



División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Maestría en Biología de la Reproducción Animal

Anteproyecto

**“Efecto de la Sertralina y Fluoxetina sobre la eyaculación
rápida que presenta la rata macho en una Arena de
Selección Múltiple de Pareja”**

BIÓL. EXP. FERNÁNDEZ RAMÍREZ CAROL THALIA

16 de noviembre de 2018

**COMITÉ TUTORAL
DIRECTORA**



**DRA. ADRIANA MARGARITA MORALES OTAL
PROFESOR TITULAR "C" DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA DE LA
REPRODUCCIÓN, UAM IZTAPALAPA**

ASESORES



**DR. ARMANDO FERREIRA NUÑO
PROFESOR TITULAR "C" DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA DE LA
REPRODUCCIÓN, UAM IZTAPALAPA**



**DR. CARLOS ALEJANDRO TORNER AQUILAR
ÁREA DE NEUROCIENCIAS, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
METROPOLITANA XOCHIMILCO**

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	4
2. ANTECEDENTES	6
2.1. Inhibidores Selectivos de la Recaptura de Serotonina	6
2.2. Uso de Sertralina y Fluoxetina, como tratamiento en la Eyaculación Precoz...7	
3. JUSTIFICACIÓN	11
4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	12
5. HIPÓTESIS	12
6. OBJETIVOS	12
6.1. Objetivo General.....	12
6.2. Objetivos Específicos.....	12
7. MATERIAL Y METODOLOGÍA	13
7.1. Animales: Obtención, alojamiento y mantenimiento.....	13
7.2. Preparación de ratas hembras estímulo.....	13
7.3. Selección de ratas machos sexualmente expertos en una Arena Típica.....	14
7.4. Arena de Selección Múltiple de Pareja (ASMP).....	15
7.5. Entrenamiento de ratas en la ASMP.....	15
7.6. Administración de los Inhibidores Selectivos de la Recaptura de Serotonina (Fluoxetina y Sertralina).....	16
7.7. Pruebas de Conducta Sexual en la ASMP.....	17
8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	18
9. BIBLIOGRAFÍA	19
10. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES	22

INTRODUCCIÓN

La eyaculación es un proceso fisiológico que consiste en la expulsión del semen por el meato uretral. Es provocado por las contracciones de la musculatura pélvica y el peristaltismo uretral, en humanos es usualmente acompañado por el orgasmo (Fernández, 2014). Uno de los problemas sexuales más frecuentes relacionados con este proceso es la Eyaculación Precoz (Hellstrom, 2006).

La Eyaculación Precoz, es una eyaculación persistente o recurrente, que se presenta antes o poco después de la penetración vaginal, y antes de que la persona lo desee (Aldrete y cols., 2010). La Organización Mundial de la Salud considera que la Eyaculación Precoz, se caracteriza por presentar un Tiempo de Latencia Eyaculatoria Intra-Vaginal (TLEI) menor a 2 minutos y por la falta de control en la eyaculación, ocasionando malestar, frustración e insatisfacción sexual en cualquier momento de la vida sexualmente activa del hombre y su pareja (Yildiz y cols., 2018).

En México, la Eyaculación Precoz es considerada como la disfunción sexual con mayor prevalencia. Se estima que un 30 % de los hombres tienen o han padecido Eyaculación Precoz en algún momento de su vida sexual y la mayoría no acude a un especialista por miedo y pena al reconocer la existencia de esta alteración (Cai y cols., 2018). Además, los hombres no suelen hablar abiertamente sobre este tema (Graziottin y Althof, 2011).

Para entender un poco más sobre esta disfunción, es importante mencionar el papel que juega la Serotonina durante el proceso fisiológico de la eyaculación. En el Tronco Encefálico, específicamente en el Núcleo Paragigantocelular, se encuentran las neuronas Serotoninérgicas, que participan en la inhibición de la eyaculación (Giuliano y Clément, 2005). La Serotonina es un neurotransmisor que se almacena en vesículas sinápticas dentro de las neuronas Serotoninérgicas. Su liberación inhibe la eyaculación en el Núcleo Paragigantocelular, mientras que su ausencia en el espacio sináptico, ocasiona que se lleve a cabo el proceso biológico de la eyaculación (Figura 2). Una vez que es liberada al espacio sináptico la Serotonina, interactúa con distintos receptores post-sinápticos y pre-sinápticos (Figura 1) (Waldinger, 2013).

Aunque existen diferentes receptores de Serotonina (5-HT), solo dos están implicados en el proceso de eyaculación (Figura 1), (De Jong y cols., 2004). Cuando la Serotonina se une al receptor post-sináptico 5-HT_{2C}, ocasiona un efecto inhibitorio sobre la eyaculación (Figura 2), mientras que cuando se une al autoreceptor pre-sináptico 5-HT_{1A}, su función biológica consiste en inhibir la liberación de Serotonina al espacio sináptico, lo que provoca un efecto facilitador en la eyaculación. Estos receptores están distribuidos ampliamente en el cerebro incluyendo el Núcleo Paragigantocelular (Wei-fu y cols., 2007).

