this experiment showed that administration of saline solution did not induce coital reflex expression in any animal after exhaustion of this reflex. Intravenous administration of 8-OH-DPAT (10 or 20 $\mu\text{g}/\text{rat}$) provoked the immediate expression of a motor pattern similar to that observed during the coital reflex prior to exhaustion, but in the absence of mechanical stimulation to genital structures. This motor pattern, although more potent, also consisted of rhythmic contractions of the genital muscles, strong expulsion of the urethral content, phasic penile erections and clusters of sexual reflexes (flips and cups).

Despite its similitude with the coital response reflexively obtained, the electromyographic response recorded during the expression of the pharmacologically-induced genital motor pattern consisted of a unique train of muscular contractions without after-discharge activity (see Fig. 1F). Comparisons between the first and the last mechanically evoked responses prior to exhaustion and those elicited by 8-OH-DPAT treatment after exhaustion were conducted for each group. Table 2 shows the values for all registered parameters. Thus, i.v. injection of either dose of 8-OH-DPAT (10 or 20 $\mu\text{g}/\text{animal}$) provoked the immediate expression of the motor pattern. Therefore, the latencies to the appearance of the motor response in both cases were zero and significantly different from their respective first and last evoked responses prior to exhaustion (One way RMANOVA, $P \leq 0.001$ for both doses). As it can be seen in Table 2, the number of bursts augmented in response to 8-OH-DPAT treatment (One way RMANOVA $P = 0.034$ for the low dose, $P = 0.001$ for the high dose). With the low dose of the agonist this

increase was statistically significant when compared with the last reflexively evoked response. With the high dose of 8-OH-DPAT, the number of bursts significantly increased as compared with their respective first and last evoked responses. As to the frequency of discharge, 8-OH-DPAT injection significantly augmented this parameter at both dose levels (One way RMANOVA $P = 0.020$ and 0.023 for the low and high doses, respectively). Comparisons among the responses revealed that these increases were statistically significant when compared with their respective first and last reflex responses (see Table 2).

6.3. Experiment 3: Effect of WAY 100635 pre-treatment upon the 8-OH-DPAT-induced motor pattern

6.3.1. Effects of WAY 100635 upon the exhausted coital reflex

In this experiment it was found that systemic administration of $10 \mu\text{g}$ of the 5-HT_{1A} antagonist WAY 100635 induced, per se, the expression of the coital reflex after its exhaustion. The motor pattern recorded consisted again of rhythmic contractions of the genital muscles, strong expulsion of the urethral content and penile responses including flips and cups. This genital motor pattern was immediately expressed in response to WAY 100635 injection. Thus, its latency of response was zero and statistically different from the latencies of the first and the last reflexively evoked responses prior to exhaustion (One way RMANOVA $P \leq 0.001$). Also, the number of discharges obtained after the antagonist administration were statistically different from those registered during the first response reflexively obtained (One way RMANOVA $P = 0.007$). The frequency of discharge among tests was similar between responses and no significant differences were found (One way

RMANOVA, $P = 0.416$). Table 3 summarises the values of the different parameters recorded in response to WAY 100635 treatment.

6.3.2. Effect of WAY 100635 pre-treatment on the 8-OH-DPAT-induced response

Since the dose of WAY 100635 used was able to induce the expression of the motor pattern of the coital reflex, per se, animals were allowed to exhibit this response before injecting 8-OH-DPAT. Sequential administration of both drugs after coital reflex exhaustion induced again the immediate expression of the motor pattern with a latency of response of zero. The parameters of the motor pattern recorded after this combined treatment (group 6) were compared with those obtained after WAY 100635 alone (group 5) and those produced by the same dose of 8-OH-DPAT alone (group 2). The analysis of variance revealed statistically significant differences among treatments (Kruskal–Wallis one way ANOVA, $P = 0.001$ for number of bursts and $P = 0.002$ for frequency of discharge). Post hoc analyses showed no statistically significant differences when comparing the effects of WAY 100635 plus 8-OH-DPAT with those of WAY 100635 alone in any of the parameters recorded (latency, number of bursts or frequency of discharge) (see Table 4). Comparison of the effects exerted by the combined treatment versus those obtained after the 5-HT_{1A} agonist alone, revealed a statistically significant diminution in both the number of bursts and the frequency of discharge in the motor patterns recorded after the combined treatment. Since the latency of response to all administered drugs was zero, no statistical differences were found in this parameter among treatments (Table 4). Fig. 2 depicts sample tracings of the motor patterns obtained with each of these treatments (C–E).

Table 2

Comparison of all registered parameters during the first and the last mechanically evoked responses prior to exhaustion and those elicited by 8-OH-DPAT treatment after exhaustion*

| | Parameter | First evoked response | Last evoked response | Induced response |
|-----------------|------------------------|-----------------------|----------------------|------------------------|
| Saline solution | Latency | 13.11 ± 2.64 | 24.29 ± 1.75 | EXHAUSTION |
| | Number of bursts | 7.88 ± 0.58 | 4.00 ± 0.38 | - |
| | Frequency of discharge | 1.71 ± 0.14 | 1.12 ± 0.088 | - |
| 8-OH-DPAT 10 | Latency | 6.45 ± 1.06 | 13.93 ± 1.89 | EXHAUSTION $0^{a,b}$ |
| | Number of bursts | 7.38 ± 1.54 | 3.88 ± 0.35 | 15.63 ± 5.61^c |
| | Frequency of discharge | 1.65 ± 0.15 | 1.63 ± 0.19 | $3.20 \pm 0.60^{c,s}$ |
| 8-OH-DPAT 20 | Latency | 6.28 ± 1.00 | 18.70 ± 1.81 | EXHAUSTION $0^{a,b}$ |
| | Number of bursts | 5.63 ± 1.27 | 2.63 ± 0.42 | $10.63 \pm 1.25^{c,s}$ |
| | Frequency of discharge | 1.45 ± 0.15 | 1.41 ± 0.13 | $2.16 \pm 0.23^{c,s}$ |

* 8-OH-DPAT ($10 \mu\text{g}$) Latency: Tukey test vs. first response $^a P < 0.01$, vs. last response $^b P < 0.001$. Number of bursts: Tukey test vs. last response $^c P < 0.05$. Frequency of discharge: Tukey test vs. first and vs. last response $^s P < 0.05$. 8-OH-DPAT ($20 \mu\text{g}$) Latency: Tukey test vs. first response $^a P < 0.001$, vs. last response $^b P < 0.01$. Number of bursts: Tukey test vs. first and vs. last response $^c P < 0.001$. Frequency of discharge: Tukey test vs. first and vs. last response $^s P < 0.05$.

Table 3
Comparison of the different parameters recorded during the first and last reflexively evoked motor patterns and those obtained in response to WAY 100635 treatment*

| Parameter | First evoked response | Last evoked response | WAY 100635 (10 µg) |
|------------------------|-----------------------|----------------------|--------------------------------|
| Latency | 7.68 ± 1.12 | 12.60 ± 2.57 | EXHAUSTION 0 ^{a,b} |
| Number of bursts | 5.38 ± 0.87 | 2.38 ± 0.32 | 3.00 ± 0.27 ^c |
| Frequency of discharge | 1.25 ± 0.11 | 1.04 ± 0.12 | 1.29 ± 0.19 |

* Latency: Tukey test vs first response ^b $P < 0.01$, vs. last response ^a $P < 0.001$. Number of bursts: Tukey test vs. first response ^c $P < 0.05$.

7. Discussion

The main findings of the present series of experiments could be summarised as follows:

(a) Exhaustion of the coital reflex in the spinal male rat is accomplished after the elicitation of a median number of seven motor patterns. The exhaustion process is characterised by an exponential increase in the latency to its expression and a significant decrease in the number and frequency of EMG bursts; (b) The inhibition of the motor pattern expression, resulting from exhaustion of the coital reflex, can be pharmacologically reversed; (c) The 5-HT_{1A} receptor subtype appears to be involved in the regulation of coital reflex expression, indicating that the spinal serotonergic system participates in the establishment of the inhibition resulting from exhaustion of coital reflex.

Previous studies have suggested that some motor features of the sexual act i.e. erection and ejaculation, are expressed in the coital reflex model [7,21,22]. In line with this idea, in a previous study using this preparation, we reported that the genital motor pattern evoked in animals subjected to repeated genital stimulation becomes exhausted [7]. A possible relationship between the sexual exhaustion phenomenon in copulating rats and exhaustion of the genital motor pattern, based on the similar number of responses that precede both exhaustion phenomena, was suggested in that work [7]. The results of the present study reinforce that notion. Present data show that exhaustion of the coital reflex is characterised by a progressive increase in the response latency and by a change in the properties of the muscular train reflected as a progressive diminution in the number and frequency of discharges. These changes could be related to those observed during the development of sexual exhaustion in copulating rats, i.e. a decrease in the number of intromissions and an exponential increase in the length of the postejaculatory interval [24]. Thus, modification of the genital motor responses in spinal animals, after repeated reflexively evoked expulsion of urethral contents (ejaculation) until exhaustion, could reflect a progressive diminution in the capacity of the spinal apparatus to activate the genital muscles allowing erection and ejaculation in behaving males as they advance towards exhaustion. In line with

this interpretation, longer intromissions and abortive ejaculatory motor patterns are observed (unpublished data) in copulating males, as sexual exhaustion approaches.

An interesting feature of genital motor pattern exhaustion is the progressive increase in the latency of response. This phenomenon is similar to the progressive increase in the duration of the postejaculatory interval (PEI) observed in copulating males with each successive ejaculation during sexual exhaustion development [6,16,24], suggesting that it could have a spinal component.

This possibility has been already explored using ex-copula responses. Thus, Hart [14,15] reported a progressive reduction in the number of ex-copula penile reflexes in spinal males when repeatedly evoked, that returned to normal levels after a 24 h resting period. Likewise, Sachs and Garinello (cited in [26]) testing ex-copula reflexes immediately after sexual exhaustion, found a similar reduction in its number, that returned to levels of well-rested males 8 h later. The conclusion of both groups of authors was that recovery from presumed spinal refractoriness plays little role in regulating the recovery from sexual exhaustion [14,15,26]. This conclusion might, however, not be straightforward since a paradigm that involves the expression of erectile, but not ejaculatory responses was used to explore the potential relationship between the expression of sexual reflexes and the role of the spinal cord in the establishment of sexual satiation. Sexual exhaustion in copulating male rats is a phenomenon that entirely depends on repeated ejaculation. In this sense, exhaustion of the genital motor pattern, elicited by urethral stimulation and involving ejaculatory responses could be more directly associated to sexual exhaustion in male rats.

Present findings provide the first detailed physiological description of a phenomenon probably related to sexual exhaustion, involving ejaculatory-like actions, in an acute spinal model.

Serotonin plays an important role in the mediation of male sexual behaviour expression [2,11,27]. It is generally accepted that this neurotransmitter system inhibits male sexual behaviour by acting at certain receptor subtypes, such as the 5-HT_{1B} and 5-HT₂ [5,11,12]

Table 4
Comparison of the motor pattern parameters recorded in the bulbospongiosus muscle in response to 8-OH-DPAT or WAY 100635 alone and after the combined treatment with both drugs

| Parameter | 8-OH-DPAT (10 µg) | WAY 100635 (10 µg) | WAY 100635 (10 µg) plus 8-OH-DPAT (10 µg) |
|------------------------|-------------------|---------------------------|---|
| Latency | 0 | 0 | 0 |
| Number of bursts | 15.63 ± 5.61 | 2.88 ± 0.55 ^a | 2.75 ± 0.62 ^a |
| Frequency of discharge | 3.20 ± 0.60 | 1.15 ± 0.087 ^b | 1.14 ± 0.11 ^b |

^a Number of bursts: Mann-Whitney *U* test vs. 8-OH-DPAT alone $P < 0.001$; $P < 0.002$.

^b Frequency of discharge: Mann-Whitney *U* test vs. 8-OH-DPAT alone $P < 0.01$; $P < 0.001$.

However, activation of the 5-HT_{1A} receptor subtype facilitates the expression of copulatory behaviour by drastically reducing the number of mounts and intromissions that precede ejaculation, as well as the ejaculation latency [1–4,10]. Besides, 8-OH-DPAT, an agonist to the 5-HT_{1A} receptor subtype can reverse sexual exhaustion in copulating male rats [24,25]. The basis of this facilitation, however, is still not clear. It might be proposed that sexual exhaustion is related to the incapacity of the spinal cord to express the genital motor pattern, due to its exhaustion and that 8-OH-DPAT could act at the spinal level to exert its facilitatory effects. It has been demonstrated that 8-OH-DPAT mainly affects the consummatory component of masculine sexual behaviour [24] by lowering the ejaculatory threshold, although it also stimulates specific aspects of sexual arousal [27]. Local application of 8-OH-DPAT at the lumbosacral spinal cord also induces a lowering of the ejaculatory threshold [17]. Moreover, it has been shown that the spinal motor nucleus controlling masculine sexual function expresses 5-HT_{1A} autoradiographic activity [29]. Present data showing that 8-OH-DPAT administration reverses the exhaustion of the coital reflex suggest that the effects of this drug upon the consummatory component of masculine sexual behaviour might be exerted directly at the ejaculatory circuitry and at least partially, modulated by the spinal cord. However, as Ahlenius and colleagues pointed, the effect of this drug can probably not be reduced to a simple sensory-motor facilitation, and may rather have a motivational component, affecting the initiation as well as performance of the behaviour [2].

