



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

TESIS

**“Participación de la Endomorfina-1
en la conducta sexual de la rata macho”**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS
PRESENTA**

M en C Leticia Parra Gámez

TUTOR : Dr. Raúl Gerardo Paredes Guerrero

Juriquilla, Querétaro. Febrero 2011



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

Jurado de examen:

Presidente Dra. Rosalinda Guevara Guzmán

Secretario Dr. Raúl Paredes Guerrero

Vocal Dra. Margarita Martínez Gómez

Vocal Dr. Rodolfo Rodríguez Carranza

Vocal Dr. José Ramón Eguibar Cuenca

Agradecimientos

De manera muy especial agradezco al Posgrado en Ciencias Biomédicas por todas las facilidades y el apoyo para el buen término de este trabajo.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por fortalecer la superación académica de los mexicanos.

Mis mas sinceros agradecimientos a la Psic. Ma. de Lourdes Lara Ayala y a la M. en C. Leonor Casanova Rico por fortalecer la comunicación académica a distancia (videoconferencias semanales) y constituir un punto real y efectivo de interacción con la unidad de posgrado en el campus Juriquilla de la UNAM.

Al Programa de **Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica** (PAPIIT) **IN201708** por impulsar la investigación y apoyar con recursos económicos el presente trabajo.

Con especial agradecimiento al Dr. Raúl Paredes Guerrero porque su gran capacidad como tutor e infinita paciencia para señalar mis errores a superar, me permitió concluir esta fase en mi formación académica,

Gracias doctor.

Al jurado:

Dra. Rosalinda Guevara Guzmán, Dr. Raúl Paredes Guerrero, Dra. Margarita Martínez Gómez, Dr. Rodolfo Rodríguez Carranza y Dr. José Ramón Eguibar Cuenca.

Sus apreciables comentarios fortalecieron y mejoraron sin duda este trabajo.

A todos los miembros del laboratorio de Neurobiología Conductual y Cognitiva, del Instituto de Neurobiología, campus Juriquilla; en los que encontré orientación, apoyo y palabras de aliento en todo momento.

Al Sr. Alejandro García Hidalgo y a la Biol. Jacqueline González Ríos, porque además de su apoyo técnico, sus palabras, su ánimo y presencia incondicional en los momentos difíciles me permitieron continuar hasta el fin.

A todos aquellos que de alguna forma directa o indirecta participaron en el desarrollo del presente trabajo, alumnos, compañeros y amigos, a todos ustedes

MUCHAS GRACIAS.

A mi querida familia, Jesús, Rodrigo, Almis y muy especialmente a ti Diego;

la presencia de todos, su comprensión y tolerancia hicieron mas sencillo mi trabajo.

A ti querido Padre, porque siempre estuviste orgulloso de mis logros.

Confía en el tiempo, que suele dar dulces salidas a muchas amargas dificultades.

Miguel de Cervantes Saavedra.

Resumen	i
---------	---

Abstract	ii
----------	----

CAPÍTULO 1.

DESCRIPCIÓN DE LA CONDUCTA SEXUAL MASCULINA	1
1-1. Conducta sexual de la rata macho	1
1-2. Conducta socio-sexual	5

CAPÍTULO 2.

CONTROL NEURAL DE LA CONDUCTA SEXUAL	11
2.1. Estructuras anatómicas	11
2.1.1. Órgano vomeronasal	13
2.1.2. Bulbo olfatorio accesorio	15
2.1.3. Amígdala	16
2.1.4. Núcleo cama de la estría terminal	20
2.1.5. Area preóptica medial	22
2.2. Neurotransmisores vinculados con la conducta sexual masculina	25
2.2.1. Dopamina	25

2.2.2. Noradrenalina	28
2.2.3. Melanocortina	29
2.2.4. Serotonina	30
2.2.5. Oxitocina	32

CAPÍTULO 3.

Control opioide de la conducta sexual masculina	35
3.1. Opioides	35
3.1.1 Definiciones	35
3.1.2. Sistema opioide endógeno	36
3.1.3. Receptores a opioides	37
3.2. Distribución cerebral de los receptores y péptidos opioides	41
3.3. Opioides endógenos y conducta sexual	43
3.4. Endomorfina	45
3.4.1. Distribución, funciones y efectos en la conducta sexual	46

CAPÍTULO 4.

4.1 Planteamiento del problema	50
4.2 Hipótesis	51
4.3 Objetivo general	51

4.4 Objetivos específicos	52
4.5 Sujetos, material y método	52
Grupos	53
Conducta sexual	53
Conducta socio-sexual	53
Cirugía estereotáxica	54
Registro conductual	54
Fármacos	54
Histología	55
Análisis estadístico	55
Diseño experimental	55
4.6. Experimento 1	55
Experimento A	56
Experimento B	56
4.7. Resultados experimento 1	57
Experimento A	57
Experimento B	59
4.8. Experimento 2	59
Diseño experimental	60

Análisis estadístico	61
4.9 Resultados	61
Conducta sexual	63
Conducta socio-sexual	66
CAPÍTULO 5	
5.1. Discusión	69
5.2. Conclusiones	75
5.3. Perspectivas	76
REFERENCIAS	77

El control neural de la conducta sexual masculina implica la activación de diferentes áreas cerebrales y la acción de diversos neurotransmisores. Existe abundante evidencia experimental que señala entre otras regiones, a el área preóptica (APM) y a la amígdala medial (AMG) como sitios importantes para la expresión de la conducta sexual tanto en machos como en hembras. El control de la conducta sexual, está determinado por la combinación de procesos fisiológicos excitatorios e inhibitorios que desencadenan la expresión de asociaciones que refuerzan la conducta debido a que el apareamiento resulta intrínsecamente reforzante o placentero. En la presentación de este estado afectivo positivo se ha relacionado al sistema de comunicación opioide. En este sentido, se ha postulado que los opioides se liberan durante la ejecución de la conducta sexual los cuales pudieran incrementar el umbral al dolor durante la cópula (Szechtman, et al. 1981) o facilitar la conducta sexual, reduciendo el número de intromisiones y la latencia de eyaculación (Agmo y Paredes, 1988). Por otro lado, otros trabajos han apoyado que los opioides tienen un efecto inhibitorio dosis dependiente, con base en las alteraciones en la ejecución de la conducta copulatoria tras la administración de opioides como la morfina (McIntosh, Vallano y Barfield, 1989, van Furth et al., 1995), β -endorfina (Meyerson, 1981) o morficeptina (Matuszewich, Ormsby, et al. 1995). La amplia diversidad de alteraciones en la conducta copulatoria, reportada en la literatura, puede estar relacionada a que el conocimiento de la participación del sistema opioide en la conducta sexual se ha apoyado en la administración de diversos ligandos y antagonistas al sistema opioide de naturaleza farmacológica no específica a un receptor en particular. El objetivo de esta investigación fue demostrar la posible influencia de un péptido endógeno de alta afinidad al receptor opioide μ , la endomorfina-1 sobre la conducta socio-sexual y copulatoria de la rata macho. El considerar que esta administración implica la activación del receptor μ del sistema opioide por un péptido opioide endógeno, nos permite conocer la participación de este receptor

en la conducta sexual masculina lo cual representa una contribución al entendimiento de la participación del receptor μ en la regulación de la conducta sexual masculina.