Aunque actualmente no se conocen las causas exactas que originan la Eyaculación Precoz en el humano, se ha especulado que es ocasionada por múltiples factores, los cuales podemos agrupar en; a) Factores Psicológicos, como experiencias sexuales negativas y b) Factores Biológicos, tales como: alteraciones endócrinas y metabólicas (Buvat, 2011). Sin embargo, actualmente la teoría más aceptada, es la propuesta por Waldinger.

La teoría de Waldinger, sugiere que la Eyaculación Precoz se debe a: 1) una Hiposensibilidad de los receptores 5-HT_{2C}, lo que significa que el receptor presenta poca afinidad por la Serotonina, ocasionando que no se dé la inhibición de la eyaculación, 2) una Hipersensibilidad de los autoreceptores 5-HT_{1A}, o sea una alta afinidad por la Serotonina, provocando un efecto facilitador de la eyaculación (Waldinger, 2016). De acuerdo con estos planteamientos existen diferentes tratamientos farmacológicos para la Eyaculación Precoz, entre los que destacan el tratamiento con los Inhibidores Selectivos de la Recaptura de Serotonina (Giuliano y Clément, 2005).

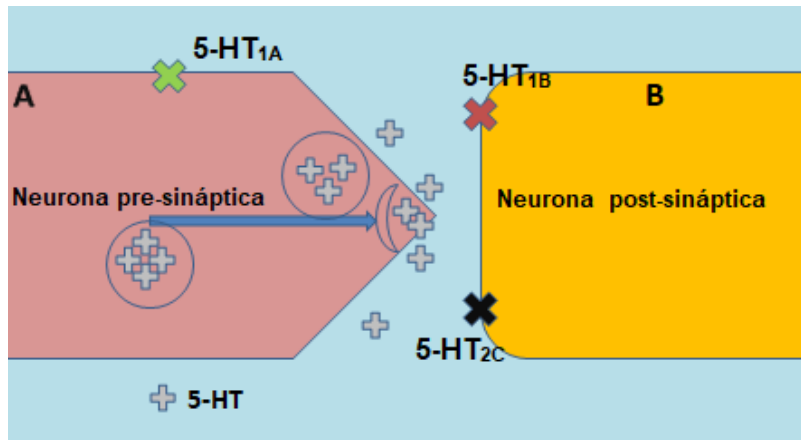


Figura 1: Esquema de dos neuronas, en rosa la neurona Serotoninérgica pre-sináptica, en amarillo la neurona post-sináptica sensible a la Serotonina. Representando la ubicación de los diferentes receptores de Serotonina (5-HT(+)) implicados en la eyaculación. (A) El autoreceptor presináptico 5-HT_{1A}, (B), los receptores postsinápticos 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C}.

ANTECEDENTES

Inhibidores Selectivos de la Recaptura de Serotonina

Los Inhibidores Selectivos de la Recaptura de Serotonina (ISRS), son fármacos utilizados en el tratamiento de la depresión y la ansiedad, y en algunos trastornos de personalidad. Se ha comprobado en hombres que la administración de ISRS, retarda el proceso de eyaculación (DeVane, 1997). Existen una gran variedad de estos fármacos, entre los más empleados y estudiados encontramos: a la Paroxetina, la Fluoxetina, la Sertralina, y la Dapoxetina (Olayo, Lortia y cols. 2015), pero actualmente la Dapoxetina es el uno de los ISRS que se receta exclusivamente para la Eyaculación Precoz. Sin embargo, se ha constatado que hombres que toman Dapoxetina para el control de la Eyaculación Precoz, pueden presentar efectos secundarios como: náuseas, diarrea, dolor de cabeza, mareos, desvanecimientos y visión borrosa ((Waldinger, 2014).

Los ISRS se unen a proteínas de anclaje SERT, evitando que estas proteínas recapturen la Serotonina desde el espacio sináptico hacia el interior de la neurona pre-sináptica, ocasionando que la Serotonina permanezca más tiempo en el espacio

sináptico e interactúa con los receptores 5-HT_{2C}, retrasando con ello a la eyaculación (Figura 2) (Waldinger, 2016).

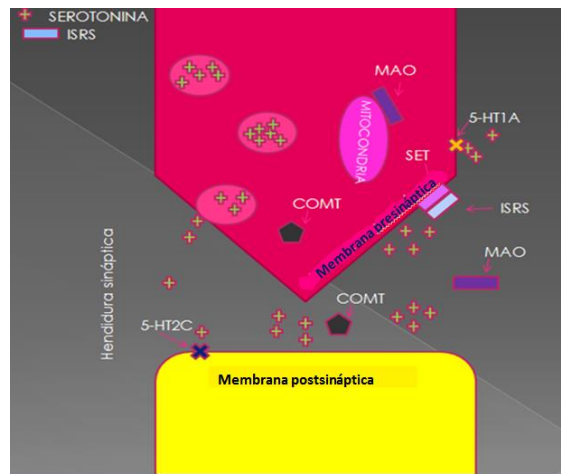


Figura 2: Esquema de dos neuronas del Núcleo Paragigantocelular (NPGI) en el Tronco Encefálico. La neurona Serotoninérgica (en rosa) libera Serotonina (+) a la hendidura sináptica, donde interactúa con diferentes receptores 5-HT y enzimas que degradan Serotonina (COMT y MAO), así como el lugar de acción de los ISRS (Modificado de Waldinger y cols. 2005).