An unexpected result of the present study was the observation that intravenous administration of WAY 100635 to animals showing exhaustion of the coital reflex also induces the expression of the genital motor pattern. WAY 100635 is considered as a specific 5-HT_{1A} receptor antagonist and therefore no response to its injection was expected. Notwithstanding, the WAY 100635-induced genital motor pattern was qualitatively different from that induced by 8-OH-DPAT. The number of bursts and frequency of discharges, observed after this 5-HT_{1A} antagonist, were not different from those recorded during the last reflexively evoked response prior to exhaustion. By contrast, 8-OH-DPAT induced a potent motor

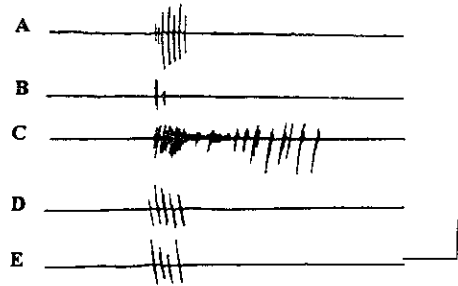


Fig. 2. Sample EMG tracings showing the first motor train during a first: (A) and a last: (B) reflexively evoked response prior to exhaustion and (C) 8-OH-DPAT (10 µg)-, (D) WAY 100635 (10 µg)-, (E) WAY 100635 (10 µg) plus 8-OH-DPAT (10 µg)-induced responses after exhaustion of the coital reflex. Calibration bar 50 mV, 5 s.

response characterised by an increased number of bursts and frequency of discharge as compared to pre-exhaustion responses.

Sequential treatment with WAY 100635 followed by 8-OH-DPAT induced a motor pattern indistinguishable from that obtained after WAY 100635 alone, but clearly different from the response obtained after 8-OH-DPAT alone. Thus, it appears that WAY 100635 pre-treatment effectively antagonised the 8-OH-DPAT-induced response, and that the motor pattern recorded was attributable to WAY 100635 activity. This last response might be explained either by a putative intrinsic efficacy of this antagonist at 5-HT_{1A} receptors or by considering the recently ascribed pharmacological actions of this drug upon α_{1D} adrenoceptors [28], which are also implicated in male sexual responses [9,23]. However, specific experiments to test these possibilities are needed.

Altogether, these data suggest the participation of the spinal serotonergic system in the mediation of the inhibition of the coital reflex at exhaustion, as well as an involvement of 5-HT_{1A} receptors in its reversal.

Acknowledgements

We would like to thank Dr Silvia Cruz for the access to her laboratory facilities. We also want to acknowledge Raul Cardoso for preparation of the figures and Victor Flores for animal care.

References

- [1] Ahlenius S, Larsson K. Evidence for a unique pharmacological profile of 8-OH-DPAT by evaluation of its effects on male sexual behaviour. In: Dourish CT, Ahlenius S, Hutson PH, editors. *Brain 5-HT1A receptors*. Chichester England: Ellis Horwood, 1987:185–98.
- [2] Ahlenius S, Larsson K. New aspects on the serotonergic modulation of male rat sexual behaviour. In: Bevan P, Cools AR, Archer T, editors. *Behavioural Pharmacology of 5-HT*. Hillsdale, New Jersey, Lawrence Erlbaum, 1989:35–54.
- [3] Ahlenius S, Larsson K, Arvidsson LE. Effects of stereoselective 5-HT1A agonist on male sexual behaviour. *Pharmacol Biochem Behav* 1989;33:691–5.
- [4] Ahlenius S, Larsson K. Specific involvement of central 5-HT1A receptors in the mediation of male rat ejaculatory behaviour. *Neurochem Res* 1997;22:1065–70.
- [5] Ahlenius S, Larsson K. Evidence for an involvement of 5-HT1B receptors in the inhibition of male rat ejaculatory behaviour produced by 5-HTP. *Psychopharmacol* 1998;137:374–82.
- [6] Beach FA, Jordan L. Sexual exhaustion and recovery in the male rat. *Q J Exp Psychol* 1956;8:121–33.
- [7] Carro-Juárez M, Rodríguez-Manzo G. Sensory and motor aspects of the coital reflex in the spinal male rat. *Behav Brain Res* 2000;108:97–103.
- [8] Chung SK, McVary KT, McKenna KE. Sexual reflexes in male and female rats. *Neurosci Lett* 1988;94:343–8.
- [9] Clark JT, Karla SP, Karla PS. Effects of a selective alpha 1-adrenoceptor agonist, methoxamine, on sexual behaviour and penile reflexes. *Physiol Behav* 1987;40:747–53.
- [10] Dahlöf LG, Ahlenius S, Larsson K. Copulatory performance of penile desensitized male rats following the administration of 8-OH-DPAT. *Physiol Behav* 1988;43:841–3.
- [11] Fernández-Guasti A, Escalante A, Agmo A. Inhibitory action of various 5-HT1B receptor antagonists agonist on rat masculine sexual behaviour. *Pharmacol Biochem Behav* 1989;34:811–6.
- [12] Fernández-Guasti A, Rodríguez-Manzo G. Further evidence showing that the inhibitory action of serotonin on rat masculine sexual behaviour is mediated after the stimulation of 5-HT1B receptors. *Pharmacol Biochem Behav* 1992;42:529–33.
- [13] Finberg JPM, Vardi Y. Inhibitory effect of 5-hydroxytryptamine on penile erectile function in the rat. *Br J Pharmacol* 1990;101:698–702.
- [14] Hart BL. Testosterone regulation of sexual reflexes in spinal male rats. *Science* 1967;155:1283–4.
- [15] Hart BL. Sexual reflexes and mating behaviour in the male rat. *J Comp Physiol Psychol* 1968;65:453–60.
- [16] Larsson K. Conditioning and sexual behaviour in the male albino rat. Stockholm: Almqvist and Wiksell, 1956:269.
- [17] Lee RL, Smith ER, Mas M, Davison JM. Effect of intrathecal administration of 8-OH-DPAT on genital reflexes and mating behaviour in male rats. *Physiol Behav* 1990;47:665–9.
- [18] Marson L, McKenna KE. A role for 5-hydroxytryptamine in descending inhibition of spinal sexual reflexes. *Exp Brain Res* 1992;88:313–20.
- [19] Marson L, List M, McKenna KE. Lesions of the nucleus paragigantocellularis alter copula penile reflexes. *Brain Res* 1992;592:187–92.
- [20] Marson L, McKenna KE. Serotonergic neurotoxic lesions facilitate male sexual reflexes. *Pharmacol Biochem Behav* 1994;47:883–8.
- [21] McKenna KE, Chung SK, McVary KT. A model for the study of sexual function in anesthetized male and female rats. *Am J Physiol* 1991;261:1276–85.
- [22] Pescatori ES, Calabro A, Artubani W, Pagano F, Tribani C, Italiano G. Electrical stimulation of the dorsal nerve of the penis evokes reflex tonic erections of the penile body and reflex ejaculatory responses in the spinal rat. *J Urol* 1993;149:627–32.
- [23] Rampin O. Pharmacology of alpha-adrenoceptors in male sexual function. *Eur Urol* 1999;36:103–6.
- [24] Rodríguez-Manzo G, Fernández-Guasti A. Reversal of sexual exhaustion by serotonergic and noradrenergic agents. *Behav Brain Res* 1994;62:127–34.
- [25] Rodríguez-Manzo G, Fernández-Guasti A. Participation of the central noradrenergic system in the reestablishment of copulatory behaviour of sexually exhausted rats by yohimbine, naloxone, and 8-OH-DPAT. *Brain Res Bull* 1995;38:399–404.
- [26] Sachs BD, Barfield R. Functional analysis of masculine copulatory behaviour in the rat. *Adv Stud Behav* 1976;7:91–154.
- [27] Schnur SL, Smith ER, Lee RL, Mas M, Davidson JM. A component analysis of the effects of DPAT on male rat sexual behaviour. *Physiol Behav* 1989;45:897–901.
- [28] Testa R, Guarneri L, Poggesi E, Angelico P, Velasco M, Ibba A, Cilia A, Motta G, Riva C, Leonardi A. Effect of several 5-Hydroxytryptamine 1A receptor ligands on the micturition reflex in rats: comparison with WAY 100635. *J Pharmacol Exp Ther* 1999;290:1258–69.
- [29] Thor KB, Nickolaus S, Helke CJ. Autoradiographic localization of 5-hydroxytryptamine 1A, 5-hydroxytryptamine 1B and 5-hydroxytryptamine 1C,2 binding sites in the rat spinal cord. *Neuroscience* 1993;55:235–52.

CAPITULO 5

LA FATIGA DEL REFLEJO COITAL EN LA RATA MACHO ES REVERTIDA
POR YOHIMBINA

LA FATIGA DEL REFLEJO COITAL EN LA RATA MACHO ES REVERTIDA POR YOHIMBINA

Introducción

El sistema noradrenérgico participa importantemente en la regulación de la función sexual masculina. Los receptores α_2 (Clark y col., 1984), parecen jugar un papel preponderante en dicha regulación. Así, el bloqueo de estos receptores adrenérgicos por yohimbina, un antagonista α_2 , facilita marcadamente algunos parámetros de la conducta sexual masculina, cuando es aplicada agudamente (Goldberg and Robertson, 1983; Smith y col., 1987). Las ratas tratadas con yohimbina muestran un incremento en la motivación sexual (Clark y col., 1984) reflejado en un acortamiento del intervalo intercopulatorio, así como una disminución en las latencias de intromisión y de eyaculación (Clark y col., 1985; Koskinen y col., 1991). Por otro lado, la yohimbina también facilita la expresión de la conducta sexual en animales sexualmente saciados (Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti, 1994; 1995), pues revierte el estado inhibitorio que caracteriza a este fenómeno, a través de incrementar el porcentaje de animales saciados que montan, intromiten y logran eyacular. Estos datos sugieren que el sistema noradrenérgico está involucrado en la regulación de la expresión de la conducta sexual (Clark y col., 1984). Por otro lado, se ha reportado que los animales con lesión del sistema noradrenérgico central que son tratados con yohimbina, son capaces de mostrar el patrón motor conductual de la eyaculación aún con mayor intensidad que los animales intactos sugiriendo que los efectos farmacológicos de la yohimbina pueden ser ejercidos sobre otros receptores

centrales, además de aquellos localizados en las neuronas noradrenérgicas. Tomados en conjunto estos datos sugieren que la noradrenalina juega un papel importante en los eventos reflejos de la cópula, como es el caso de la eyaculación. A este respecto no existen estudios fisiológicos que describan la participación del sistema noradrenérgico en la actividad muscular que produce la expulsión del semen durante la eyaculación.

Como describimos en el capítulo anterior de la tesis, la fatiga del reflejo coital puede ser revertida farmacológicamente con drogas que revierten la saciedad sexual en animales conduciéndose libremente. Tal es el caso del agonista serotoninérgico 8-OH-DPAT. Se sabe que los sistemas serotoninérgico y noradrenérgico están involucrados en el establecimiento de la saciedad sexual en ratas copulando. El sistema noradrenérgico participa a través de sus receptores α_2 facilitando la expresión del patrón motor eyaculatorio. Así, es posible que la administración de antagonistas α_2 como la yohimbina sea capaz de revertir la fatiga del reflejo coital. El objetivo de la siguiente serie de experimentos fue determinar si la yohimbina revierte la fatiga del reflejo coital en ratas macho. Asimismo, se evaluó el efecto de la aplicación del agonista adrenérgico α_2 clonidina. Finalmente se analizó el efecto de la aplicación secuencial de este agonista seguido de la yohimbina sobre el reflejo coital fatigado con el objetivo de establecer si el efecto de la yohimbina era ejercido a través de los receptores adrenérgicos α_2 .

Material y Métodos

Animales.- Para este experimento se utilizaron 32 ratas macho sexualmente expertas de la cepa Wistar (300-350 g). Las ratas fueron alojadas en grupos de 4 animales por caja y se mantuvieron bajo un ciclo de luz-oscuridad invertido con 12:12 hrs, a 22° C, con acceso libre a alimento y agua.

Grupos.- Los animales fueron divididos en un grupo control y tres grupos experimentales. Todos los animales fueron sometidos a la evocación repetida del reflejo coital hasta la fatiga. El primer grupo experimental (G1) recibió una inyección de vehículo y sirvió como control. El segundo grupo (G2) (experimento 2) se utilizó para evaluar el efecto de la aplicación sistémica de yohimbina (10 µg/Kg, i.v.) sobre el reflejo coital previamente fatigado. Un tercer grupo experimental (G3) (experimento 3) fue utilizado para evaluar el efecto de la aplicación sistémica de clonidina (10 µg/Kg, i.v.) sobre el reflejo fatigado. En el cuarto grupo experimental (G4) (experimento 4) se evaluó el efecto de la aplicación intravenosa de clonidina (10 µg/Kg, i.v.) seguida de la aplicación de yohimbina (10 µg/Kg, i.v.) sobre la respuesta coital fatigada.