La conducta sexual masculina consiste de una secuencia de patrones motores estereotipados que finalizan con la expulsión del fluido seminal identificado como eyaculación. Esta conducta representa una compleja interacción entre las señales externas sexualmente relevantes y el estado de motivación interno del sujeto. Entre los neurotransmisores que intervienen en el control de la conducta sexual están los neuropéptidos, los cuales funcionan como neuromoduladores al participar en la regulación de diferentes estados motivacionales. Los opioides representan un sistema de comunicación entre hembras y machos, involucrado entre otras funciones, en la mediación de estados afectivos positivos generados por la ejecución de la cópula. En el control neural de la conducta sexual masculina se destaca el área preóptica media (APM), área del hipotálamo con aferencias importantes provenientes de la amígdala medial (AMG). En el presente trabajo se evaluó la participación de un ligando específico al receptor opioide μ conocido como endomorfin-1 (EM-1) en la conducta sexual de la rata macho. Los resultados demuestran que la EM-1 induce alteraciones en la conducta copulatoria del macho. La latencia de eyaculación aumentó independientemente si el péptido fue administrado en el tercer ventrículo o infundido en el APM o en la AMG. Al analizar las interacciones socio-sexuales la infusión de EM-1 aumentó tanto la duración como la frecuencia de persecución a la hembra. Los efectos del péptido fueron bloqueados por la administración intra peritoneal de naloxona previa al inicio de la conducta. Estos resultados indican que la EM-1 tiene acción neuromoduladora entre la fase precopulatoria con la consumatoria sin que pueda considerarse un efecto inhibitorio. Así la infusión de EM-1 previa al inicio de la prueba conductual, modifica la transición entre el estado sexualmente motivado al consumatorio sin inducir inhibición de la conducta sexual. El presente trabajo representa una contribución al conocimiento de la participación del receptor opioide μ en la regulación de la conducta sexual masculina.

Male sexual behavior consists of a sequence of stereotyped motor patterns that end with the expulsion of seminal fluid identified as ejaculation. This behavior represents a complex interaction between external signals and sexually relevant internal motivational states of the subject. Several neurotransmitters are involved in the control of male sexual behavior among them neuropeptides, which act as neuromodulators regulating different motivational states. Opioids represent a communication system in females and males, among other functions they are involved in the mediation of positive affective states generated by execution of mating. The medial preoptic area (MPOA) and the amygdala (AME) are crucial sites in the control of male sexual behavior. In the present study we evaluate the involvement of the specific ligand to the μ opioid receptor known as endomorphin-1 (EM-1) upon male sexual behavior. The results indicate that the administration of EM-1 in the third ventricle, the MPOA or AME increased ejaculation latency. As well, the frequency and duration of pursuit was significantly increased after administration of EM-1. The effects upon sexual behavior were blocked by administration of the opioide antagonist naloxone. These results indicate that EM-1 has a neuromodulator action between the precopulatory and consummatory phase and without inhibitory sexual behavior. The EM-1, modifies the transition from sexually motivated state without inducing the inhibition of consummatory sexual behavior. This study represents a contribution to the knowledge of the involvement of μ opioid receptors in the regulation of male sexual behavior.



Capítulo 1

Descripción de la conducta sexual masculina de la rata Conducta socio-sexual

1. Conducta sexual de la rata macho

La conducta sexual de la rata macho es probablemente una de las conductas mejor descritas, desde la perspectiva conductual como funcional (Larsson y Ahlenius, 1999, Sachs y Meisel, 1988). Se divide en actividades precopulatorias, copulatorias y postcopulatorias. Durante la conducta precopulatoria, el macho y la hembra se persiguen, se olfatean la región ano genital, rozan sus cuerpos entre si y emiten vocalizaciones ultrasónicas. De este modo existe una estimulación olfativa, táctil y auditiva. La duración de esta fase es variable, puede ser extremadamente corta (escasos segundos) o larga (algunos minutos). Durante la fase copulatoria, la rata macho realiza patrones conductuales que se conocen como monta, intromisión y eyaculación. La monta se identifica cuando la rata macho coloca sobre la grupa de la hembra su región pélvica y perineal y además pueden detectarse movimientos pélvicos sin lograr la inserción peneana. Posteriormente el macho realiza una desmonta lenta. La intromisión implica la monta, más la inserción del pene en la vagina. El patrón copulatorio se identifica cuando el macho realiza un movimiento pélvico de penetración, que dura aproximadamente 400 milisegundos, luego desmonta bruscamente hacia atrás y se autoacicala el pene. Después de la primera intromisión el macho ejecuta otras montas e intromisiones. Las intromisiones propician que el macho alcance la suficiente estimulación para expeler el semen, desplegando el patrón copulatorio de eyaculación. Durante la eyaculación el macho desarrolla una intromisión que termina con un movimiento pélvico profundo e intenso, mantenido por algunos segundos.



Después el macho eleva la porción superior del cuerpo, extiende hacia los lados las extremidades anteriores y desmonta lentamente para luego autoacicalarse la región genital.

La ejecución de montas e intromisiones, finalizando en la eyaculación, se denomina serie eyaculatoria. Un macho sexualmente experto realiza la primera serie eyaculatoria en 5 a 10 minutos. Después de la eyaculación, los machos entran a un periodo refractario de inactividad sexual aproximadamente de 5 minutos. Después puede volver a presentar otra serie eyaculatoria, es decir, a tener montas, intromisiones y una segunda eyaculación. El patrón copulatorio de la rata le permite realizar de 6 a 8 series eyaculatorias antes de que el macho llegue a un estado de agotamiento sexual. El periodo posteyaculatorio comprende el periodo refractario absoluto y el relativo. Durante el periodo refractario absoluto el macho presenta poca locomoción, incluso da la apariencia de estar dormido. Es insensible a cualquier estímulo sexual y es poco responsivo a otros estímulos del medio ambiente. Durante el periodo refractario relativo el macho empieza a responder a los estímulos que le rodean y usualmente emite vocalizaciones ultrasónicas. Además de la serie eyaculatoria, el análisis conductual suele incluir al intervalo posteyaculatorio de la serie lo que se denomina serie copulatoria (figura 1, página 4).