Uso de Sertralina y Fluoxetina, como tratamiento en la Eyaculación Precoz

En México las investigaciones sobre el empleo de los ISRS para el tratamiento de la Eyaculación Precoz, ha resultado complejo y costoso. Primero por los efectos colaterales de estos medicamentos en los pacientes y segundo, porque no existe un buen apoyo económico para investigaciones clínicas y básicas (Fernández, 2014).

Otra limitación que tiene el tratamiento farmacológico de la Eyaculación Precoz, mediante los ISRS, es que durante la administración crónica, los receptores de Serotonina se desensibilizan y pierden su acción biológica (De Jong y cols., 2005). Sin embargo, Mos y cols. en 1999, han demostrado en la rata que la administración de la Fluoxetina y la Sertalina podrían tener buenos resultados en el tratamiento de la Eyaculación Precoz, pero tendrían que administrarse de manera crónica. Otras ventajas que tiene el uso de Fluoxetina y Sertralina como tratamiento en la Eyaculación Precoz, es que resultan más económicos y fáciles de conseguir, en comparación con la Dapoxetina. También se ha demostrado que el tiempo de absorción de estos fármacos es de 1 hora, ya que la concentración plasmática

máxima de Sertralina ocurre de 4 a 8 horas después de la ingestión y presenta una vida media de eliminación de 22 a 36 horas. En el caso de la Fluoxetina, su concentración plasmática máxima se da aproximadamente entre 6-8 horas y una vida media de eliminación de 15 a 26 horas, y por ello no afectará al organismo (Kim y Seo, 1998).

La rata es uno de los modelos animales más utilizados para el estudio del comportamiento sexual en el ser humano. Su conducta sexual masculina (CSM) se caracteriza por una serie de patrones (Monta, Intromisión y Eyaculación) y parámetros estereotipados identificables, los cuales difieren cualitativa y cuantitativamente (Morales Otal y cols. 2010).

Por otra parte el Umbral Eyaculatorio, que se define como el estímulo mínimo que necesita un mamífero macho para desencadenar el proceso de eyaculación y en la rata está determinado por el Número de Intromisiones que preceden a la eyaculación y/o la Latencia de Eyaculación (LE), que es el periodo que transcurre desde la intromisión hasta que ocurre la eyaculación. El Umbral Eyaculatorio sirve para evaluar la facilidad con el que el macho logra eyacular (Agmo, 1997).

Utilizando a la rata como modelo animal, Mos en 1999, realizó un estudio donde comparó los efectos de la administración de diferentes dosis de ISRS (Clomipramina, Fluvoxamina, Fluoxetina en dosis de 3mg/kg y 30mg/kg, Sertralina y Paroxetina en dosis de 1mg/kg, 3mg/kg y 10mg/kg) y evaluó la CSM de la rata en una Arena Típica (AT), la cual suele consistir de un redondel de acrílico transparente de 50 cm de diámetro y 40 cm de alto. En este estudio se demostró que la Clomipramina, en una dosis de 3 mg/kg, redujo marginalmente el Número de Intromisiones (NI). Por otra parte, la administración de Paroxetina en ratas macho adultas no modificó significativamente los parámetros de la conducta CSM, solamente produjo una reducción en la Latencia de Intromisión (LI), con una dosis de 10 mg/kg. La Fluvoxamina en una dosis de 3mg/kg disminuyó la LI y con la dosis de 30 mg/kg redujo el NI que precedieron a la eyaculación (Tabla 1).

En este mismo estudio, la administración de Sertralina, en dosis de 3 mg/kg produjo un aumento significativo en el NI y en la LE, y una reducción en la Latencia de Monta (LM) y en la LI. En una dosis de 10 mg/km produjo una disminución en el intervalo post-eyaculatorio. Por último, la administración de 3 o 30 mg/kg de Fluoxetina aumentó la LI, el Intervalo Post-eyaculatorio, la Tasa de Aciertos y una disminución en la LE en ratas macho adultas. Por lo tanto la Fluoxetina y la Sertralina al ser los fármacos que redujeron la LE, en ratas macho sexualmente expertas, podrían ser ISRS útiles en el tratamiento de la Eyaculación Precoz (Tabla 1).

ISRS	DOSIS	EFECTO
Clomipramina	3 mg/kg	Reducción NI
Paroxetina	10 mg/kg	Reducción LI
Fluvoxamina	3mg/kg 30 mg/kg	Reducción LI Reducción NI
Sertralina	1 y 3 mg/kg 3 mg/kg 10 mg/km	Reducción LM, LI Aumento NI, LE Reducción IPE
Fluoxetina	3 mg/km 30 mg/kg 3 mg/km y 30 mg/km	Reducción LE Aumento IPE Aumento LI

Tabla 1: Resultados obtenidos por Mos en 1999, donde comparo los efectos de diferentes ISRS sobre la conducta sexual masculina de la rata Wistar en una Arena Típica.