Procedimientos quirúrgicos.- Todos los procedimientos quirúrgicos fueron iguales a los descritos para los grupos experimentales que se utilizaron para la evaluación de los fármacos serotoninérgicos.

-Activación del reflejo coital.- El reflejo coital fue evocado a intervalos de tres minutos estimulando la uretra pélvica como se describe en los métodos en los capítulos 3 y 4.

-Drogas.- Se utilizaron yohimbina, antagonista α_2 (SIGMA), y clonidina, agonista α_2 (SIGMA). Las drogas fueron disueltas en agua destilada y preparadas minutos antes de su administración. Las dosis de las drogas fueron seleccionadas con base en estudios previos.

-Análisis de los datos.- Los parámetros registrados para cada respuesta motora fueron: número de patrones motores, frecuencia de descarga y número de descargas. Todos los valores numéricos se expresaron como media y error estandar. Se calcularon los valores promedio para cada animal y se hizo una comparación cuantitativa entre las medias de los grupos. Se hizo una comparación entre los grupos aplicando la prueba de Kruskall-Wallis (ANOVA no paramétrica) seguido de una prueba de Tukey para análisis pos hoc. Se hizo además la comparación de grupos independientes usando la prueba U de Mann-Whitney. Para el análisis estadístico de los datos, se utilizó el programa Sigma Stat (versión 2.03).

RESULTADOS

Experimento 1. Efecto de la aplicación de yohimbina sobre el reflejo coital fatigado.- La administración de yohimbina a animales con fatiga del reflejo coital provocó la aparición inmediata de un patrón motor semejante a aquel observado durante el reflejo coital y al observado después de la administración de 8-OH-DPAT, pero en ausencia de estimulación mecánica. Este patrón motor único consistió de contracciones rítmicas de los músculos genitales, expulsión potente del contenido uretral y erecciones peneanas fásicas.

En los animales de este grupo se encontró que la latencia promedio a la primera respuesta refleja evocada fue de 7.47 ± 1.95 segundos. La latencia promedio de la última respuesta fue de 12.48 ± 1.70 segundos. Las latencias registradas en la primera y última respuesta no fueron diferentes estadísticamente entre sí. La respuesta inducida por la aplicación sistémica de yohimbina apareció inmediatamente (latencia = 0 seg) y se encontraron diferencias estadísticamente significativas cuando se comparó esta respuesta con la latencia a la primera ($p < 0.001$, ANOVA Kruskal-Wallis) y la última ($***p < 0.001$, ANOVA Kruskal-Wallis, prueba de Tukey) respuestas (Tabla 1).

El número de descargas para la primera respuesta evocada fue de 7.37 ± 0.75 descargas en promedio y 3.50 ± 0.37 descargas para la última respuesta respectivamente. Se encontraron diferencias significativas estadísticamente entre los promedios de la primera y la última respuestas ($***p < 0.001$; ANOVA Kruskal-Wallis, prueba de Tukey). Después de la fatiga, la administración de yohimbina indujo la expresión del patrón motor genital. Esta respuesta refleja

tren. Cuando se comparó el número promedio de descargas entre la primera respuesta refleja y la respuesta inducida, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (Tabla 1). Se observó sin embargo, un incremento significativo en el número de descargas en la respuesta inducida cuando se comparó con la última respuesta evocada (** $p < 0.001$, ANOVA Kruskal-Wallis, prueba de Tukey) (Tabla 1).

La frecuencia de descarga en la primera respuesta evocada fue de 1.46 ± 0.14 Hz en promedio. En la última respuesta evocada fue de 1.08 ± 0.09 Hz. Para este parámetro, no se encontraron diferencias significativas entre la primera y la última respuesta evocada. Tampoco se encontraron diferencias entre los promedios de la primera respuesta refleja, la última evocada y la respuesta inducida (Tabla 1).

Experimento 2.- Efecto de la aplicación de clonidina sobre el reflejo coital fatigado.- La administración sistémica de clonidina a animales con fatiga del reflejo coital, produjo la aparición inmediata de un patrón motor semejante al obtenido reflejamente y a aquél obtenido después de la administración de yohimbina. De la misma forma que con los tratamientos anteriormente descritos, esta respuesta apareció en ausencia de estimulación mecánica y solamente se pudo producir una sola vez ante el tratamiento con el fármaco. El patrón motor obtenido en respuesta a clonidina consistió de contracciones rítmicas de los músculos genitales, expulsión fuerte del contenido uretral y erecciones peneanas fásicas.

En este grupo, la latencia media a la primera respuesta evocada fue de 6.00 ± 1.25 segundos. La latencia promedio de la última respuesta fue de 10.32 ± 1.05 segundos. La latencia promedio a la respuesta inducida fue de 10.32 ± 1.05 segundos.

diferencias estadísticamente significativas cuando se comparó con el promedio de la primera respuesta evocada (Tabla 1). La respuesta motora inducida por la clonidina apareció inmediatamente después de su administración (latencia = 0 seg) y se encontraron diferencias estadísticamente significativas cuando se comparó esta respuesta con la latencia a la primera ($p < 0.001$, ANOVA Kruskal-Wallis, prueba de Tukey) y la última ($***p < 0.001$, ANOVA Kruskal-Wallis, prueba de Tukey) respuestas (Tabla 1).

El número promedio de descargas registrado en el primer patrón motor obtenido reflejante fue de 7.62 ± 0.76 descargas para la primera respuesta evocada. En la última respuesta evocada el promedio fue de 4.25 ± 0.52 descargas. El número promedio de descargas en la primera respuesta mostró ser diferente estadísticamente cuando se comparó con la última respuesta ($**p = 0.002$, ANOVA Kruskal-Wallis, prueba de Tukey) (Tabla 1). El número promedio de descargas obtenido en el patrón motor inducido por clonidina fue de 4.75 ± 0.62 descargas y significativamente menor al obtenido en la primera respuesta evocada ($**p = 0.002$ ANOVA Kruskal-Wallis, prueba de Tukey) (Tabla 1).

La primera respuesta refleja mostró en promedio una frecuencia de descarga de 1.31 ± 0.19 Hz, y para la última fue de 1.24 ± 0.10 Hz. Después de la fatiga, la respuesta inducida por clonidina no mostró ser mayor en frecuencia comparado con la primera y con la última respuestas obtenidas reflejante siendo la frecuencia de la respuesta inducida de 1.16 ± 0.10 Hz en promedio (Tabla 1).

Los parámetros obtenidos en los experimentos 1 y 2 en respuesta a la yobimbina y la clonidina fueron comparados con los obtenidos en los experimentos 3 y 4 en respuesta a la yobimbina y la clonidina.

obtenidos en respuesta al agonista y al antagonista. Así, se encontró que el número promedio de descargas en la respuesta inducida por yohimbina fue significativamente mayor cuando se comparó con el número de descargas promedio obtenido en respuesta a clonidina ($p=0.007$, prueba U de Mann-Whitney). La frecuencia de descarga de la respuesta inducida por yohimbina no fue significativamente diferente de la obtenida en respuesta a clonidina.

Experimento 3.- Efecto del pretratamiento de clonidina seguido de la yohimbina sobre el patrón motor coital fatigado. En este experimento se observó que la aplicación sistémica de clonidina previa a la aplicación de yohimbina evitó que se expresara la respuesta inducida por el antagonista. Se observó que la aplicación de clonidina inducía per se, la expresión inmediata del patrón motor genital, por lo tanto, se dejó que esa respuesta se terminara de expresar y entonces se aplicaba la yohimbina. Así, la administración secuencial de la clonidina seguida de yohimbina no produjo ninguna respuesta. Esto indicó, que el agonista bloqueaba la respuesta inducida por el antagonista (Fig. 1).

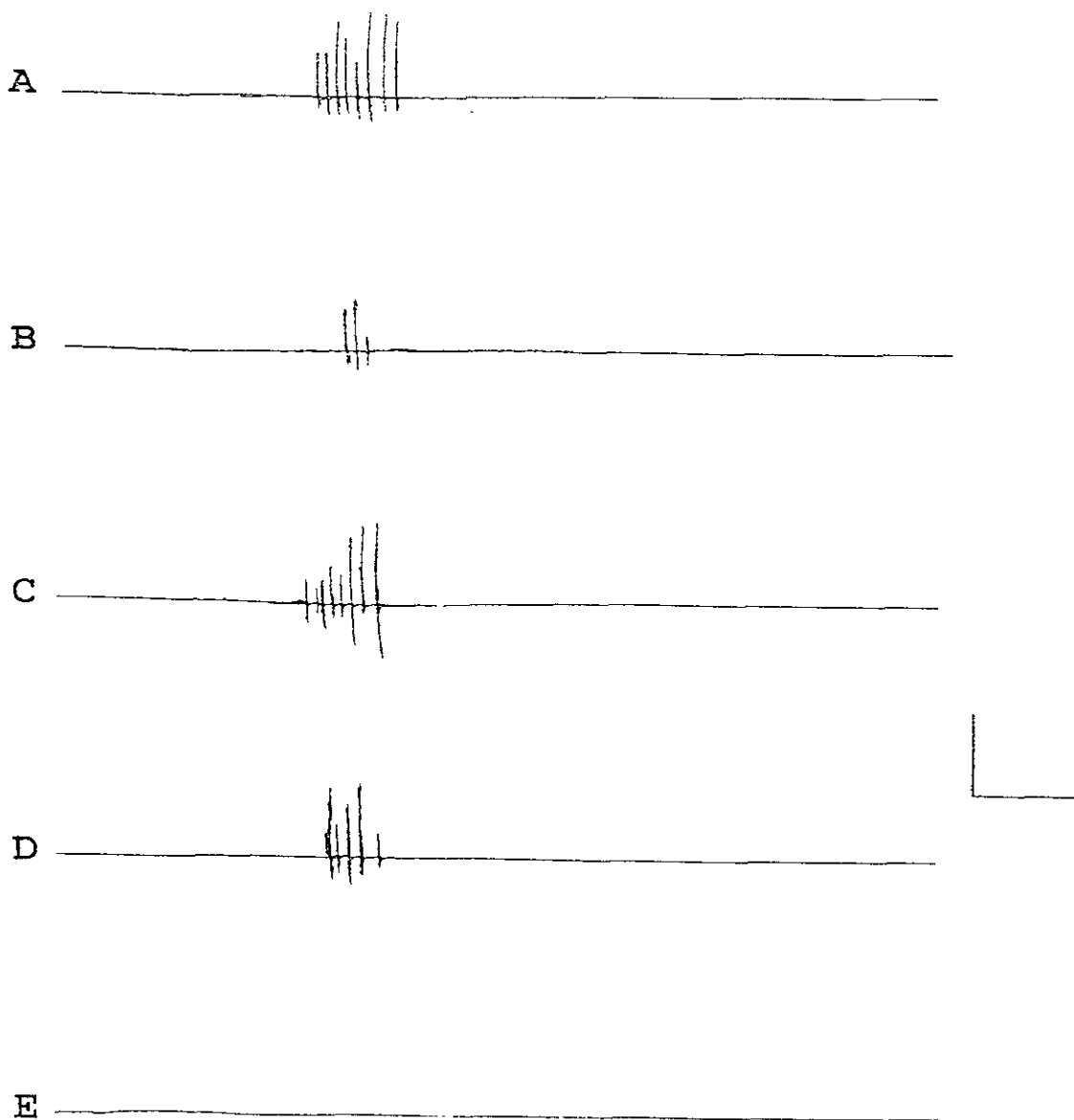


Fig 1. Trazos de registros EMG mostrando el primer tren motor durante la primera (A) y la última (B) respuesta refleja evocada previamente a la fatiga (C) a la administración de la yohimbina (10 μ g)- (D) de la clonidina (10 μ g)- (E) y de la clonidina (10 μ g) más la yohimbina (10 μ g) después de la fatiga del reflejo coital. Calibración 50 mV, 5 s.

Tabla 1. Comparación de todos los parámetros registrados durante las primeras y las últimas pruebas evocadas mecánicamente previas a la fatiga y aquellas obtenidas en respuesta a la aplicación de yohimbina y clonidina después de la fatiga.

| | Parámetro | Primera respuesta evocada | Última respuesta evocada | | Respuesta Inducida |
|----------------|------------------------|---------------------------|--------------------------|--------|--------------------------|
| Clonidina | Latencia | 13.11 ± 2.64 | 24.29 ± 1.75 | F A | - |
| | Número de descargas | 7.88 ± 0.58 | 4.00 ± 0.38 | T I | - |
| | Frecuencia de descarga | 1.71 ± 0.14 | 1.12 ± 0.088 | G A | - |
| Yohimbina 10µg | Latencia | 7.47 ± 1.95 | 12.48 ± 1.70 | F A | 0 ^a |
| | Número de descargas | 7.37 ± 0.75 | 3.50 ± 0.37 ^a | T I | 7.25 ± 0.45 ^a |
| | Frecuencia de descarga | 1.46 ± 0.14 | 1.08 ± 0.09 | G A | 1.37 ± 0.18 |
| Clonidina 10µg | Latencia | 6.00 ± 1.25 | 10.32 ± 1.05 | F A | 0 ^a |
| | Número de descargas | 7.62 ± 0.76 | 4.25 ± 0.52 ^b | T I | 4.75 ± 0.62 ^b |
| | Frecuencia de descarga | 1.31 ± 0.19 | 1.24 ± 0.19 | G A | 1.16 ± 0.10 |

Yohimbina (10µg). Latencia: prueba Tukey vs. Primera y última respuestas p<0.001. Número de descargas: prueba Tukey vs. Última respuesta^a p<0.001.