Para que la cópula se realice es necesario que exista un estímulo biológico significativo a su alcance, es decir una hembra sexualmente receptiva que por estimulación del macho desplegará la postura receptiva conocida como lordosis. Esta se caracteriza por una dorsiflexión con elevación de la zona perineal, permitiendo al macho el acceso a la vagina (Dahlöf y Larsson 1978). El carácter estereotipado del patrón copulatorio de la rata macho ha permitido estandarizar un grupo de indicadores conductuales que conducen a evaluar la expresión de la conducta sexual masculina de forma cuantitativa.



En un registro de conducta sexual en ratas macho, los parámetros que se evalúan son:

Latencias de monta e intromisión. Es el tiempo que transcurre desde la introducción de la hembra a la arena de apareamiento en donde se encuentra el macho, hasta la primera monta (LM) o intromisión (LI), identificada cada una por sus respectivos patrones motores.

- Número de montas y de intromisiones. Es el número de montas (NM) o de intromisiones (NI) que se presentan antes de cada eyaculación.
- Latencia de eyaculación (LEy). Es el tiempo que transcurre desde la primera intromisión hasta la eyaculación dentro de una serie copulatoria.
- Intervalo posteyaculatorio (IPE). Es el tiempo transcurrido entre la eyaculación de una serie copulatoria y la primera intromisión de la siguiente serie copulatoria.
- Tasa de aciertos o Hit Rate (HR), también definido como eficiencia copulatoria debido a su dependencia a la capacidad eréctil o la sensibilidad peneana (Meisel y Sachs, 1994), refiere al número de intromisiones dividido entre el número de montas más el número de intromisiones que se presentan antes de una eyaculación ($NI/NM+NI$).
- Intervalo interintromisión (III). Es el intervalo de tiempo que hay entre cada intromisión en una serie copulatoria. Este se calcula dividiendo la latencia de eyaculación entre el número de intromisiones.
- Frecuencia de eyaculación. Es el número de eyaculaciones que tiene un macho durante un tiempo determinado de observación de la conducta sexual masculina (Meisel y Sachs, 1994). El potencial copulatorio del macho puede evaluarse a través del número de eyaculaciones que ocurren dentro de un tiempo determinado de



registro conductual sexual o por el número de eyaculaciones que ocurren antes de alcanzar el criterio de saciedad sexual (Beach y Jordan, 1956).

- Rendimiento copulatorio: se refiere a la capacidad de completar el acto copulatorio y se mide a través del número de montas y la tasa de aciertos. El aumento en el número de montas puede relacionarse a la disminución en la sensibilidad peneana o de su capacidad eréctil, incluso a la presencia de una hembra poco receptiva o a la interacción de éstos y otros factores (Krieger y Barfield, 1976).

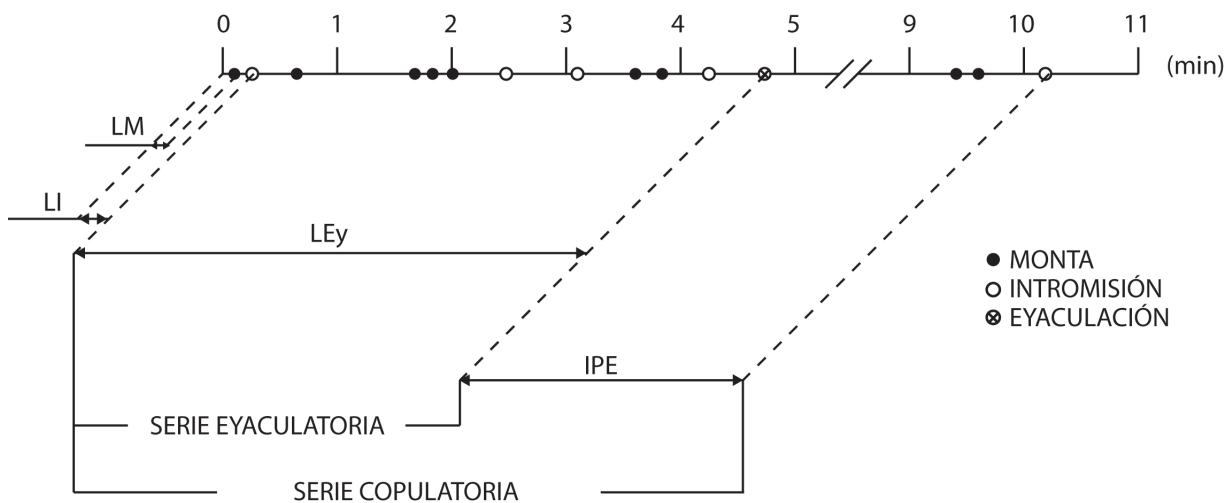


Figura 1. Representación temporal del patrón copulatorio de la rata macho. LM, latencia de monta; LI, latencia de intromisión; LEy, latencia de eyaculación; IPE, intervalo posteyaculatorio. Adaptado de Larsson y Ahelenius, 1999.



De los parámetros obtenidos del análisis del patrón copulatorio masculino, algunos han inferido estados motivacionales del macho, proponiendo que la latencia de monta podría relacionarse con la motivación sexual del macho por buscar más activamente a una pareja sexual y al intervalo interintromisión como un indicador de la motivación sexual que sigue a la breve inactividad inducida por cada intromisión (Sachs y Garinello, 1979). Sin embargo, estas mediciones están directamente vinculadas con la capacidad motriz del sujeto, y por consiguiente, no están directamente vinculadas con el estado interno de motivación sexual del macho (Paredes y Agmo, 2004). Dichos análisis inducen a confundir los procesos motores alterados con un estado sexualmente motivado. Sin embargo, si consideramos que la ejecución motora de la conducta de cópula conduce a un estado reconocido como placentero (Martínez y Paredes, 2001; Paredes y Martínez, 2001), es comprensible tratar de relacionar la latencia de inicio de la conducta sexual con un estado motivacional altamente hedónico e incentivo que finalmente lo conducirá al estado placentero inducido por la cópula.