Actualmente existen muy pocos estudios donde comparen la eficiencia y seguridad de fármacos recomendados para la Eyaculación Precoz. Una de las investigaciones más recientes y relacionada con este tema, es el experimento realizado por Abu y Abdelhamed (2018) en el que, cotejaron diferentes fármacos (Dapoxetina, Paroxetina y Sildenafil) que se emplean en el tratamiento de la Eyaculación Precoz en 150 pacientes. Ellos compararon el TLEI obtenido de cada uno de los pacientes luego de la administración de los fármacos ya mencionados y observaron que la Dapoxetina presentaba mejores efectos para el tratamiento de la Eyaculación Precoz a diferencia de los demás fármacos probados, así como mayores efectos secundarios, por ello es necesario continuar analizando el efecto de los ISRS sobre la Eyaculación Precoz (Abu y Abdelhamen, 2018).

En el Laboratorio de Neurohistología y Conducta del Área de Neurociencias de la Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa, Ferreira y cols. en el 2005, desarrollaron una Arena de Selección Múltiple de Pareja (ASMP, Figura 4) para analizar la conducta sexual de la rata. Demostraron que en esta ASMP, las ratas machos lograban o alcanzaban su primera eyaculación, con un menor NI y menor LE cuando se compararon estos resultados con los datos obtenidos en una AT (Ferreira Nuño y cols., 2005 y 2010). Por tal motivo propusieron a la ASMP como un modelo animal para evaluar en la rata, la Eyaculación Precoz que se presentan en humano. También en esta arena de 4 cilindros, mostraron modificaciones en otros parámetros de la CSM, como son una disminución en el NM y NI que precedieron a la eyaculación (Ferreira- Nuño y cols. 2005 y Olayo-Lortia y cols. 2014).

Por lo tanto, demostraron que en esta ASMP, las ratas macho sexualmente expertas, al competir entre ellos para copular con una rata hembra receptiva, reducen la LE y el NI, por lo que se comportan como eyaculadores rápidos. Estos datos sugieren que este comportamiento podría deberse a que la ansiedad que se presenta entre los machos por tener acceso a la hembra, aspecto que no se ha demostrado hasta ahora. (Ferreira- Nuño y cols. 2010, Olayo-Lortia y cols. 2014).

Como ya se mencionó, Olayo Lortia y cols. en el 2014, propusieron que la ASMP, podría ser un modelo animal para la evaluación del fenómeno de la Eyaculación Precoz que ocurre en el humano, ya que las ratas macho eyaculan más rápidamente. En este estudio se demostró que la ASMP cumple con los 3 principales criterios para validarla como un modelo animal de la Eyaculación Precoz en el humano que son: 1) La **validez de apariencia**, el cual evalúa el grado de similitud que existe entre la disfunción conductual observada (Eyaculación Precoz) en el modelo y la que ocurre en el ser humano), 2) La ASMP cumple con la **validez teórica**, la cual evalúa el grado de similitud del modelo, con las teorías biológicas que explican la disfunción conductual (Eyaculación Precoz) y 3) También se demostró que cumple con la **validez predictiva**, la cual analiza sí el modelo responde adecuadamente a los fármacos que se emplean en el tratamiento de la disfunción sexual (Van der Staay y cols., 2009, Olayo Lortia y cols. 2015).

En este estudio, Olayo Lortia y cols. (2014) demostraron que la ASMP cumplía el criterio de validez de apariencia por que la rata macho en esta arena reduce el NI y la LE en comparación con los valores obtenidos en una AT, lo que demuestra que los machos se comportan como Eyaculadores Rápidos en la ASMP.

Para demostrar la Validez Teórica de la ASMP, administraron a las ratas macho un antagonista de los receptores Serotoninérgicos 5-HT_{1A} (el WAY-100635), que es un fármaco que estimula al receptor 5HT_{1A}, incrementando significativamente la LI, el NI y la LE en la ASMP (Olayo Lortia y cols. 2015).

Para comprobar el criterio de Validez Predictiva, evaluaron la CSM de la rata macho en la ASMP, después de la administración crónica de Dapoxetina, el ISRS más consumido en la Ciudad de México para el tratamiento de la Eyaculación Precoz. En este estudio en la ASMP, la Dapoxetina aumentó significativamente el NM y el NI que se requieren para eyacular con respecto al grupo control, así como la LI y la LE. Estos resultados apoyan la propuesta de que la ASMP puede ser utilizada como un modelo experimental potencial para el estudio de la Eyaculación Precoz en el humano, ya que cumple con la validez teórica, predictiva y de apariencia (Olayo Lortia y cols. 2014).