Clonidina (10µg). Latencia: prueba Tukey vs. Primera y última respuestas p<0.001. Número de descargas: prueba Tukey vs. Primera respuesta^b p=0.002.

DISCUSION

Los hallazgos del presente estudio muestran por primera vez que la fatiga del patrón motor genital puede ser revertida farmacológicamente con compuestos que actúan sobre el sistema noradrenérgico. Las principales conclusiones del presente estudio son que: a) yohimbina, a las dosis probadas, puede revertir la fatiga del reflejo coital, b) el sistema noradrenérgico localizado en la médula espinal, participa activamente en el proceso de fatiga y c) el sistema espinal noradrenérgico a través de sus receptores α_2 modula el establecimiento de este fenómeno.

En el capítulo anterior de la tesis propusimos que la fatiga del reflejo coital, resultante de la estimulación genital repetida, podría estar asociada al fenómeno de saciedad sexual descrito en ratas macho copulando. Esta conclusión está basada en algunas semejanzas entre ambos fenómenos. Una de las principales semejanzas es que la saciedad sexual se establece después de la expresión de siete series eyaculatorias en promedio, y la fatiga del reflejo coital se presenta después de evocar siete patrones motores en promedio. Otra semejanza es que ambos fenómenos pueden ser revertidos farmacológicamente por agentes serotoninérgicos que actúan sobre receptores 5-HT_{1A}.

Los sistemas serotoninérgico y noradrenérgico están involucrados activamente en la expresión de la saciedad sexual. El sistema serotoninérgico participa tanto en la expresión de los componentes no genitales (por ejemplo, la motivación) como en los componentes genitales de la conducta sexual (por ejemplo, la eyaculación). Sin embargo, del sistema noradrenérgico sólo se conoce parcialmente el papel que juega en la expresión de los componentes no genitales de la conducta sexual (Mousoy y Sachs, 1994). El papel que juega

este sistema de neurotransmisión en la expresión de los componentes genitales de la cópula no se ha analizado con anterioridad. Se ha demostrado que la yohimbina facilita la conducta copulatoria de la rata macho. Esta facilitación incluye un acortamiento de las latencias tanto de intromisión como eyaculatoria (Clark y col., 1985; Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti, 1994). Sin embargo, los efectos ejercidos por este sobre los componentes individuales de la conducta copulatoria varían. Por ejemplo, se ha mostrado que dosis de este fármaco que estimulan la motivación sexual en animales copulando tienen efectos inhibitorios sobre la erección y eyaculación ex-cópula (Smith y col., 1987). Estos datos sugieren que la erección y eyaculación in cópula y ex cópula son eventos distintos. Es importante aclarar que los estudios antes mencionados se han realizado en animales intactos y sin anestesiar y, que hasta el momento no se ha aclarado si los reflejos ex-cópula son equivalentes a los reflejos de erección y de eyaculación in-cópula. En el presente estudio, analizamos el efecto de la yohimbina sobre la reversión de la fatiga de la respuesta eyaculatoria, utilizando un modelo animal que se ha propuesto como el concomitante neural de la eyaculación (Mckenna y col., 1991; Carro-Juárez y Rodríguez-Manzo, 2000).

Nuestros datos muestran, que la yohimbina es capaz de revertir la fatiga del patrón motor genital, puesto que en respuesta a la aplicación de este antagonista, el reflejo coital vuelve a expresarse. Las características del patrón motor de esta respuesta son similares a las obtenidas durante la evocación de un primer reflejo coital y va acompañado de contracciones clónicas de los músculos genitales, de expulsión potente del contenido uretral y de movimientos penéanos rítmicos. Estos resultados representan el primer

estudio que sugiere que el sistema noradrenérgico podría estar involucrado en la expresión de algunos aspectos genitales relacionados con la saciedad sexual.

La yohimbina, caracterizada como un antagonista de los receptores adrenérgicos α_2 , es un compuesto que facilita la expresión de la conducta copulatoria de ratas macho intactas y sexualmente saciadas (Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti, 1994). Dicha facilitación incluye un aumento marcado en el porcentaje de animales que montan, intromiten y muestran el patrón conductual eyaculatorio (Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti, 1994; 1995; Fernández-Guasti y Rodríguez-Manzo, 1997). En estos estudios no se ha descrito detalladamente si la facilitación es ejercida únicamente sobre los componentes motivacionales o si también influyen los componentes consumatorios. Tampoco se ha descrito, si son afectados por este compuesto los componentes genitales de la cópula. Los resultados obtenidos con el paradigma de fatiga del reflejo coital, sugieren que dado que la yohimbina facilita la expresión del patrón motor genital, los efectos de este antagonista pudieran ser ejercidos, al menos parcialmente, sobre los componentes genitales de la eyaculación. Así, el sistema noradrenérgico central, a través de sus receptores en la médula espinal, parece estar involucrado en la expresión del patrón motor eyaculatorio.

A los adrenoceptores se les ha implicado tanto en procesos motivacionales como de ejecución de la conducta sexual masculina de la rata (Clark y col., 1985; Yonezawa y col., 1991; Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti, 1995, Rodríguez-Manzo, 1999). Por ejemplo, los adrenoceptores α_2 participan en el control de la motivación sexual en ratas macho (Clark y col., 1984) y se ha sugerido que la yohimbina

facilita dicha motivación aumentando la liberación de noradrenalina por bloqueo de los autorreceptores α_2 (Clark y col., 1985). Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti (1994) mostraron que en animales sexualmente saciados y con lesión neurotóxica del sistema noradrenérgico central, la aplicación sistémica de yohimbina sorprendentemente seguía produciendo sus efectos facilitatorios sobre la conducta sexual. Estos efectos facilitadores incluían el despliegue sucesivo del patrón conductual eyaculatorio en todos los animales estudiados, con lo que se sugirió que en estos animales la yohimbina, que se presume actúa principalmente en adrenoceptores localizados en terminales noradrenérgicas, ejerce algunos de sus efectos facilitatorios actuando sobre receptores α_2 localizados en las terminales nerviosas o somas de otras neuronas (heterorreceptores). Estos heterorreceptores podrían estar localizados en neuronas de la médula espinal.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo apoyan esta propuesta, ya que en animales con fatiga del reflejo coital, la aplicación sistémica de yohimbina permite que se exprese el patrón motor genital. De acuerdo con nuestros datos, Yonezawa y colaboradores (1991) mostraron en perros que la disminución de la capacidad eyaculatoria, inducida por eyaculación frecuente en animales intactos, puede ser revertida por la administración de yohimbina. Estos autores evaluaron la cantidad de eyaculado producido por estos animales, sin embargo, no analizaron la actividad muscular que produce la eyección. La salida del eyaculado depende fuertemente de las contracciones de los músculos genitales estriados. Por lo tanto, es posible que la disminución de la capacidad eyaculatoria registrada por esos autores fuera

debida a la fatiga del patrón motor eyaculatorio. En este sentido, los datos de nuestro estudio sugieren que la disminución en la capacidad eyaculatoria, inducida por eyaculación frecuente, puede ser debida a la fatiga del patrón motor genital que conduce a la eyección, y que el efecto facilitador de la yohimbina es sobre la eyaculación en general y no solamente sobre el volumen del eyaculado como sugería el autor.

En el presente estudio evaluamos también la especificidad del efecto de la yohimbina sobre los adrenoceptores α_2 . Dicha especificidad fue evaluada sobre el patrón motor fatigado aplicando un pretratamiento con clonidina, agonista α_2 , seguido de la aplicación de yohimbina (antagonista α_2). La clonidina es un compuesto que actúa como un agonista preferencialmente sobre adrenoceptores α_2 (Clark y col., 1991). Por lo tanto, supusimos que su administración previa a la de yohimbina bloquearía el efecto de esta última. Los datos obtenidos muestran que el tratamiento con clonidina, per se, indujo la expresión del patrón motor genital semejante a las obtenidas por yohimbina sola y a las obtenidas reflejamente por estimulación uretral. Por otro lado, la aplicación secuencial de clonidina y yohimbina en estos animales, no produjo ninguna respuesta motora. Así, parece que el pretratamiento con clonidina efectivamente antagonizó la respuesta inducida por la yohimbina, sugiriendo con esto, que este compuesto revierte la fatiga del patrón motor genital al actuar sobre los receptores α_2 adrenérgicos. Se ha mostrado que la clonidina atenúa los efectos facilitatorios de yohimbina sobre la expresión de la conducta sexual mediante una interacción competitiva (Clark y col., 1995).

Un resultado inesperado de este experimento fue que la aplicación de clonidina a animales con fatiga del reflejo coital indujera la expresión inmediata del patrón motor genital. Clark y col., (1985) han mostrado que en ratas macho, la administración sistémica de clonidina inhibe la motivación sexual al reducir el porcentaje de animales que montan e intromiten. Asimismo, disminuye la actividad copulatoria después de las montas o intromisiones al punto de eliminar la eyaculación produciendo un déficit en la conducta sexual, reflejado en un aumento en la duración de la latencia eyaculatoria, del intervalo intercopulatorio y del periodo posteyaculatorio. Los efectos de la administración de clonidina son mediados en parte, por adrenoceptores localizados dentro del área preóptica media (Clark, 1991). Estos autores evaluaron el efecto de clonidina analizando la conducta sexual sin hacer una clara distinción entre los aspectos genitales y los no genitales. Sin embargo, señalan que la clonidina afecta profundamente la conducta eyaculatoria. Es importante distinguir entre el evento eyaculatorio (aspecto fisiológico) y el patrón conductual eyaculatorio que acompaña a la eyaculación (aspecto conductual) (Meisel y Sachs, 1994). Por lo tanto, es posible que en ese estudio los efectos de la clonidina sobre la eyaculación, hayan sido ejercidos sobre los aspectos conductuales y no sobre la eyaculación misma. En ese sentido, nuestros datos sugieren que el patrón motor genital asociado a la eyaculación, no se ve afectado seriamente por el tratamiento de clonidina y que por el contrario, este tratamiento es capaz de revertir la fatiga del patrón motor genital. Nuestros datos también sugieren que los adrenoceptores α_2 participan importantemente en el establecimiento de la fatiga del reflejo coital. Estos

receptores pueden estar localizados sobre motoneuronas pudendas, las cuales se sabe, reciben una densa inervación noradrenérgica sexualmente dimórfica. Esta inervación proviene del grupo A5 y del locus coeruleus. Estos son los dos únicos grupos celulares noradrenérgicos que han sido identificados por marcadores inmunohistoquímicos dentro de la médula espinal lumbosacra (Kojima y Sano, 1984; Kojima y col., 1984; 1985; Marson y col., 1993).

En conclusión, los presentes datos muestran que la fatiga del reflejo coital, resultante de la estimulación genital repetida, puede ser revertida por fármacos que actúan sobre el sistema noradrenérgico y que los adrenoreceptores α_2 están involucrados específicamente en el establecimiento de este fenómeno.

DISCUSION GENERAL

En la presente tesis se evaluaron algunos aspectos básicos del modelo del reflejo coital. Como se describió en la introducción, el reflejo coital consiste de contracciones clónicas de los músculos perineales, disparo autonómico rítmico, erecciones peneanas y expulsión del contenido uretral (McKenna y col., 1991). Se ha propuesto que esta respuesta representa el concomitante neural de la eyaculación (McKenna y col., 1991, Carro-Juárez y Rodríguez-Manzo, 2000), por lo que ha servido para estudiar la respuesta de clímax sexual que incluye la erección y la eyaculación, sin distinguir entre ambas funciones sexuales (McKenna y col., 1991, Vathy y Marson, 1998). Con los datos de esta tesis, podemos concluir que el reflejo coital es un modelo adecuado para el estudio de las respuestas reflejas asociadas a la eyaculación que pudiera ofrecer información acerca de la posible participación del evento eyaculatorio en el desarrollo de la saciedad sexual. Los resultados obtenidos en este estudio permiten establecer que el reflejo coital es una respuesta compleja, en la que participa toda la musculatura genital para provocar la expulsión potente del contenido uretral. Este es un hallazgo interesante, puesto que los estudios realizados con preparaciones "in vivo" se han limitado al registro de la actividad de los músculos perineales durante la expulsión del contenido uretral, sin tomar en cuenta al resto de la musculatura genital.