2. Conducta socio-sexual

La interacción heterosexual es una parte de los procesos reproductivos durante los cuales existen cambios fisiológicos, morfológicos, bioquímicos y conductuales en el organismo (Hlinák, 1986) que no se limitan sólo a la cópula. Generalmente la interacción entre los sujetos intra-especie describen patrones sexuales temporalmente ordenados y sincronizados que se pueden dividir en varias fases, la precopulatoria, la copulatoria y la postcopulatoria (Hlinák, 1986). La emisión de vocalizaciones ultrasónicas, el marcaje con orina, etc., son conductas precopulatorias identificables en los machos, sin que muestren la regularidad temporal descrita para la conducta copulatoria (Hlinák, 1986). Tanto la fase precopulatoria como la copulatoria en conjunto



ofrecen información de la motivación por iniciar la cópula, es decir nos informa de aspectos apetitivos y consumatorios de la conducta sexual.

La conducta precopulatoria puede ser considerada como un proceso de comunicación específica en donde el propósito final de la pareja sexual es pasar a la fase de cópula. La calidad del apareamiento es co-determinada por la conducta precopulatoria de la hembra la cual exhibe patrones conductuales específicos precopulatorios y proceptivos entendidos en términos de solicitud. Si ella no muestra conductas precopulatorias, el macho presentará sólo cortos olfateos. Así, cuando se analiza la conducta sexual del macho es importante considerar la influencia del estímulo emitido por la hembra y viceversa.

La conducta precopulatoria en machos se modifica dependiendo de la edad. Animales jóvenes, de 30 días, ejecutan algunas conductas precopulatorias y después de los 45 días de edad, el repertorio conductual de estos animales es similar al que se observa en adultos en donde el animal es capaz de mostrar el patrón conductual completo (Hlinák, 1990). La experiencia sexual en los machos constituye otro factor a considerar entre la transición de la fase precopulatoria a la de cópula. Por otro lado, la expresión de la conducta precopulatoria es menos dependiente de la experiencia y en general el inicio de la conducta de cópula se facilita con la experiencia.

Así, machos sin experiencia sexual pasan más tiempo olfateando la región perianal de la hembra. La fase precopulatoria en los machos es muy variable, algunas veces puede consistir de unos pocos segundos o extenderse hasta diez minutos. De esta misma forma la fase precopulatoria puede estar dividida o precedida por una fase preparatoria caracterizada por conductas de marcaje y por la conducta de olfateo de rastro de olores. El incremento en la frecuencia de conductas precopulatorias en el macho, no es prerequisite para pasar de la fase precopulatoria a la fase copulatoria.



Hlinak y cols (1987) han sugerido que la transición de la fase precopulatoria a la copulatoria es el momento clave en la interacción entre parejas sexuales y de importancia para el advenimiento de la cópula, sin olvidar la relevancia de los patrones conductuales relativos a la fase de precópula y a la solicitud o proceptividad sexual (Hlinák, Madlafousek y Spinka, 1987). La transición entre la fase precopulatoria y la fase copulatoria es un proceso controlado, que refiere un procesamiento e integración de la información del estado interno del organismo y los cambios de los estímulos externos.

Meyerson y Höglund (1981) proponen que la conducta socio-sexual puede ser clasificada de acuerdo a los siguientes patrones conductuales:

- Exploración vertical: Se refiere a la investigación con intenso olfateo dirigido a un objeto particular como un pedazo de madera de la cama o aserrín, una excreta, etc. (figura 2, A).
- Olfateo: Son movimientos rápidos de las vibrisas en tanto el animal explora.
- Autoaseo: Se observa cuando el macho se acicala, limpia o lame el pelo de diferentes áreas del cuerpo, de las extremidades o del área genital (figura 2, E).
- Limpieza al compañero. Igual que la anterior pero en referencia al compañero (figura 2, B).
- Exploración genital: El macho olfatea o lame la región ano-genital de la hembra (figura 2, G).
- Persecución a la hembra: El animal experimental sigue al animal estímulo manteniendo un contacto cercano, usualmente continúa con la interacción socio-sexual.
- Descanso: El macho permanece quieto sin realizar una conducta particular.



- Escaneo: El sujeto permanece quieto moviendo la cabeza de un lado a otro, atendiendo algo del medio ambiente.
- Monta incompleta: Monta sin movimientos pélvicos.
- Respuesta de inmovilidad: El animal permanece quieto, algunas veces en posición agachada o en una esquina de la arena de observación.
- Sin contacto específico: Ningún contacto con el compañero lo cual no se incluye en ninguna clase específica de conducta (figura 2, C).
- Acercamiento con el hocico: Movimiento en un lado del compañero, mordisqueo o acercándose con la nariz (figura 2, F).
- Avanzar lentamente: El macho empuja el cuerpo de la hembra con la cabeza. También puede pasar por encima del compañero (figura 2, C, D).
- Conducta amigable: El aseo, acercamiento y toque con el hocico así como el avanzar lentamente son consideradas conductas amigables.

Si bien se ha señalado que la conducta socio-sexual no sigue una secuencia tan predecible como la conducta copulatoria, es posible deducir la siguiente secuencia de patrones: olfateo hacia la hembra, exploración anogenital, tocar los flancos con el hocico, pasar sobre la hembra, detenerse detrás de ella.

Estas conductas constituyen el inicio de la conducta copulatoria mientras que la hembra muestra conductas proceptivas. Así la fase precopulatoria se caracteriza por arrastrarse lentamente sobre la hembra, limpieza del compañero y la persecución de la hembra. La fase copulatoria es la ejecución de la conducta sexual con la hembra mientras que la fase posteyaculatoria se caracteriza por el auto aseo y el descanso. Tan pronto como el macho reanuda la cópula, la ocurrencia de conductas precopulatorias



se reduce. De cualquier forma, estas reaparecen entre cada serie copulatoria (Hlinák, 1986). Uno de los elementos más importantes de la evaluación socio-sexual pre-copulatoria es la persecución a la hembra y que en machos sexualmente inactivos se observa reducida. Esta y otras evidencias sugieren que la persecución a la hembra es un índice de la motivación sexual (Paredes, Highland y Karam, 1993). La exploración ano-genital puede ser indicativo de un bajo nivel de excitación sexual por parte del macho, probablemente porque esta conducta tiene como característica ser “un reforzador al estado interno” (Hlinák, 1990).