JUSTIFICACIÓN

La Dapoxetina que es el fármaco más utilizado para el tratamiento de la Eyaculación Precoz, es cara y generalmente presenta efectos secundarios. La Sertralina y Fluoxetina son antidepresivos, que por su acción como ISRS, podrían utilizarse en el tratamiento de la Eyaculación Precoz, ya que tienen la ventaja de ser más económicos. De tal modo que la propuesta de este proyecto de investigación, es evaluar el efecto de la administración de la Fluoxetina y Sertralina sobre la CSM de la rata macho evaluada en una ASMP, que es un modelo animal que se ha propuesto para la evaluación de la Eyaculación Precoz humana, por disminuir significativamente la LE y/o NI que presentan las ratas macho, comportándose como eyaculadores rápidos. El principal objetivo de este trabajo es proporcionar información sobre la efectividad de estos fármacos en la eyaculación rápida que

presentan las ratas en la ASMP evaluando el efecto de Fluoxetina y Sertralina en la LE y NI de la ratas macho principalmente.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿La administración aguda de los ISRS Sertralina o Fluoxetina, incrementaran la Latencia de Eyaculación y/o el Número de intromisiones en la eyaculación rápida que presentan las ratas macho, cuando se les evalúa su CSM en la ASMP?

HIPÓTESIS

La administración de Sertralina o Fluoxetina a diferentes dosis incrementarán la Latencia de Eyaculación y/o Número de Intromisiones de la rata macho adulta, evaluadas en una ASMP, evitando que se comporten como eyaculadores rápidos en esta arena.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la administración aguda de 3 diferentes dosis de Sertralina y Fluoxetina en los diferentes parámetros de la CSM, en ratas macho adultas sexualmente expertas en una ASMP.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Analizar el efecto de Sertralina administrado por vía oral en tres dosis distintas (1 mg/kg, 3 mg/kg y 10 mg/kg), sobre la expresión de la CSM, de la rata macho adulta sexualmente experta en una ASMP.
2. Analizar el efecto de Fluoxetina administrado por vía oral en tres dosis distintas (1 mg/kg, 3 mg/kg y 10 mg/kg), sobre la expresión de la CSM, de la rata macho adulta sexualmente experta en una ASMP.
3. Comparar los efectos de Sertralina y Fluoxetina sobre la expresión de la CSM, de la rata macho adulta sexualmente experta en una ASMP.
4. Evaluar cuál de los dos fármacos (Sertralina y Fluoxetina) tiene un mayor efecto inhibitorio sobre la Eyaculación rápida que presentan las ratas macho en una ASMP.

MATERIAL Y METODOLOGÍA

Animales: Obtención, alojamiento y mantenimiento

Se utilizarán 50 ratas macho adultas (300 ± 50 g de peso) y 15 ratas hembras (200 ± 50 g de peso) de la cepa Wistar del Bioterio de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco.

Las ratas serán alojadas en grupos de 7 animales en cajas de plexiglás jumbo (43 X 53 X 20 cm) y se mantendrán en un cuarto a temperatura ambiente controlada de 24°C, con un fotoperiodo de luz/oscuridad 12/12 h (la luz se encenderá a las 4 pm). Además, serán alimentadas con pellets de Purina Chow Harlan y agua *ad libitum*. Todos los experimentos y procedimientos de este estudio se realizarán de acuerdo con el Manual de Organización y Procedimientos del Comité Interno para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de la Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco (CICUAL-UAM-X), y con la Norma Oficial Mexicana, para el Uso y Cuidado de Animales (NOM-062-ZOO-1999).

Preparación de ratas hembras estímulo

Se utilizarán 15 ratas hembras de 270 g de peso, las cuales se anestésiarán con Sofloran (Anestésico inhalado). Primero se colocarán a las ratas hembras de forma individual en la cámara de inducción de anestésica regulada, donde el vaporizador estará de 4-5 % de Isoflurano y flujo de oxígeno de 0.5-1.0 l/min. Cuando la rata pierda la conciencia, se cierra la llave de entrada y se saca de la cámara, posteriormente se procederá a colocarle la mascarilla. Se debe de mantener la regulación del vaporizador de anestesia de 1-2 % oxígeno al 100 % y un flujo de oxígeno de 0.5-1 l/min. Inmediatamente se someterán a una ovariectomía bilateral, la cual consiste en la extirpación quirúrgica de los ovarios por medio de un pequeño corte abdominal. Después de la ovariectomía se les dará a las hembras 10 días de recuperación, para poder utilizarlas como hembras receptoras. Para inducir su receptividad, a cada una de las ratas ovariectomizadas, se les administrará, por vía subcutánea 48 h antes de cada prueba, 10 µg de Benzoato de estradiol (BE, Sigma-

Aldrich) disuelto en 0.1 ml de aceite de girasol y 4 h antes de cada prueba, 0.5 mg de progesterona (P4, Sigma-Aldrich) disuelto en 0.1 ml de aceite de girasol.

Selección de ratas machos sexualmente expertos en una Arena Típica

De las 50 ratas macho, se seleccionarán 36 ratas machos sexualmente expertos, en 4 pruebas de CSM, de las cuales las tres primeras duraran 30 minutos y la última sólo 15 minutos. Las pruebas de CSM, se realizarán cada tercer día en una AT, la cual consiste de un redondel de acrílico transparente de 50 cm de diámetro y 40 cm de alto (figura 3).