La respuesta motora registrada en el presente estudio, muestra semejanzas con el patrón motor registrado en el hombre y en la rata durante la eyaculación (Holmes y col., 1991; Gerstenberg y col., 1993). Una de las principales semejanzas entre el patrón motor coital registrado en la

preparación espinal y la respuesta motora registrada en ratas intactas y en el hombre durante la eyaculación, es la presencia de un primer tren de contracciones musculares sostenido, seguido por actividad de postdescarga que se presenta inmediatamente después de la eyaculación. En ratas en libre movimiento, este tren de contracciones musculares sostenido se ha registrado durante la presentación del patrón conductual eyaculatorio (Holmes y col., 1991). En el hombre, este primer tren motor se presenta al momento del orgasmo y coincide con la salida de semen desde la uretra (Gerstenberg y col., 1993). En el modelo del reflejo coital, la respuesta muscular se presenta de manera simultánea a la expulsión del contenido uretral y la realización de movimientos peneanos bruscos. Así, parece que este primer tren motor genital está asociado con la salida de semen durante la eyaculación. La actividad de postdescarga registrada durante la eyaculación parece jugar también un papel importante en la expulsión del contenido uretral, sin embargo, con nuestros datos es difícil especular sobre el significado funcional de esta respuesta. No obstante, se ha sugerido que la postdescarga, que se observa inmediatamente después de la expulsión del contenido uretral, representa un mecanismo mediante el cual se asegura que el semen sea expulsado totalmente desde la uretra pélvica durante la eyaculación (Gerstenberg y col., 1993). De esta forma, una de las ventajas del modelo del reflejo coital es que permite el análisis detallado de los aspectos motores que conducen a la eyección en machos de mamíferos después de distintas manipulaciones experimentales.

Otro de los hallazgos de este estudio consiste en que el patrón motor genital pudo ser evocado no solo por la estimulación a la uretra como señalara la propuesta inicial de McKenna y col. (1991), sino también en respuesta a la

estimulación del pene y del escroto. Lo anterior indica que otras vías aferentes provenientes de los genitales pudieran intervenir en el desencadenamiento del patrón motor de la eyaculación. Resulta interesante que el patrón motor genital obtenido en respuesta a la estimulación mecánica de distintas estructuras genitales, sea tan estereotipado que no presente variaciones significativas en cuanto a sus características (latencia, frecuencia y número de descargas). Esto sugiere que la respuesta motora es producida por un generador central de patrones específico para la eyaculación. Un dato que apoya esta sugerencia es el hecho de que el patrón motor genital puede producirse espontáneamente en animales deaferentados. Como se demuestra en este estudio, este último dato confirma nuestra propuesta y la de otros de que la médula espinal es capaz de expresar por sí sola la respuesta eyaculatoria. Nuestros datos sugieren además que la médula espinal contribuye de manera sustancial a la respuesta eyaculatoria y que la activación de las vías aferentes de los genitales puede jugar un papel importante en la modulación periférica del patrón eyaculatorio. En apoyo a esto, Pescatori y col., (1993) han mostrado en ratas anestesiadas que la estimulación del nervio dorsal del pene produce la eyaculación.

Como último punto, nuestra propuesta de que el reflejo coital está asociado a la eyaculación fisiológica se respalda aún más con el hallazgo de que el patrón motor que acompaña a la respuesta coital puede ser fatigado cuando se evoca repetidamente. Este fenómeno de fatiga es interesante, ya que pudiera estar relacionado con el fenómeno de saciedad sexual, observado en ratas que copulan (Beach y Jordan, 1956; Larsson, 1956; Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti, 1994). De acuerdo con datos previos y con los resultados de esta tesis, se observa que existen ciertas semejanzas entre ambos

fenómenos. De manera general se puede decir que la principal semejanza es que ambos fenómenos dependen fuertemente de la estimulación sensorial producida por la eyaculación repetida.

En la rata copulando, la saciedad sexual es definida como una inhibición de la conducta sexual de larga duración que aparece después de la eyaculación repetida (Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti, 1994). El desarrollo de la saciedad sexual está caracterizado por una disminución en el número de intromisiones, una tendencia a aumentar el número de montas y un incremento exponencial en la duración del intervalo posteyaculatorio conforme se avanza en las series eyaculatorias (Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti, 1994). Un promedio de 7 series eyaculatorias sucesivas precede a la saciedad sexual. Por otro lado, la fatiga del reflejo coital se presenta al evocar repetidamente el reflejo y consiste en la desaparición progresiva del patrón motor genital que conduce a la eyaculación. Durante el desarrollo de la fatiga del patrón motor genital se observa una disminución en el número y frecuencia de descargas y un incremento progresivo en la latencia de respuesta. La fatiga del reflejo coital se presenta después de la evocación secuencial de 7 patrones motores en promedio. Así, con los datos de la presente tesis podemos sugerir que el aumento en el número de montas (consideradas como intromisiones fallidas) y la aparición de intromisiones profundas y de mayor duración (observaciones no publicadas) en la rata copulando, conforme se acerca a la saciedad sexual podría ser un indicador de la disminución en el número y en la frecuencia de descargas observado en el patrón motor genital durante el desarrollo de la fatiga del reflejo coital. Asimismo, el incremento exponencial en el intervalo posteyaculatorio observado a lo largo del desarrollo de la saciedad sexual podría correlacionarse con

el incremento progresivo en la latencia de respuesta con cada patrón motor. De esta forma, la expulsión repetida del contenido uretral (eyaculación), evocada reflejamente hasta la fatiga en animales espinalizados, produce cambios en el patrón motor genital que podrían reflejar la disminución progresiva en la capacidad del aparato espinal para activar los músculos genitales que permiten la erección y la eyaculación. Así, los presentes datos parecen reforzar la noción de que la fatiga del patrón motor genital en la rata macho espinalizada refleja cambios que están ocurriendo a nivel espinal, y que pueden ser observados en los aspectos consumatorios de la conducta sexual masculina de los animales que se aproximan a la saciedad sexual.

McKenna y colaboradores (1998) sugieren la participación de tres grupos de reflejos en la eyaculación, que involucran tanto al sistema autonómico como al somático. Un grupo de estos reflejos es producido por la estimulación a la piel del pene que produciría una vasodilatación en este órgano (por la activación de eferentes pélvicas e hipogástricas), y posteriormente, la contracción de los músculos perineales reforzaría la erección mediante fuertes contracciones sobre los tejidos eréctiles con los que están íntimamente relacionados. El segundo grupo de reflejos incluiría la contracción del esfínter externo de la uretra sobre el cuello de la vejiga, acción que conduciría a la formación de un espacio cerrado en la uretra prostática denominado la cámara de presión. El tercer grupo de reflejos incluiría la emisión de los fluidos seminales hacia la uretra prostática. En este último grupo estaría ubicado el reflejo coital. La emisión daría lugar al llenado de la cámara de presión dentro de la uretra prostática y sería este llenado o su vaciamiento repentinamente lo que desencadenaría la respuesta eyaculatoria.

estereotipada del reflejo coital (McKenna y Marson, 1998). Por lo tanto, este reflejo estaría involucrado activamente en el acto sexual.

En el hombre se han registrado algunos reflejos durante la eyaculación que involucran acciones musculares similares a las aquí descritas. Así, Shafik (1998) ha encontrado recientemente que el mecanismo de la eyaculación involucra al menos dos diferentes reflejos: el reflejo glande-glandular, producido por la estimulación del glande del pene y que ocasiona que los órganos reproductivos internos se contraigan y depositen el semen en la uretra posterior; y el reflejo uretromuscular producido por la estimulación mecánica de la uretra dada por el vaciamiento del semen, mismo que produciría la activación de los músculos pélvicos. También, Shafik y El-Sibai (2000) han sugerido recientemente que en el hombre, el mecanismo de eyección obedece a una respuesta uretromuscular denominada reflejo uretrocavernoso. Estos datos apoyan la propuesta de McKenna y colaboradores y sugieren que efectivamente el reflejo coital puede estar asociado a la eyaculación.

El modelo del reflejo coital también ha sido útil para el estudio de la participación de estructuras superiores del sistema nervioso central, como el tallo cerebral, en el control de los reflejos sexuales (Marson y McKenna, 1992; 1994; McKenna y col., 1991). Se sabe que la estimulación de algunas estructuras cerebrales tales como la amígdala y el área preóptica media, facilita la expresión de la conducta sexual masculina (Meisel y Sachs, 1994; Rodríguez-Manzo y col., 2000). Sin embargo, poco se sabe del control inhibitorio ejercido por estructuras superiores sobre la conducta sexual. Frank Beach (1967) propuso que el tallo cerebral participaba en la función sexual modulando los

reflejos sexuales espinales, básicamente a través de mecanismos inhibitorios. Si bien esta noción es aceptada, poco se sabe acerca de las fuentes de dicha inhibición. McKenna y colaboradores han realizado una serie de estudios fisiológicos, anatómicos y farmacológicos dirigidos a identificar la fuente de la inhibición descendente sobre los reflejos sexuales (Marson y McKenna, 1992; 1994). Sus estudios han revelado que dicha fuente se localiza en el bulbo y corresponde a la porción anterior del núcleo paragigantocellularis, cuyas células envían proyecciones hacia la médula espinal lumbosacra (Marson y McKenna, 1992, 1994). El neurotransmisor involucrado en la inhibición descendente ejercida por el núcleo paragigantocellularis sobre los reflejos sexuales, es la serotonina. Existe una densa inervación serotonérgica de las motoneuronas pudendas que participan en la función sexual masculina. La inervación serotonérgica de estas motoneuronas pudendas es sexualmente dimórfica (Kojima y Sano, 1984; Marson y McKenna, 1992). De manera interesante, las motoneuronas pudendas también reciben proyecciones noradrenérgicas que son sexualmente dimórficas (Kojima y Sano, 1984, Kojima y col., 1985). La inervación noradrenérgica del núcleo pudendo proviene del grupo celular noradrenérgico A5 y del locus coeruleus (Shen y col., 1990).

Los efectos de la serotonina y la noradrenalina sobre la función sexual son complejos, ya que el tipo de respuesta obtenida depende del subtipo de receptor estimulado. Los efectos pueden ser tanto facilitatorios como inhibitorios. Así por ejemplo, la activación del receptor serotonérgico 5-HT_{1A} facilita la expresión de la conducta sexual masculina (Ahlenius y col., 1981) mientras que la activación del receptor 5-HT_{1B} la inhibe (Fernández-Guasti y Rodríguez-Manzo, 1992). Los efectos facilitatorios resultantes de la

estimulación del receptor 5-HT 1A se extienden a animales sexualmente saciados (Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti, 1994). De la misma manera, efectos tanto facilitatorios como inhibitorios sobre la cópula pueden ser observados cuando se activan selectivamente los adrenoceptores. Por ejemplo, la activación del receptor adrenérgico α_1 facilita la cópula y la activación del adrenoceptor α_2 la inhibe (Rampin, 1999). Sin embargo, la aplicación de yohimbina, un antagonista α_2 facilita la cópula tanto en animales intactos como en animales sometidos al paradigma de saciedad sexual (Rampin, 1999; Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti, 1994; Rodríguez-Manzo, 1999). La manipulación farmacológica, a través del uso de agonistas y antagonistas específicos, ha sido una herramienta útil para el estudio del control fisiológico de la función sexual masculina. No obstante, se sabe que la complejidad de los efectos de la serotonina y la noradrenalina sobre la conducta sexual, no sólo depende de los subtipos de receptores que participan y de los sitios donde actúan, sino también de la función sexual bajo estudio (Meisel y Sachs, 1994; Rampin, 1999). En el presente trabajo, evaluamos los efectos de la 8-OH-DPAT, un agonista serotoninérgico específico para el subtipo de receptor 5-HT 1A y de la yohimbina, un antagonista específico para el receptor adrenérgico α_2 , sobre la fatiga del reflejo coital. Estos fármacos fueron seleccionados con base en su reconocida capacidad para facilitar la conducta eyaculatoria tanto en animales intactos, como sexualmente saciados. Evaluamos la posibilidad de que la fatiga del reflejo coital pudiera ser revertida tras la aplicación de la 8-OH-DPAT o de la yohimbina. Los resultados obtenidos muestran que la fatiga del reflejo coital puede ser revertida farmacológicamente por

la 8-OH-DPAT y la yohimbina, y además por el WAY 100635 y la clonidina. Todos estos compuestos provocaron la aparición inmediata de un patrón motor genital sin postdescarga.