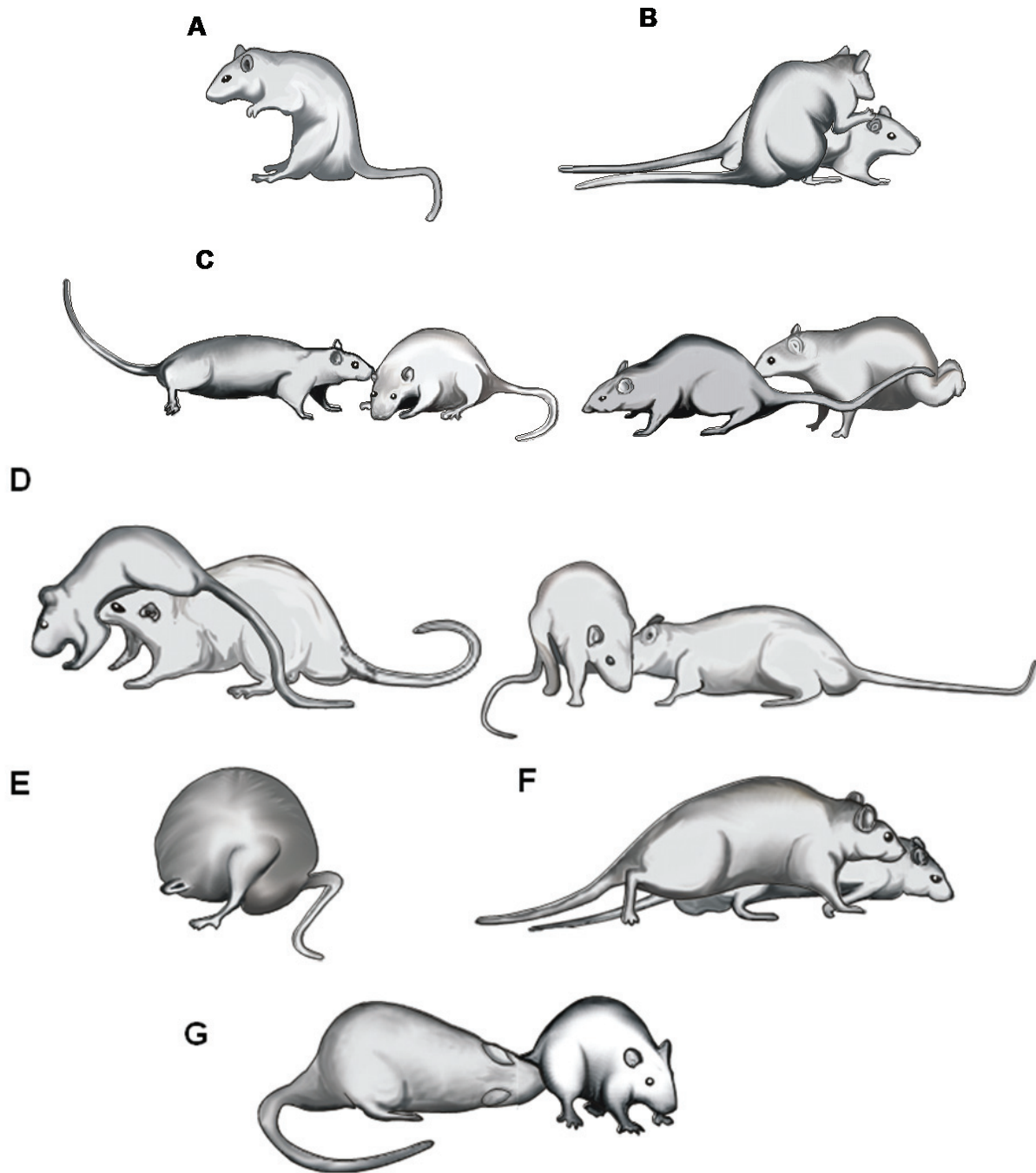


Figura 2. Conducta socio-sexual de la rata macho. En la letra **A** se ilustra la postura del macho al elevarse en sus patas traseras que corresponde al análisis de elevación vertical; **B** conducta de aseo al compañero; **C** indica conductas inespecíficas en donde no se observa contacto con la hembra. **D** se ilustran dos posturas comunes cuando el macho avanza lentamente sobre la hembra o la empuja suavemente con la cabeza, **E** esta postura es adoptada cuando el sujeto hace auto-aseo; **F** el macho se acerca tocando con el hocico o con la nariz a la hembra y **G** el macho realiza exploración genital a su compañera. Adaptado de Meyerson y Höglund 1981.



Capítulo 2

Control neural de la conducta sexual masculina

2.1 Estructuras anatómicas

2.1.1 Órgano Vomeronasal

2.1.2 Bulbo Olfatorio Accesorio

2.1.3 Amígdala

2.1.4 Núcleo de la Cama de la Estría Terminal

2.1.5 Área preóptica media

2.2 Neurotransmisores vinculados con la conducta sexual masculina

2.2.1 Dopamina

2.2.2 Noradrenalina

2.2.3 Melanocortina

2.2.4 Serotonina

2.2.5 Oxitocina

2.1. Estructuras anatómicas

El sustrato neural encargado de regular la conducta sexual masculina (CSM) ha sido ampliamente descrito (Simerly, 1998). Las señales feromonales son detectadas primero por células receptoras en el órgano vomeronasal (OVN). Estas células envían axones al glomérulo del bulbo olfatorio accesorio (BOA). Por otro lado, el bulbo olfatorio principal (BOP) perteneciente al sistema olfatorio principal y el BOA constitutivo del sistema vomeronasal, son las estructuras neurales encargadas de la transducción de las señales odoríferas liberadas por una hembra receptiva. Del BOA salen proyecciones hacia la amígdala medial anterior (AMG) y a su vez de esta región salen proyecciones hacia el núcleo de la cama de la estría terminal (NCET) y a la subdivisión lateral del área preóptica medial (APM) a través de la vía amigdalofugal ventral. El APM es una porción fundamental de la vía de proyección vomeronasal, la cual está



involucrada en el procesamiento de señales sexualmente relevantes (feromonas provenientes de una hembra receptiva) que facilitan la conducta reproductiva.

Existe otra conexión descrita desde la subdivisión anterior a la postero-dorsal de la AMG, la cual proyecta hacia la estría terminal posterior y a el APM (Segovia y Guillamón, 1993). La figura 3 esquematiza el circuito neural vinculado con la conducta sexual del macho. La participación de las diferentes estructuras cerebrales en el control de la conducta sexual se basa en estudios que han utilizado diferentes estrategias experimentales como la activación de genes de expresión temprana (como es el caso del c-fos), estudios de lesiones, de marcaje de vías anatómicas o de registro de actividad neuronal (Robertson et al. 1991; Coolen, Peters y Veening, 1996; Bialy y Kaczmarek, 1996; Veening, et al. 2005; Romero-Carbente, Hurtazo y Paredes, 2007; Pfaus, 2009).