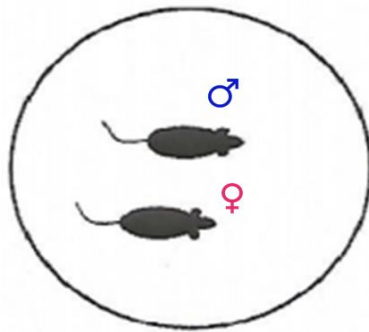


Figura 3. Esquema de la Arena Típica donde se llevará a cabo la evaluación de la conducta sexual masculina de la rata macho adulta.

En la AT se colocará a una rata macho adulta, durante 5 minutos para su habituación en el redondel. Transcurrido este tiempo, se introducirá dentro del redondel a una hembra receptiva, tratada previamente con el esquema hormonal, antes mencionado. Las pruebas de CSM, se realizarán en un cuarto de observación con luz roja tenue y se registrarán el número de eyaculaciones que presenten cada uno de las ratas macho durante cada una de las pruebas de CSM (Morales Otal, 2002):

Se considerarán ratas macho sexualmente expertas, aquellas que presenten al menos 2 eyaculaciones en 15 min en la cuarta prueba (criterio de inclusión). Los 36 machos sexualmente expertos seleccionados se dividirán al azar en 3 grupos, cada uno constituido por 12 machos.

Arena de Selección Múltiple de Pareja (ASMP)

La ASMP diseñada por Ferreira Nuño y cols. en el 2005, es un dispositivo que consiste de cuatro redondeles de acrílico transparente, colocados en forma de cruz (figura 4). En la base de cada redondel hay una compuerta de 3 cm de ancho por 5 cm de alto, por donde sólo puede atravesar una rata hembra debido a su menor tamaño. En cada uno de estos redondeles se colocará a una rata macho sexualmente experta, mientras que en el centro de la arena se colocará a una hembra receptiva como estímulo. De tal modo, que la rata hembra pueda entrar y salir de cualquiera de los 4 redondeles, esto permitirá que la hembra pueda copular con los 4 machos y se registren los parámetros de la CSM.

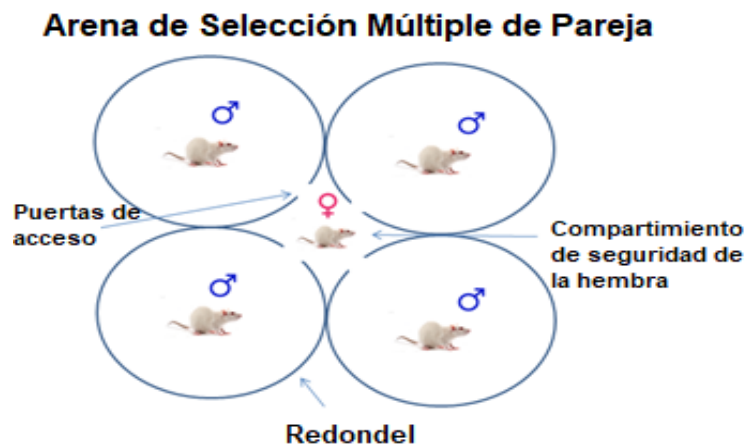


Figura 4. Esquema de la Arena de Selección Múltiple de Pareja, donde se colocará al centro una hembra receptiva tratada previamente con hormonas y en los otros 4 redondeles se colocarán, una rata macho sexualmente experta por cada redondel.

Entrenamiento de ratas en la Arena de Selección Múltiple de Pareja

Antes de iniciar el experimento, las ratas que se utilizarán deberán de habituarse en la ASMP.

Se realizarán 4 sesiones de entrenamiento, estas se efectuarán diariamente. Las dos primeras sesiones consistirán en colocar a las hembras ovariectomizadas sin tratamiento hormonal en la ASMP. Se entrenarán a grupos de 3 a 5 ratas

hembras, en la ASMP, con los redondeles vacíos, durante 15 min, con el fin que las hembras aprendan que puede entrar y salir de los redondeles, y que reconozcan la arena.

Una vez que las hembras hayan aprendido a reconocer la ASMP, se procederá a realizar una tercera y cuarta prueba, en la que se colocará a una rata macho sexualmente experta, de las experimentales de Fluoxetina y Sertralina. Se colocarán los machos dentro de cada uno de los redondeles, con las compuertas cerradas mediante una malla de metal. Posteriormente se pondrá una rata hembra ovariectomizada tratada previamente con hormonas, en el centro de la ASMP y se les darán 5 min de habituación. Al concluir el tiempo, se procederá a abrir las compuertas, para que la hembra pueda copular con los machos durante los 10 min restantes de la prueba de habituación.

Administración de los Inhibidores Selectivos de la Recaptura de Serotonina (Fluoxetina y Sertralina)

Para evaluar el efecto de los ISRS: Fluoxetina y Sertralina se procederá a realizar 3 pruebas de la CSM, durante tres semanas continuas en una ASMP.

Los 3 grupo que se formaron a partir de los 36 machos seleccionados serán: Control (CON), Fluoxetina (FLUX) y Sertralina (SER).