Los efectos de la 8-OH-DPAT fueron mediados a través de la activación de receptores 5-HT_{1A} y α ₁. La estrategia experimental que se utilizó para determinar esta especificidad fue la de la aplicación de un pretratamiento con un antagonista selectivo para el receptor 5-HT_{1A}, el WAY 100635, con el fin de bloquear los efectos del agonista. La aplicación sistémica del antagonista WAY 100635 por sí misma revirtió la fatiga del reflejo coital produciendo una patrón motor genital con un número de descargas muy parecido al registrado en el último tren motor previo a la fatiga. Esta respuesta pudiera deberse a la actividad intrínseca del WAY 100635 sobre receptores 5-HT_{1A} o a su acción sobre otros receptores (Fig. 7b,c). Recientemente se ha establecido que este fármaco posee afinidad por los receptores adrenérgicos α ₁ (Testa y col., 1999). La administración secuencial de WAY 100635 y 8-OH-DPAT bloqueó parcialmente la respuesta facilitatoria del agonista puesto que aún fue posible observar una respuesta motora muy parecida a la producida por el antagonista serotoninérgico solo. Así, es probable que la 8-OH-DPAT actuara parcialmente sobre receptores distintos del 5-HT_{1A} facilitando la salida motora y permitiendo la expresión del reflejo coital (Fig. 2, cap 4). Se sabe, que la 8-OH-DPAT tiene afinidad por los receptores adrenérgicos α ₁ y α ₂ (Wada y col., 1997). La activación de receptores α ₁ por la 8-OH-DPAT, produce una facilitación en la actividad de las motoneuronas espinales de la rata (Wada y col., 1997). Con base en estos datos, parece que el WAY 100635 logró bloquear el efecto de la 8-OH-DPAT sobre los receptores 5-HT_{1A} y que

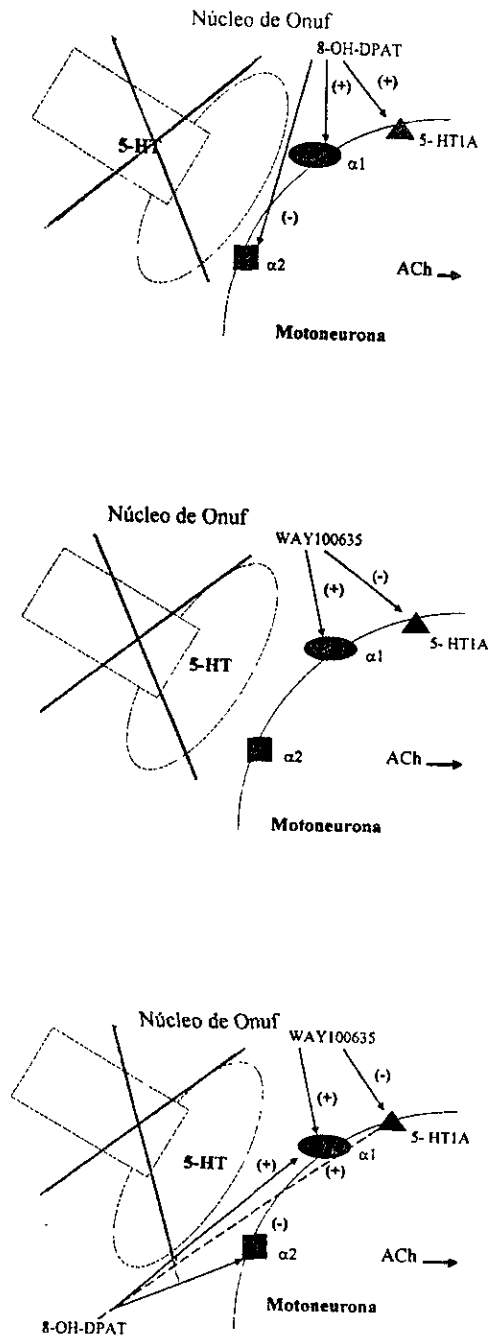


Fig 1. Posible sitio de acción de la 8-OH-DPAT (A), del WAY 100635 (B) y del tratamiento combinado del WAY 100635 + la 8-OH-DPAT (C) sobre neuronas de la médula espinal durante la expresión del reflejo cortal.

la respuesta motora registrada después del tratamiento secuencial puede atribuirse al efecto de este último fármaco sobre receptores α_1 (Fig. 7b,c). Así, parece que en la modulación de la expresión del patrón motor genital que subyace al reflejo coital, el sistema noradrenérgico juega un papel clave. Esta propuesta se ve apoyada con nuestros resultados del efecto de la aplicación de yohimbina y clonidina sobre el reflejo coital fatigado.

En esta tesis se encontró que la fatiga del reflejo coital puede ser revertida por yohimbina, un antagonista adrenérgico α_2 . El pretratamiento con clonidina, un agonista α_2 , bloqueó la respuesta inducida por yohimbina, sugiriendo con esto que dicha reversión fue ejercida a través del bloqueo de los receptores α_2 adrenérgicos (Fig. 8). La yohimbina es un fármaco que se sabe actúa sobre receptores adrenérgicos localizados en neuronas presinápticas (Timmermans y van Zwieter, 1982). A nivel de la médula espinal, el bloqueo de estos receptores facilita la liberación de noradrenalina (Umeda y col., 1997), la cual a su vez actúa directamente sobre receptores noradrenérgicos localizados postsinápticamente. El hecho de que la administración de yohimbina induzca la presentación del reflejo en animales espinales, indica la existencia de neuronas noradrenérgicas cuyos somas se encuentran por debajo del sitio de la lesión (T6). Los resultados de la presente tesis sugieren que el tratamiento con yohimbina a ratas con fatiga del reflejo coital produce un efecto facilitatorio sobre la liberación de noradrenalina que puede actuar sobre motoneuronas pudendas, las cuales se sabe reciben inervación noradrenérgica (Rajaofetra y col., 1992), produciendo así, la contracción de los músculos genitales y la expresión del

patrón motor genital (Fig. 8). Estos resultados son los primeros que muestran que el sistema noradrenérgico juega un papel importante en el establecimiento de la fatiga del reflejo coital, a través de la activación de los receptores α_2 . Nuestros resultados mostraron también, que tanto la aplicación sistémica de yohimbina como de clonidina a animales con fatiga del reflejo coital, produce la reversión de la fatiga del reflejo coital. Los resultados de esta tesis mostraron que la aplicación de clonidina bloquea completamente la facilitación de la reversión del reflejo coital producida por yohimbina, sugiriendo que el efecto de la yohimbina es ejercido a través de receptores adrenérgicos α_2 . La aplicación de clonidina sola produjo también la reversión de la fatiga del reflejo coital. Estos resultados inesperados parecen un tanto contradictorios, dado que se sabe que los agentes farmacológicos que actúan como antagonistas poseen mayor afinidad por el receptor que los agonistas. En este sentido, se hubiese esperado que la clonidina no fuera tan potente para bloquear el efecto de yohimbina. Sin embargo, la clonidina es una excepción a esta regla, ya que posee mayor afinidad al receptor adrenérgico α_2 que los correspondientes antagonistas (Timmermans y van Zwieten, 1982). Esto explicaría porque el agonista bloqueó completamente el efecto de la yohimbina sobre los autorreceptores. No obstante, debido a que los receptores α_2 están localizados tanto en la neurona presináptica como en la postsináptica, se esperaría que el tratamiento con clonidina no produjera ningún efecto sobre la fatiga del reflejo coital. Se obtuvo sin embargo un patrón motor muy semejante al registrado en la última respuesta motora previa a la fatiga. La capacidad para revertir el reflejo coital que

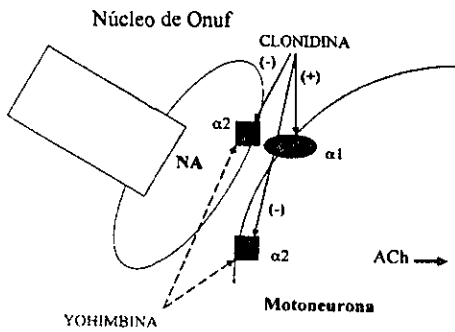
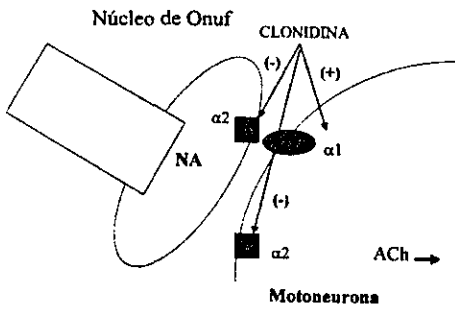
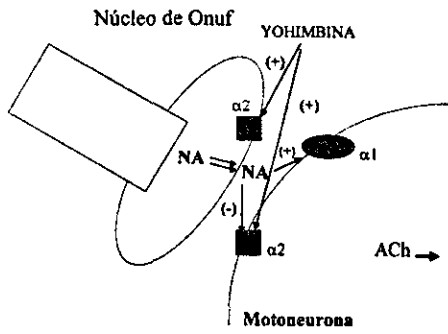


Fig 8. Posible sitio de acción de la yohimbina (A), de la clonidina (B) y del tratamiento combinado de la clonidina + la yohimbina (C) sobre neuronas de la médula espinal durante la expresión del receptor α_1 .

mostró la clonidina no puede ser explicada fácilmente si consideramos que este fármaco actuó estimulando receptores adrenérgicos α_2 postsinápticos cuya activación no modifica el disparo de las motoneuronas (Fig. 8b,c). Por lo tanto, es probable que la reversión de la fatiga del reflejo coital inducida por clonidina se debe a la activación de otros receptores que permitan la activación de la motoneurona. Uno de estos receptores sería el receptor adrenérgico α_1 . Se sabe que clonidina tiene afinidad tanto por receptores adrenérgicos α_1 como α_2 (Ono y Fukuda, 1995; Timmermans y van Zwieter, 1982; Docherty, 1998, para revisión). Los receptores adrenérgicos α_1 , en este caso, podrían estar localizados en las motoneuronas pudendas. Se sabe que en la rata, la activación del adrenoceptor α_1 facilita la expresión de los reflejos espinales al facilitar la liberación de acetilcolina de las motoneuronas (Ono y Fukuda, 1995). También se sabe que la activación de este receptor facilita las descargas sostenidas (biestabilidad) observadas en patrones de locomoción ficticia (Lee y Heckman, 1999). Así, dado que la reversión de la fatiga del reflejo coital pudo ser obtenida después de la aplicación de yohimbina, al actuar sobre los adrenoceptores α_2 , y del WAY 100635 y de la clonidina, probablemente a través de la activación de receptores adrenérgicos α_1 , los datos de esta tesis permiten sugerir que el sistema noradrenérgico podría desempeñar un papel central a través de sus receptores α en la reversión de la fatiga del reflejo coital.

Tomados en conjunto, nuestros resultados apoyan la hipótesis de que la fatiga del reflejo coital está relacionada con el fenómeno de saciedad sexual y sugieren que

en el establecimiento de este fenómeno interviene un componente espinal.

A mediados de los años 50 Frank Beach postuló la existencia de dos componentes fisiológicos de la conducta sexual: el componente motivacional y el consumatorio. El componente motivacional de la conducta sexual media el incremento en la excitación sexual que conduce a la cópula. Cuando este componente se activa, el macho alcanza un determinado umbral (el umbral copulatorio) y consigue montar a la hembra. En este momento, el componente consumatorio de la conducta sexual se activa y permite que el macho pueda tener intromisiones que deriven en la eyaculación, completando así el acto sexual (Beach, 1956). En ratas, los distintos parámetros de la conducta sexual masculina han sido asociados a uno de los dos componentes de la conducta sexual. Así, el componente motivacional puede ser evaluado a través de la latencia a la primera monta, la latencia a la primera intromisión y la duración del intervalo posteyaculatorio (Beach, 1956). El componente consumatorio puede a su vez ser estudiado, analizando el número de montas e intromisiones y la latencia de eyaculación, que se refiere al tiempo en el que el macho consigue eyacular después de iniciada la cópula.

Cada uno de estos componentes fisiológicos de la conducta sexual puede verse alterado por separado en respuesta a manipulaciones experimentales que producen tanto facilitación o inhibición. Por ejemplo la facilitación del componente motivacional incluye una reducción en las latencias de monta e intromisión y en la duración del intervalo posteyaculatorio, así como un aumento en la proporción de animales que eyacula, mientras que una reducción en el número de montas e intromisiones, y

consecutivamente en la latencia de eyaculación, reflejan la facilitación del componente consumatorio de esta conducta.

Se ha mostrado previamente que la 8-OH-DPAT y la yohimbina son potentes facilitadores de la conducta copulatoria de la rata macho (Ahlenius y col., 1989; Clark y col., 1984; Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti, 1994; Rodríguez-Manzo, 1999). Sin embargo las bases de esta facilitación no son claras aún, ya que se ha sugerido que estas drogas pueden afectar ambos componentes fisiológicos de la conducta sexual masculina (Ahlenius y Larsson, 1987; Clark y col., 1984; Rodríguez-Manzo, 1999a,b). Los datos del presente estudio sugieren que los efectos facilitatorios de la DPAT y la yohimbina sobre la conducta sexual de ratas pueden ser ejercidos, al menos parcialmente, directamente en los circuitos relacionados con la eyaculación que están modulados por la médula espinal. En este sentido, pudiera proponerse que el establecimiento del fenómeno de saciedad sexual esté relacionado con la incapacidad de la médula espinal para seguir expresando el patrón motor genital después de la fatiga y que los sistemas serotoninérgico y noradrenérgico espinales estén involucrados en dicho fenómeno.