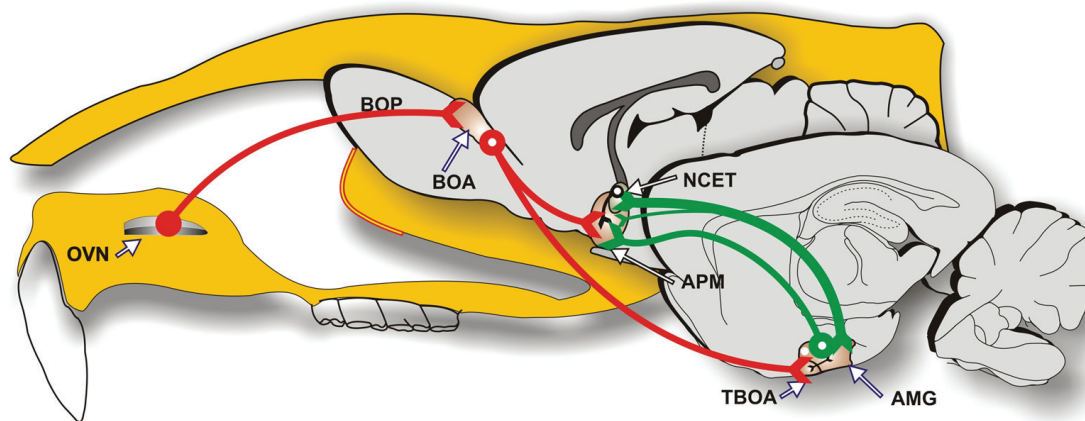


Figura 3. Esquema del circuito neural de la conducta sexual del macho. Las señales feromonales son percibidas principalmente por el órgano vomeronasal para transmitir esta información al bulbo accesorio olfatorio el que establece conexiones con la amígdala. Desde la amígdala salen proyecciones hacia el núcleo cama de la estría terminal y al área preóptica medial. OVN, órgano vomeronasal; BOP, bulbo olfatorio principal; BOA, bulbo olfatorio accesorio; NCET, núcleo de la cama de la estría terminal; APM, área preóptica medial; TBOA, tracto del bulbo olfatorio accesorio; AMG, amígdala medial. Modificado de Boehm 2006.



A continuación se describen algunas áreas cerebrales vinculadas con la conducta sexual del macho.

2.1.1 Órgano vomeronasal (OVN)

Es una estructura fusiforme localizada a ambos lados del septo nasal. Está constituida por un neuroepitelio que contiene neuronas bipolares que proyectan hacia las células mitrales en el bulbo olfatorio accesorio (BOA) y éste a su vez a la AMG. El OVN representa el receptor de las señales sexualmente relevantes conocidas como feromonas. Es una estructura sensorial dimórfica (Segovia y Guillamón, 1997) a la que se le atribuyen diversas funciones modulatorias en el control de la conducta sexual en mamíferos tanto en machos como en hembras. También influye en el inicio de la pubertad, el ciclo estral, la gestación, la conducta maternal y la conducta social (Keller, Baum, et al. 2009). Se ha propuesto que el OVN no detecta moléculas transportadas por el aire, como el epitelio olfatorio, sino que es sensible a compuestos no volátiles que se encuentran en la orina (Luo, Fee y Katz, 2003) y en secreciones de las glándulas lagrimales (Kimoto, et al. 2005). La estimulación vomeronasal implica la unión de un ligando específico a los receptores de membrana sobre la superficie de sus neuronas sensoriales, disparando potenciales de acción en estas células que proyectan al BOA. Se han identificado dos diferentes familias de receptores en las neuronas sensoriales del OVN en roedores. Los receptores de membrana tipo 1 (V1Rs) y los tipo 2 (V2Rs), ambos acoplados a proteínas G (Gai2 y Ga0-, respectivamente) tienen un patrón de distribución específico. Los receptores V1Rs se expresan en la porción apical del OVN y los receptores V2Rs en la porción basal (Swaney y Keverne, 2009). La lesión del OVN provoca interrupción de conductas inducidas por feromonas, tales como la interrupción de la ciclicidad del estro en ratones hembras colocadas en una misma caja (efecto



Lee-Boot) así como la inducción de la pubertad en ratones hembra jóvenes cuando son expuestas al estímulo odorífero de un macho (efecto Vanderbergh) (Keverne, 1983; Keller, Douhard, et al. 2006). Además, la ablación quirúrgica del OVN tiene un dramático efecto sobre la conducta reproductiva dependiente de feromonas, inhibiendo tanto la conducta copulatoria de roedores hembras (Keller, Douhard, et al. 2006), como la de machos (Meredith, 1986; Powers y Winans, 1975). En ratas macho sexualmente expertas y con lesión del órgano vomeronasal aumenta la latencia de intromisión y la latencia de eyaculación. Asimismo, aumenta el número de montas, sin alterar la capacidad de eyacular (Saito y Moltz, 1986). En pruebas de habituación y deshabituación se reporta deterioro en la capacidad de discriminación entre olores volátiles urinarios emitidos por una hembra receptiva y aquellos provenientes de una hembra ovariectomizada, o de un macho (Pankevich, Baum, et al. 2004). La lesión del OVN en ratones conduce a la extinción de la preferencia por olores sexualmente relevantes, como la orina de una hembra receptiva (Pankevich, Cherry, et al. 2006).