Se procederá a evaluar la CSM de los machos sexualmente expertos en la ASMP en tres pruebas semanales diferentes, cada una de ellas de 15 min. Se dejará a los machos sin actividad sexual durante una semana, para garantizar que se elimine el fármaco, o los residuos que queden del mismo y se recuperen sexualmente las ratas macho adultas de la prueba de conducta. El tratamiento que se utilizará, fue seleccionado a partir de los estudios de Mos en 1999, ya que a esas dosis se observaron efectos favorables sobre los parámetros de la CSM, principalmente sobre la LE y el NI. El tratamiento será el siguiente:

1. En la primera prueba, al grupo CON se le administrará por vía oral 2 ml de solución salina (vehículo), al grupo Flux **1 mg/km** de Fluoxetina disuelto en el

vehículo, al grupo SER **1 mg/km** de Sertralina de igual forma disuelto en el vehículo.

2. En la segunda, al grupo CON se le administrará por vía oral 2 ml de solución salina (vehículo), al grupo Flux **3 mg/km** de Fluoxetina disuelto en el vehículo, al grupo SER **3 mg/km** de Sertralina de igual forma disuelto en el vehículo.
3. Durante la tercera prueba se les administrará por vía oral 2 ml de solución salina (vehículo) al grupo CON, al grupo FLUX y SER se les administrará **10mg/kg** del fármaco correspondiente a cada grupo, disuelto en 2 ml de solución salina.

Pruebas de Conducta Sexual en la Arena de Selección Múltiple de Pareja

Para determinar el efecto de los ISRS: Fluoxetina y Sertralina, se procederá a evaluar la CSM en la ASMP, una hora después de la administración de cada uno de los fármacos.

En cada uno de los registros o pruebas se evaluará la CSM de 4 machos de cada grupo (CON, FLUX y SER). En cada uno de los redondeles se introducirá a una rata macho del respectivo grupo y en el centro de la arena se colocará una hembra receptiva. Se les dejará 5 min de habituación, con las compuertas de acceso cerradas, después de lo cual se retirará a la hembra e inmediatamente se abrirán las compuertas de acceso que se encuentran en la base de cada redondel o compartimento. Posteriormente, se introducirá nuevamente a la hembra en el centro de la arena y se iniciará el registro de la CSM de los machos sexualmente expertos.

Durante la prueba de CSM en la ASMP, se registrarán los siguientes parámetros:

- Latencia de Monta (LM): Tiempo que tarda el macho en montar por primera vez a la hembra desde que esta es introducida en la Arena.
- Latencia de Intromisión (LI): Tiempo que tarda el macho en intromitir por primera vez a la hembra.
- Latencia de Eyacuación (LE): Tiempo que tarda el macho en eyacular a partir de la primero intromisión.

- Número de Montas (NM): Número de veces que el macho monta a la hembra antes de la eyaculación.
- Número de Intromisiones (NI): Cantidad de montas con inserción del pene en la vagina de la hembra que realiza el macho antes de la eyaculación.
- Frecuencia Eyaculatoria (FE): Número de eyaculaciones que ocurren durante el tiempo de registro de la CSM.
- Tasa de aciertos: índice que determina la eficiencia copulatoria del macho. Se obtiene a partir del Número de intromisiones entre el número de intromisiones más el número de montas ($NI/NI+NM$).

Después de que la rata macho eyacule, se cerrará la puerta del redondel, con el objetivo de que los otros tres machos puedan tener la oportunidad de copular con la hembra. Además se le dará un máximo de 5 minutos para que eyacule cada macho después de los primeros 15 min, en caso de ser necesario

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se obtendrán los promedios de los diferentes parámetros de la CSM registrada por los machos de cada uno de los grupos (Control, Fluoxetina y Sertralina). Posteriormente se realizará una comparación entre los promedios de los grupos, mediante la prueba de Análisis de Varianza (ANOVA) de una vía seguido de la prueba de Tukey, para comparar los parámetros de la CSM de cada grupo, con el software, SPSS Versión 21.0, a un nivel de significancia de $p \leq 0.05$.