Aunque es claro que la médula espinal parece jugar un papel importante en la expresión del patrón motor eyaculatorio, es importante mencionar que una conducta por sencilla que sea, difícilmente puede ser reducida a la influencia de un solo reflejo o un grupo de reflejos. De esta forma, la fatiga sexual resultante de la eyaculación repetida es un fenómeno que probablemente se debe no sólo a la fatiga en la expresión del reflejo eyaculatorio. Existen una serie de evidencias de que la motivación sexual juega un papel importante en el fenómeno de saciedad sexual (Fisher, 1987;

Rodríguez-Manzo, 1999a,b). Por ejemplo, Rodríguez-Manzo (1999a) ha mostrado recientemente en ratas, que el incremento fisiológico en la motivación sexual que resulta de cambiar a la hembra estímulo (Efecto Coolidge), interfiere con el establecimiento del proceso inhibitorio responsable de la inhibición de la conducta sexual, que se observa al alcanzar la saciedad sexual. Aunque es claro que la motivación juega un papel preponderante en el establecimiento de la saciedad sexual, es importante decir que la médula espinal también participa mediando las respuestas genitales involucradas en la eyaculación y que forman parte importante del componente consumatorio de la cópula. Así, es posible que la médula espinal participe en el establecimiento de la saciedad sexual a través de limitar el número de respuestas eyaculatorias que la preceden.

Finalmente, sería interesante analizar en detalle los mecanismos fisiológicos que participan en la inhibición que subyace a la fatiga del reflejo coital.

CONCLUSIONES

La respuesta denominada reflejo coital está caracterizada principalmente por la expulsión potente del contenido uretral producida por contracciones clónicas de la musculatura genital.

El reflejo coital puede ser evocado por estimulación mecánica de distintas estructuras genitales como son el pene, el escroto y la uretra.

Todos los músculos genitales están involucrados en la expresión del patrón motor genital asociado al reflejo coital.

El patrón motor genital se expresa espontáneamente tras la lesión a la médula espinal.

El patrón motor genital puede ser fatigado por estimulación mecánica repetida de estructuras genitales.

La fatiga del patrón motor genital puede ser revertida farmacológicamente.

La aplicación sistémica de 8-OH-DPAT y yohimbina induce la expresión inmediata del patrón motor genital después de la fatiga del reflejo coital.

La aplicación sistémica de WAY 100635 o de clonidina también induce la expresión del patrón motor genital después de la fatiga, aunque de manera menos potente.

En animales con fatiga del reflejo coital, el pretratamiento con WAY 100635, un antagonista 5-HT_{1A}, bloquea parcialmente la respuesta a la 8-OH-DPAT, sugiriendo que el efecto de este último fármaco está mediado parcialmente por receptores 5-HT_{1A}. La respuesta residual obtenida con el tratamiento combinado puede atribuirse a la estimulación de receptores α_1 .

El pretratamiento con clonidina, agonista α_2 , bloquea la reversión de la fatiga del reflejo coital por yohimbina indicando que el efecto de este último fármaco está mediado por receptores α_2 .

Tanto el sistema serotoninérgico como el sistema noradrenérgico están involucrados en la expresión del patrón motor coital.

El patrón motor coital es un modelo útil para el estudio de la respuesta eyaculatoria en animales anestesiados.

LITERATURA CITADA

Aggelopoulos, N.C., Burton, M.J., Clarke, R.W. and Edgley, S.A. (1996) Characterization of a descending system that enables crossed group II inhibitory reflex pathways in the cat spinal cord. *J. Neurosci.*, 16: 723-729.

Ahlenius S., Larsson K., Svensson, L., Hjorth, S., Carlsson, A., Lindberg, P., Wikstrom, H., Sanchez, D., Avidsson, L.-E., Hacksell, U. and Nilsson, J.L.G. (1981) Effects of a new type of 5-HT receptor agonist on male rat sexual behavior. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 15: 785-792.

Ahlenius S. and Larsson K. (1987) Evidence for a unique pharmacological profile of 8-OH-DPAT by evaluation of its effects on male sexual behaviour. In: *Brain 5-HT_{1A} receptors*. Dourish, C.T., Ahlenius, S. and Hutson, P.H. (Eds) Ellis Horwood Ltd. Chichester England. pp. 185-198.

Ahlenius, S. and Larsson, K. (1989) New aspects on the serotonergic modulation of male rat sexual behaviour. In *Behavioural Pharmacology of 5-HT*. Bevan, P., Cools, A.R. and Archer, T. (Eds) Lawrence Erlbaum Associates, Inc., Publishers Hillsdale New Jersey pp. 35-54.

Ahlenius, S., Larsson, K. and Arvidsson, L-E. (1989) Effects of stereoselective 5-HT_{1A} agonist on male sexual behaviour. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 33: 691-695.

Ahlenius, S. and Larsson, K. (1997) Specific involvement of central 5-HT_{1A} receptors in the mediation of male rat ejaculatory behaviour. *Neurochem. Res.*, 22: 1065-1070.

Ahlenius, S. and Larsson, K. (1998) Evidence for an involvement of 5-HT_{1B} receptors in the inhibition of male rat ejaculatory behaviour produced by 5-HTP. *Psychopharmacol.*, 137: 374-382.

Anderson, K.E. and Wagner, G. (1995): Physiology of penile erection. *Physiol. Rev.*, 75:191-236.

Beach, F.A. (1956) Characteristics of masculine "sex drive". In *The Nebraska Symposium on Motivation*. (M.R. Jones Ed.) University of Nebraska Press, Lincoln, Nebraska. pp. 1-32.

Beach, F.A. and Jordan, L. (1956). Sexual exhaustion and recovery in the male rat. *Q. J. Exp. Psychol.*, 8: 121-133.

Beach, F.A. (1967) Cerebral and hormonal control of reflexive mechanisms involved in copulatory behavior. *Physiol. Rev.*, 47: 289-316.

Barnes, N.M. and Sharp, T. (1999) A review of control of 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacol.*, 38: 1083-1152.

Benson, G. (1994) Male sexual function: erection, emission and ejaculation. En: *The physiology of reproduction*. Knobil, E. y Neills J.D. (Eds). Vol. 2 Raven Press. New York. pp 1489-1506.

Carro-Juárez, M. (2000) The urethralis muscle of the male rat, *Arch. Androl.*, (En prensa).

Carro-Juárez, M. and Rodríguez-Manzo G. (1998) Aspectos sensoriales y motores del reflejo uretrogenital en la rata macho, Memorias del XLI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. San Luis Potosí, S.L.P. pp. 84

Carro-Juárez M. and Rodríguez-Manzo, G. (2000) Sensory and motor aspects of the coital reflex in the spinal male rat. *Behav. Brain Res.*, 108: 97-103.

Chau, C., Barbeau, H. And Rossingol, S. (1998) Effects of intrathecal alpha1- and alpha2-noradrenergic agonists and norepinephrine on locomotion in chronic spinal cats. *J. Neurophysiol.*, 79: 2941-2963.

Christ, G.J. (1999) Erection. En: *Encyclopedia of Reproduction*. Knobil and Neills (Eds). Academic Press. Vol. II. pp. 38-49.

Chung, S.K. McVary, K.T. and McKenna, K.E. (1988) Sexual reflexes in male and female rats, *Neurosci. Lett.*, 94 343-348.

Clark, J.T., Smith, E.R. and Davison, J.M. (1984) Enhancement of sexual motivation in male rats by yohimbine. *Science.*, 225: 847-849.

Clark, J.T., Smith, E.R. and Davison, J.M. (1985) Evidence for the modulation of sexual behavior by α -adrenoceptors in male rats. *Neuroendocrinology.*, 41: 36-43.

Clark, J.T., Karla, S.P. and Karla, P.S. (1987) Effects of a selective alpha₁ adrenoceptors agonist, methoxamine, on

sexual behavior and penile reflexes. *Physiol. Behav.*, 40: 747-753.

Clark, J.T. (1991) Suppression of copulatory behavior in male rats following central administration of clonidine. *Neuropharmacology.*, 30: 373-382.

Dalof, L.-G., Ahlenius, S. and Larsson, K. (1988) Copulatory performance of penile desensitized male rats following the administration of 8-OH-DPAT. *Physiol. Behav.*, 43: 841-843.

Docherty, J.R. (1998) Subtypes of functional $\alpha 1$ and $\alpha 2$ -adrenoceptors. *Eur. J. Pharmacol.*, 361: 1-15.

Durán I., Rojas-Piloni, G. and Cueva-Rolón, R. (1997) Facilitation and inhibition of the urethro-genital reflex in spinal cord-transected rats. *Brain Res.*, 775: 1-10.

Fernández-Guasti, A., Escalante, A. and Agmo, A. (1989) Inhibitory action of various 5-HT_{1B} receptors agonist on rat masculine sexual behaviour. *Physiol. Biochem. Behav.*, 34: 811-816.

Fernández-Guasti, A. and Rodríguez-Manzo, G. (1992) Further evidence showing that the inhibitory action of serotonin on rat masculine sexual behaviour is mediated after the stimulation of 5-HT_{1B} receptors. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 42: 529-533.

Fernández-Guasti, A. and Rodríguez-Manzo, G. (1997) 8-OHDPAT and male rat sexual behavior: partial blockade by

noradrenergic lesion and sexual exhaustion. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 56: 111-116.

Finberg, J.P.M. and Vardi, Y. (1990) Inhibitory effect of 5-hydroxytryptamine on penile erectile function in the rat. *Br. J. Pharmacol.*, 101: 698-702.

Fisher, A.E. (1962) Effects of stimulus variation on sexual satiation in the male rat. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 55: 614-620.

Fristchy, J.M., Lyons, W.E., Mullen, C.A., Kosofsky, B.E., Mulliner, M.E and Grzanna, R. (1987) Distribution of locus coeruleus axons in the rat spinal cord: a combined anterograde transport and immunohistochemical study. *Brain Res.*, 437: 176-180.

Gerstenberg, G., Levin, R.J. and Wagner, G. (1993) Erection and ejaculation in man. Assessment of the electromyographic activity of the bulbocavernosus and ischiocavernosus muscles, *Br. J. Urol.*, 65: 395-402.

Giuliano, F., Rampin, O., Bernabe, J., Rousseau, J.P. (1995) Neural control of penile erection in the rat. *J. Auton. Nerv. Syst.*, 55: 36-44.

Golberg, M.R. and Robertson, D. (1983) Yohimbine: a pharmacological probe for study of the alpha-2-adrenoceptor. *Pharmacol. Rev.*, 35: 143-179.

Gonzales, G., Mendoza, L., Ruiz, J., Torrejon, J. (1982) A demonstration that 5-hydroxytryptamine administered

peripherally can affect sexual behavior in male rats. *Life Sci.*, 31: 2775-2781.

González-Mariscal, G., Gomora, P. and Beyer, C. (1994) Participation of opiate, gabaergic and serotonergic systems in the expression of copulatory analgesia in male rats. *Pharmacol., Biochem. Behav.*, 49: 303-307.

Grillner, S. (1985) Neurobiological bases of the rhythmic motor acts in vertebrates. *Science.*, 228: 143-149.

Hansen, S. and Ross, S.B. (1983) Role of descending monoaminergic neurons in the control of sexual behavior: effects of intrathecal infusions of 6-hydroxydopamine and 5,7-dihydroxytryptamine. *Brain Res.*, 268: 285-290.

Harris, J. and Clark, R.W. (1992) An analysis of adrenergic influences on the sural-gastrocnemius reflex of the decerebrate rabbit. *Exp. Brain Res.*, 92: 310-317.

Harris, J. and Clark, R.W. (1993) Motor and cardiovascular effects of selective alpha 2-adrenoceptor antagonists in the decerebrate rabbit. *Eur. J. Pharmacol.*, 237: 323-328.

Hart, B.L. and Kitchell, R. (1966) Penile erection and contraction of penile muscles in the spinal and intact dog. *Am. J. Physiol.*, 210: 257-262.

Hart, B.L. (1967) Testosterone regulation of sexual reflexes in spinal male rats. *Science.*, 155: 1283-1284.

Hart, B.L. (1968) Sexual reflexes and mating behaviour in the male rat. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 65: 453-460.

Holmes, G.M., Chapple, W.D. Leipheimer, R.E. and Sachs, B.D. (1991) Electromyographic analysis of the male rat perineal muscles during copulation and reflexive erections. *Physiol. Behav.*, 49: 1235-1246.

Holmes, G.M. and Sachs, B.D. (1991) The ejaculatory reflex in copulating rats: normal bulbospongiosus activity without apparent urethral stimulation. *Neurosci. Lett.*, 125: 195-197.

Holstege, G. and Tan, J. (1987) Supraspinal control of motoneurons innervating the striated muscles of pelvic floor including urethral and anal sphincters in the cat. *Brain.*, 110: 1323-1344.

Houngaard, J. and Kiehn, O. (1989) Serotonin-induced bistability on turtle motoneurons caused by a nifedipine-sensitive plateau potential. *J. Physiol.*, 414: 265-282.

Jacobs, B.L. and Fornal, C.A. (1999) Activity of serotonergic neurons in behaving animals. *Neuropsychopharmacology.*, 21: 9-15.

Kojima, M. and Sano, Y. (1984) Sexual differences in the topographical distribution of serotonergic fibers in the anterior column of rat lumbar spinal cord. *Anat. Embriol.*, 170: 117-121.

Kojima, M., Matsuura, T., Kimuta, H., Nojyo, Y. and Sano, Y. (1984) Fluorescence histochemical study on the noradrenergic

control to the anterior column of the spinal lumbosacral segments of the rat and dog, with special reference to motoneuron innervating the perineal striated muscles (Onuf's nucleus). *Histochemistry.*, 81: 237-241.