2.1.2. Bulbo olfatorio accesorio (BOA)

El bulbo olfatorio accesorio es una pequeña estructura embebida en la porción dorsocaudal del bulbo olfatorio. Recibe información desde el OVN a través del nervio vomeronasal. El BOA emite proyecciones directas hacia la AMG, específicamente a los núcleos corticales medial y posterior, al núcleo de la cama de la estría terminal y al núcleo de la cama del bulbo olfatorio accesorio. Las principales aferencias del BOA son hacia el núcleo de la cama de la estría terminal (NCET), el núcleo del tracto del bulbo olfatorio accesorio (TBOA), la amígdala medial y el núcleo posteromedial cortical amigdalino (Keller, Baum, et al. 2009). La lesión del BOA permitió proponer que tanto el bulbo olfatorio principal como el accesorio inducen pérdida en el desempeño copulatorio en la mitad de los machos examinados (Meredith, 1986), lo cual fue atribuido a la anosmia, sin lograr discriminar cual de los dos sistemas olfatorios era el directamente responsable de tal alteración (Larsson, 1975; Meisel, et al. 1982). En trabajos más recientes se ha propuesto que los productos volátiles de la orina de una hembra en estro activan a las células mitrales del BOA del ratón macho (Martel y Baum, 2007). La lesión parcial o total de esta estructura disminuye el tiempo que los machos pasan investigando los residuos urinarios volátiles provenientes de una hembra en estro pero su conducta de cópula se observa sin diferencia significativa al compararla con el grupo control (Jakupovic, Kang y Baum, 2008). Estos resultados han permitido sugerir que el BOA y en conjunto con el sistema olfatorio accesorio, constituye la vía neural de la acción de señales feromonales con relevancia sexual, lo cual incrementa la motivación en el macho a investigar estas señales sexuales (Baum y Kelliher, 2009). Actualmente se acepta que el BOA también está implicado en la agresión (Kolunje y Stern, 1995), en la regulación de la temperatura (Kikusui, et al. 2001), en la inhibición de la conducta sexual femenina (Segovia y Guillamón, 1993) y en el aprendizaje de memoria olfativa (Taylor y Keverne, 1991).



2.1.3 Amígdala (AMG)

Las señales químio-sensoriales y hormonales que regulan conductas sociales en muchos mamíferos, se integran en núcleos de la amígdala extendida en donde la transmisión desde el sistema vomeronasal y olfatorio principal es modulada por neuronas sensibles a andrógenos y estrógenos (Newman, 1999). La amígdala es una compleja estructura involucrada en diversas funciones conductuales, como son agresividad, la conducta maternal, sexual y de ingestión (comida y agua), en memoria, la modulación de los sistemas autónomos y neuroendocrinos y en conductas sociales como la reproducción y la agresión. También participa de en la regulación de la conducta sexual masculina (Meisel y Sachs, 1994; Newman, 1999).

Se trata de una estructura en forma de almendra ubicada en la porción medial del lóbulo temporal, colinda con la parte final rostral de la formación del hipocampo y con el límite anterior del asta temporal del ventrículo lateral. En realidad el nombre de amígdala se aplica a uno de los núcleos constitutivos, al núcleo basal. Debido a su organización y conexiones se subdivide en núcleos o sub-áreas. El criterio histológico subdivide a la amígdala considerando la densidad, la configuración y al tamaño celular, así como a la trayectoria de sus fibras y a sus aferencias. Existe una propuesta que basa la división en sub-áreas de acuerdo a la evolución primitiva que la relaciona con el sistema olfatorio (la región córtico-medial) y con la neocorteza (la región basolateral) (LeDoux, 2007). Así, la región córtico-medial incluye a los núcleos cortical, medial y central en tanto la región basolateral se constituye de los núcleos lateral, basal y accesorio basal. El núcleo medial (AMe) es un núcleo de la amígdala vomeronasal que en la rata, ha sido dividido en 2 porciones, ventral y dorsal considerando la citoarquitectura, criterios morfológicos y funcionales. Mientras que el núcleo lateral es considerado la puerta dentro de la amígdala, el núcleo central representa una región de salida de información, en particular en la expresión de respuestas emocionales innatas



provenientes del sistema olfatorio accesorio vomeronasal y de respuestas fisiológicas asociadas. La expresión de estas respuestas implica conexiones desde la subdivisión medial al núcleo central de áreas del tronco encefálico de control conductual específico y respuestas fisiológicas (LeDoux, 2007). Esto ha sugerido que la amígdala corticomedial constituye una estación de relevo del procesamiento sensorial externo e interno que finalmente llega a el área preóptica medial (APM) (Kostarczyk, 1986; Sachs y Meisel, 1994).

Amígdala corticomedial y central. El aspecto ventral de la amígdala medial incluye las porciones anterodorsal (AMGeAD), posteroventral (AMGePV) y la anteroventral (AMGeAV) (Alheid, 2003). Adyacente al tracto óptico (OT) y ventral a la estría terminal (ET), la porción dorsal está compuesta por la parte posterodorsal (AMGePD), en donde existen circuitos locales que interconectan estos sub-núcleos. La AMGePD puede ser dividida en tres columnas paralelas en donde las células se condensan desde la parte medial al borde lateral del núcleo. La AMGePD recibe y procesa información proveniente del sistema olfatorio principal como del vomeronasal (Swann y Fiber, 1997) y su relevo en el bulbo olfatorio accesorio y en la AMeAD (Meredith y Westberry, 2004). Este sub-núcleo más tarde, reconoce la relevancia social del estímulo y determina si la AMePD, debería ser estimulada o no (Meredith y Westberry, 2004). Estudios electrofisiológicos indican que la AMGePD puede estar involucrada con la excitación sexual y con el periodo refractario postcopulatorio (Smoch, et al. 1992; Stark, et al. 1998). Las neuronas de la AMGePD muestran inmunoreactividad a la proteína c-Fos en machos que percibieron estímulo feromonal de hembras receptivas (Bressler y Baum, 1996) o en los que copularon (Greco, et al. 1998; Coolen, Peters y Veening, 1996). Se han descrito neuronas que co-localizan con receptores a andrógenos y estrógenos en diferentes núcleos de la AMG (Segovia y Guillamón, 1997). Algunas de las vías eferentes de la AMGePD tienen organización estructural directa hacia núcleos hipotalámicos específicos involucrados con funciones neuroendocrinas



y vegetativas relacionadas a la zona peri-ventricular y al hipotálamo medial vinculado con el control conductual reproductivo. En resumen, la AMGePD forma un circuito sexualmente dimórfico que integra información multimodal quimiosensorial con relevancia sexual que permite la respuesta copulatoria masculina.

Amígdala Basolateral. La información recibida por la amígdala lateral es difundida por conexiones intra-amigdalinas. Por otro lado, el núcleo lateral y el basal proyectan a las células intercaladas las cuales proyectan al núcleo central. Se ha propuesto una relación funcional entre la amígdala basolateral y el estriado, concretamente en la organización de respuestas de aprendizaje instrumental en donde se utiliza como reforzador al estímulo sexual (hembra en estro) (Everitt, et al. 1989). Por otro lado, la destrucción celular, electrolítica o química, de la región basolateral amigdalina no altera ni el inicio ni la ejecución de la conducta copulatoria en la rata macho (McGregor y Herbert, 1992; Kondo, 1992).