BIBLIOGRAFÍA

1. Abu El-Hamd M., Abdelhamed A. (2018). Comparison of the clínica efficacy and safety of the on-demand use of paroxetine, dapoxetine, sildenafil and combined dapoxetine with sildenafil intreatment of patients with pemature ejaculation: A rondamised placebo-controlled clínica trial. *Andrología*, 1-6.
2. Agmo, A. (1997). Male rat sexual behavior. *Brain Rec Protoc* (1), 203-209.
3. Aldrete Velasco, J., Janeiro Sarabia M., Aldrete Audiffred S., (2010). Tratamiento de la eyaculación precoz, punto de vista del internista. *Medicina interna de México* 26(5), 485-491.
4. Buvat J. (2011). Pathophysiology of Premature Ejaculation. *The journal of Sexual Medicine*, 8(4):316–327.
5. Cai T., Cocci A., Cito G., Giammusso B., Zucchi A., Chaancone F., Carrino M., Mastroeni F., Commerci F., Franco G., Palmieri A. (2018). The role of diallyl thiosulfinate associated with nuciferine and dios in the treatment of premature ejaculation: A pilot study. *Archivo Italiano di Urología e Andrología*, 90(1), 59-64.
6. De Jong, T. R., Pattij T., Veening J. G., Dederen P. J., Waldinger M. D., Cools A. R., Olivier B. (2004). Citalopram combined with WAY 100635 inhibits ejaculation and ejaculation-related Fos immunoreactivity. *European Journal of Pharmacology* (509) 49–59.
7. De Jong, T. R., Pattij T., Veening J. G., Dederen P. J., Waldinger M. D., Cools A. R., Olivier B. (2005). Effects of chronic selective serotonin reuptake inhibitors on 8-OH-DPAT-induced facilitation of ejaculation in rats: comparison of fluvoxamine and paroxetine. *Psychopharmacology*, 179: 509–515.
8. Devane, C. L., (1997). The place of selective serotonin reuptake inhibitors in the treatment of panic disorder, pharmacotherapy. *Reviews of therapeutic* 17(2), 92-282.
9. Ferreira Nuño, A., Morales Ota, A., Paredes, R. G., Velázquez Moctezuma, J., (2005). Sexual behavior of female rats in a multiple-partner preference test. *Horm Behav* (3), 290-296.

10. Fernández Delgado, D., (2014). La eyaculación precoz, actualización del tema. *Revista clínica de Medicina de familia* 7(4), 45-51.
11. Giuliano F., Clément P. (2005). Physiology of Ejaculation: Emphasis on Serotonergic Control. *European Urology* (48), 408-417.
12. Graziottin, A., Althof S (2011). What Does Premature Ejaculation Mean to the Man, the Woman, and the Couple? *The journal of Sexual Medicine* (4), 301-303.
13. Hellstrom, W., (2006). Current and future pharmacotherapies of premature ejaculation. *The journal of Sexual Medicine* 3(4), 41-332.
14. Kim, S. C., Seo K. K. (1998). Efficacy and safety of fluoxetine, sertraline and clomipramine in patients with premature ejaculation: a double-blind, placebo controlled study. *The Journal of Urology* (159), 425-427.
15. Morales Otal A., Olayo Lortia, J., Fernández Soto C., Velázquez Moctezuma, J., Ferreira Nuño A. (2010). The mild stress of chronic prenatal injections may have additive effects on drugs administered during pregnancy to alter brain sexual differentiation. *Neuroendocrinology Letters* (5), 101-109.
16. Mos, J., Mollet. I., Tolboom, J. T., Waldinger, M. D., Olivier, B. (1999). A comparison of the effects of different serotonin reuptake blockers on sexual behavior of the male rat. *Eur Neuropsychopharmacol* (1-2), 123-135.
17. Olayo Lortia, J., Ferreira Nuño A., Velázquez Moctezuma, J., Morales Otal A. (2014). Further definition on the multiple partner choice arena: a potential animal model for the study of premature ejaculation. *J Sex Med.* (10), 2428-2438.
18. Olayo Lortia, J., Ferreira Nuño A., Morales Otal A. (2015). La Arena de Selección Múltiple de Pareja: Un modelo innovador para el estudio de la eyaculación rápida en la rata. *Revista Mexicana de Neurociencias*, (16), 16-26.
19. Porst H. (2011). An Overview of Pharmacotherapy in Premature Ejaculation. *The journal of Sexual Medicine*;8(4):335–341.
20. Van der Staay, F. J., Arndt, S. S, Nordquist, R. E., (2009). Evaluation of animal models of neurobehavioral disorders. *Behav Brain Funct*, (25), 5-11.

21. Waldinger, M. D., (2013). History of Premature Ejaculation *from Etiology to Diagnosis and Treatment* (2), 5-24.
22. Waldinger, M. D., (2016). Pharmacotherapy for premature ejaculation. *Current Opinion in Psychiatry*, 27(6), 400-405
23. Waldinger, M. D., (2016). The pathophysiology of lifelong premature ejaculation. *Translational Andrology and Urology*, 5(4), 424-433.
24. Wei-fu, W., Le C., Minhas S., Ralph D. J. (2007). Selective Serotonin Reuptake Inhibitors in the treatment of Premature Ejaculation. *Chinese Medical Journal*; 120 (11):1000-1006.
25. Yidiz Y., Kilinc M. F., Doluoglu O. G. (2018). Is There And Association Between Regular Physical Activity and Ejaculation Time?. Official Journal of Urology and Nephrology Research Center and Iranian Urological Association, 1-5.

CRONOGRAMA

TRIMESTRE	1	2	3	4	5	6
Clases	X	X	X			
Búsqueda bibliográfica	X	X	X	X	X	X
Estandarización de técnicas	X	X				
Habitación de ratas				X	X	
Ovariectomía				X	X	
Pruebas de CSM en AT				X	X	
Entrenamientos en ASMP				X	X	
Experimento (pruebas de CSM en ASMP)				X	X	
Análisis estadístico				X	X	
Resultados					X	X
Tesis						X