Kojima, M., Matsuura, T., Amagai, T., Iminashi, J. and Sano, Y. (1985) Characteristic distribution of noradrenergic terminals on the anterior horn motoneurons innervating the perineal striated muscles in the rat. *Anat. Embriol.*, 171: 267-273.

Kollberg, S., Petersen, I. and Stener, I. (1972) Preliminary results of an electromyographic study of ejaculation, *Acta Chir. Scand.*, 123: 478-483.

Koskimen, I., Hendricks, H. Yells, D. Fitzpatrick, D. Graber, D. (1991) Yohimbine and naloxone: effects on male rats sexual behavior. *Physiol. Behav.*, 50: 589-593.

Larsson, K. (1956) Conditioning and sexual behaviour in the male albino rat. *Almqvist and Wiksell, Stockholm.*

Larsson, K., Fuxe, K., Everitt, B.J., Holmgren, M. and Sodersten, P. (1978) Sexual behavior in male rats after intracerebral injection of 5,7-dihydroxytryptamine. *Brain Res.*, 141: 293-303.

Lee, R.L., Smith, E.R., Mas, M. and Davison, J.M. (1990) Effect of intrathecal administration of 8-OH-DPAT on genital reflexes and mating behaviour in male rats. *Physiol. Behav.*, 47: 665-669.

Lee, R.H. and Heckman, C.J. (1999) Enhancement of bistability in spinal motoneurons in vivo by the noradrenergic $\alpha 1$ agonist methoxamine. *J. Neurophysiol.*, 81: 2164-2174.

Liu, Y.C. and Sachs, B.D. (1999) Erectile function in male rats after lesions in the lateral paragigantocellularis nucleus. *Neurosci. Lett.*, 262: 203-206.

Lumia, A.R., Sachs, B.D. and Meisel, R.L. (1980) Spinal transection restores sexual reflexes of rats following suppression by penile sheath removal. *Physiol. Behav.*, 25: 89-92.

Lyons, W.E., Fristchy, J.M. and Grzanna (1989) The noradrenergic neurotoxin-DSP4 eliminates the coeruleospinal projection but spares projections of the A5 and A7 group to the ventral horn of the spinal cord. *J. Neuroscii.*, 9: 1481-1498.

Marson, L. and McKenna, K.E. (1990) The identification of a brainstem site controlling spinal sexual reflexes in male rats. *Brain Res.*, 515: 303-308.

Marson, L., List, M. and McKenna, K.E. (1992) Lesions of the nucleus paragigantocellularis alter excopula penile reflexes. *Brain Res.*, 592: 187-192.

Marson, L. and McKenna, K.E. (1992) A role for 5-hydroxytryptamine in descending inhibition of spinal sexual reflexes. *Exp. Brain Res.*, 88: 313-320.

- Marson, L., Platt, K.B. and McKenna, K.E. (1993) Central nervous system innervation of the penis as revealed by the transneuronal transport of pseudorabies virus. *Neuroscience.*, 55: 263-280.
- Marson, L. and McKenna, K.E. (1994) Serotonergic neurotoxic lesions facilitate male sexual reflexes, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 47: 883-888.
- Marson, L. and McKenna, K.E. (1996) CNS cell groups involved in the control of the ischiocavernosus and bulbospongiosus muscles: a transneuronal tracing study using pseudorabies virus. *J. Comp. Neurol.*, 374: 161-179.
- McKenna, K. E. and Nadelhaft, I. (1986) The organization of the pudendal nerve in the male and female rat. *J. Comp. Neurol.*, 248: 532-549.
- McKenna, K.E. and Nadelhaft, I. (1989) The pudendo-pudendal reflex in male and female rats. *J. Auton. Nerv. Syst.*, 27: 67-77.
- McKenna, K.E., Chung, S.K. and McVary, K.T. (1991) A model for the study of sexual function in anesthetized male and female rats. *Am. J. Physiol.*, 261: 1276-1285.
- McKenna, K.E. (1998) Central control of penile erection. *Int. J. Impot. Res.*, 10: 25-34.
- Meisel, R.L. and Sachs, B.D. (1980) Spinal transection accelerates the developmental expression of penile reflexes in male rats, *Physiol. Behav.*, 24: 289-292.

Meisel, E.L. and Sachs, B.D. (1994) The physiology of male sexual behavior. En: Knobil, E., Neill, J.D. (Eds.) The physiology of reproduction. Raven Press, Ltd. New York.

Millan, M.J. and Peris-Monneyron, S. (1997) Potentiation of fluoxetine-induced penile erections by combined blockage of 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptors. Eur. J. Pharmacol., 321: R11-R13.

Millan, M. Peglion, J.L., Laviuelle, G., and Perrin-Monneyron, S. (1997) Potentiation of fluoxetine-induced penile erections by combined blockage of 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptors. Eur.J. Pharmacol., 325: 9-12.

Mitsuya, H., Asai, J., Suyama, K., Ushida, T. and Hosoe, K. (1976) Application of x-ray cinematography in urology: I. Mechanism of ejaculation. J. Urol., 83: 86-92.

Newman, H., Reiss, H. and Northrup, J.D. (1982) Physical basis of emission, ejaculation, and orgasm in the male. Urology., 19: 341-350.

Ono, H. and Fukuda, H. (1995) Pharmacology of descending noradrenergic systems in relation to motor function. Pharmac. Ther., 68: 105-112.

Pescatori, E.S., Calabro, A., Artibani, W., Pagano, F., Triban, Ch. and Italiano, G. (1993) Electrical stimulation of the dorsal nerve of the penis evokes reflex tonic erections of the penile body and reflex ejaculatory responses in the spinal rat. J. Urol., 149: 627-632.

Rajaofetra, N., Ridet, J.L., Poulat, P., Marlier, L., sandillon, I., Geffard, M. and Privat, A. (1992) Immunocytochemical mapping of noradrenergic projections to the rat spinal cord with an antiserum against noradrenaline. *J. Neurocytol.*, 21: 481-494.

Rajaofetra, N., Passagia, J-G., Marlier, L., Poulat, P., Pellas, F., Sandillon, F., Verschuere, B., Gouy, D., Geffard, M. and Privat, A. (1992) Serotonergic, noradrenergic, and peptidergic innervation of the Onuf's nucleus of normal and transected spinal cords of Baboons (*Papio papio*). *J. Comp. Neurol.*, 318: 1-17.

Rampin, O. (1999) Pharmacology of alpha-adrenoceptors in male sexual function. *Eur. Urol.*, 36: 103-106.

Rodríguez-Manzo, G. and Fernández-Guasti, A. (1994) Reversal of sexual exhaustion by serotonergic and noradrenergic agents. *Behav. Brain Res.*, 62: 127-134.

Rodríguez-Manzo, G. and Fernández-Guasti, A. (1995) Participation of the central noradrenergic system in the reestablishment of copulatory behaviour of sexually exhausted rats by yohimbine, naloxone, and 8-OH-DPAT. *Brain Res. Bull.*, 38: 399-404.

Rodríguez-Manzo, G. (1999a) Yohimbine interacts with the dopaminergic system to reverse sexual satiation: further evidence for a role of sexual motivation in sexual exhaustion. *Eur. J. Pharmacol.*, 372: 1-8.

Rodríguez-Manzo, G. (1999b) Blockade of the establishment of the sexual inhibition resulting from sexual exhaustion by the Coolidge effect. *Behav. Brain Res.*, 100: 245-254.

Rodríguez-Manzo, G., Pellicer, F., Larsson, K. and Fernández-Guasti, A. (2000) Stimulation of the medial preoptical area induces sexual behavior but not reverse sexual satiation. *Behav. Neurosci.*, 114: 553-560.

Sachs, B.D. and Barfield, R. (1976) Functional analysis of masculine copulatory behaviour in the rat. *Adv. Stud. Behav.*, 7: 91-154.

Sachs, B.D. and Garinello, L.D. (1979) Spinal pacemaker controlling sexual reflexes in male rats. *Brain Res.*, 171: 152-156.

Sachs, B.D. and Garinello, L.D. (1980) Hypothetical spinal pacemaker regulating penile reflexes in rats: evidence from transection of spinal cord and dorsal penile nerves. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 94: 530-535.

Sachs, B.D. and Bitran, D. (1990) Spinal block reveals roles for brain and spinal cord in the mediation of reflexive penile erections in rats. *Brain Res.*, 528: 99-108.

Sakitama, K. (1993) Intrathecal noradrenaline facilitates and inhibits the flexor reflex mediated by the group II afferent fibers via alpha1- and alpha-2 receptors, respectively. *Jpn. J. Pharmacol.*, 62: 131-136.

RECEIVED
JAN 10 1994

Schmidt, M.H. and Schmidt, H.S. (1993) The ischiocavernosus and bulbospongiosus muscles in mammalian penile rigidity. *Sleep.*, 16: 171-183.

Schnur, S.L., Smith, E.R., Lee, R.L. Mas, M. and Davidson, J.M. (1989) A component analysis of the effects of DPAT on male rat sexual behaviour. *Physiol. Behav.*, 45: 897-901.

Schroder, H.D. (1980) Organization of motoneurons innervating the pelvic muscles of the male rat. *J. Comp. Neurol.*, 345: 567-587.

Shafik, A. (1997) Pelvic floor muscles and sphincters during erection and ejaculation. *Arch. Androl.*, 39: 71-78.

Shafik, A. (1998) The mechanism of ejaculation: the glands-vagal and urethromuscular reflexes. *Arch. Androl.*, 41: 71-78.

Shafik, A. and El-Sibai, O. (2000) Mechanism of ejection during ejaculation: identification of a urethro cavernosus reflex. *Arch. Androl.*, 44: 77-83.

Shen, P., Arnold, A.P. and Micevych, P.E. (1990) Supraspinal projections to the ventromedial lumbar spinal cord in adult male rats. *J. Comp. Neurol.*, 300: 263-272.

Smith, E.R., Lee, R.L. Schnur, S.L. and Davison, J.M. (1987) Alpha 2-adrenoceptor antagonist and male sexual behavior: I mating behavior. *Physiol. Behav.*, 41: 7-14.

Smith, E.R., Lee, R.L. Schnur, S.L. and Davison, J.M. (1987) Alpha 2-adrenoceptor antagonist and male sexual behavior: II

erectile and ejaculatory reflexes. *Physiol. Behav.*, 41: 15-19.

Sqalli-Houssaini, Y. and Cazalets, J-R. (2000) Noradrenergic control of locomotor networks in the in vitro spinal cord of the neonatal rat. *Brain Res.*, 852: 100-109.

Testa, R., Guarneri, L., Poggesi, E., Angelico, P., Velasco, M., Ibba, A., Cilia, A., Motta, G., Riva, C. and Leonardi, A. (1999) Effect of several 5-Hydroxytryptamine 1A receptor ligands on the micturition reflex in rats: comparison with WAY 10635. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 290: 1258-1269.

Thor, K.B., Nickolaus, S. and Helke, C.J. (1993) Autoradiographic localization of 5-hydroxytryptamine 1A, 5-hydroxytryptamine 1B and 5-hydroxytryptamine 1C/2 binding sites in the rat spinal cord. *Neuroscience.*, 55: 235-252.

Timmermans, P.B.M.W. and van Zwieten, P.A. (1982) α_2 adrenoceptors: classification, localization, mechanisms, and targets for drugs. *J. Med. Chem.*, 25: 1389-1401.

Umeda, E., Satoh, T., Nagashima, H., Potter, P.E., Tarkovacs, G. and Vizi, E.S. (1997) α_2A subtype of presynaptic α_2 -adrenoceptors modulates the release of [H^3] noradrenaline from rat spinal cord. *Brain Res. Bull.*, 42: 129-132.

van de Kar, L. (1991) Neuroendocrine pharmacology of serotonergic (5-HT) neurons. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 31: 289-320.

Vathy, I. and Marson, L. (1998) Effects of prenatal morphine and cocaine exposure on spinal sexual reflexes in male and female rats. *Physiol. Behav.*, 63: 445-450.

Wada, T., Hasegawa, Y. and Ono, H. (1997) Characterization of α 1-adrenoceptor subtypes in facilitation of rat spinal motoneuron activity. *Eur. J. Pharmacol.*, 340: 45-52.

Wallis, D.I., Wu, J. and Wang, X. (1993) Descending inhibition in the neonate rat spinal cord is mediated by 5-hydroxytryptamine. *Neuropharmacology.*, 32: 73-83.

Watson, J.W. (1964) Mechanism of erection and ejaculation in bull and ram. *Nature.*, 204: 95-96.

Weslund, K.N., Bowker, R.M., Ziegler, M.G. and Coulter, J.D. (1983) Noradrenergic projections to the spinal cord of the rat. *Brain Res.*, 263: 15-31.

White, S.R. and Newman, R.S. (1980) Facilitation of spinal motoneurone excitability by 5-hydroxytryptamine and noradrenaline. *Brain Res.*, 188: 119-127.

Yonesawa, A., Kawamura, S., Ando, R., Tadano, T., Nobunaga, T and Kimura, Y. (1991) Diminution of ejaculatory capacity induced by frequent eyaculation in dogs: prevention and reversal by yohimbine. *Androl.*, 23: 71-74.