En tanto que la lesión de la amígdala medial (AMGe), o amígdala vomeronasal, causa severa pérdida de la conducta copulatoria en la rata macho (Kondo y Arai, 1995) con reducción en el porcentaje de animales que eyaculan en pruebas sucesivas (Castilhos, et al. 2006). Se ha sugerido que la AMGe, como el APM funcionan como un sistema unilateral fundamental en el control de la conducta copulatoria en donde la estría terminal (ET) es una vía de conexión. La vía ventral amígdalofugal puede ser considerada como otra posible comunicación entre la AMGe y el APM debido a que el corte bilateral de la ET en la rata macho impide la eyaculación pero no la ejecución de montas e intromisiones y la lesión de la AMGe mas la sección de la ET provoca una alteración significativa en la conducta copulatoria (Kondo y Yamanouchi, 1995).

Se ha logrado demostrar la relevancia funcional entre la amígdala medial y la región corticomedial. La lesión electrolítica del núcleo corticomedial inhibe la cópula,



ya que animales con lesiones en esta región cerebral presentan un aumento en la latencia de la eyaculación precedida por un incremento en el número de intromisiones (Harris y Sachs, 1975; Kondo, 1992; Kostarczyk, 1986; McGregor y Herbert, 1992; Sachs y Meisel, 1994; Newman, 1999). La lesión de esta región también inhibe la ejecución de erecciones peneanas precópula cuando se encuentran ante hembras receptivas con las que no tienen contacto (Harris y Sachs, 1975; Kondo, Sachs y Sakuma, 1997). Asimismo, la sub regionalización de la amígdala medial en región posterior (AMGeP) y la medial anterior (AMGAa) provee más información de importancia funcional de la amígdala en la conducta sexual masculina. Al evaluar la conducta copulatoria y las erecciones sin contacto en ratas, se demostró que la lesión de la AMGeP elimina el porcentaje de erecciones sin contacto en tanto que la lesión del AMGeA provoca disminución en la incidencia de este tipo de erecciones (Kondo y Sachs, 2002).

Debido a que la amígdala es blanco de las proyecciones provenientes del bulbo olfatorio accesorio, procesa información vomeronasal. Esta condición hace posible entender como la amígdala está involucrada en las respuestas a estímulos sexuales mediados por feromonas. Esta característica se ha ponderado para desarrollar paradigmas en los que se lleva a los machos a estados emotivos intrínsecamente positivos y recompensantes. En este sentido, las feromonas son consideradas como los estímulos incondicionados al inducir una atracción condicionada a estímulos odoríferos previamente neutros o bien como un estímulo condicionado a la preferencia de lugar (Lanuza, et al. 2008).

La lesión neurotóxica de la amígdala corticomedial reduce significativamente el valor recompensante del estímulo odorífero con relevancia sexual, evaluado a través de la investigación precopulatoria a la hembra inhibiendo además la conducta copulatoria (McGregor y Herbert, 1992). Esta evidencia en conjunto propone que la amígdala



corticomedial constituye una estación de relevo del procesamiento sensorial externo e interno que finalmente llegan al APM (Kostarczyk, 1986; Sachs y Meisel 1994).

2.1.4 Núcleo de la cama de la estría terminal (NCET)

El núcleo de la cama de la estría terminal (NCET) es considerado parte integral de la subdivisión medial de la amígdala extendida (Shammah-Lagnado, et al. 2000). Fue descrita como una estructura perteneciente al cerebro anterior, que en su porción rostral se relaciona con el núcleo olfatorio y en la porción caudal con algunos componentes del complejo amigdalóide. Si bien ha sido considerado como un centro olfatorio secundario y constitutivo de los denominados núcleos olfatorios subcorticales, también ha sido propuesto como una extensión de la amígdala (Segovia y Guillamón, 1993), además de representar el sitio de procesamiento de información límbica y de proveer una alta y compleja organización neuronal (Gu, Cornea y Simerly, 2003). En un gradiente anteroposterior se reconocen cuatro partes principales del NCET: la división medial (NCETM), lateral (NCETL), ventral (NCETV) y la intermedia (NCETI). La región posterior del NCETM se relaciona con el sistema vomeronasal ya que recibe proyecciones vomeronasales desde el BOA (medial y posteromedial cortical) y de la amígdala medial cortical (AMe) y posteromedial (AMeP) denominada amígdala olfatoria (Gu, Cornea y Simerly, 2003) la cual recibe aferencias mono-sinápticas del bulbo olfatorio principal (Alheid, 2003; Canteras, Simerly y Swanson, 1995; Scalia y Winans, 1975; Weller y Smith, 1982). Las eferencias del NCET se dirigen hacia el hipotálamo medial y lateral así como a la amígdala corticomedial. De manera particular el NCETM proyecta al APM y al núcleo ventromedial del hipotálamo (VMH), en tanto el NCETL parece proyectar hacia el área preóptica lateral y al hipotálamo lateral (Segovia



y Guillamón, 1993). Su conexión con la amígdala corticomedial le permite compartir su función de mantenimiento e integración de conducta copulatoria, la ejecución de la eyaculación y además controlar parcialmente el inicio de la conducta copulatoria y el reinicio de la actividad sexual después de la eyaculación (Emery y Sachs, 1976).

La lesión del NCET en lo general induce disminución en la cópula en la rata macho (Segovia y Guillamón, 1993) alterando parámetros conductuales como el número de intromisiones previas a la eyaculación, aumenta el intervalo inter-intromisión y la latencia de eyaculación (Giantonio, Lund y Gerall, 1970) además de prolongar el intervalo posteyaculatorio (Valcourt y Sachs, 1979). Asimismo, la lesión del NCET provoca pérdida en la ocurrencia de erecciones en respuesta a señales sexualmente relevantes provenientes de hembras en estro (Liu, Salamone y Sachs, 1997). En hembras, después de la lesión de NCET, se ha reportado disminución de la frecuencia de lordosis y su estimulación provoca liberación de hormona luteinizante e induce ovulación (López y Carrer, 1982).



2.1.5 Área preóptica medial (APM)

El área preóptica medial (APM), es una extensión rostral del área anterior del hipotálamo, localizada entre la porción caudal del quiasma óptico y debajo de la comisura anterior. Su borde rostral es la lámina terminal y la división medial del núcleo cama constituye su borde caudal (Canteras, Simerly y Swanson, 1995). El APM tiene un patrón de conectividad extenso con diferentes áreas cerebrales, que explica la variedad de funciones que se le atribuyen como: la regulación de liberación de gonadotropina y prolactina, la termorregulación, sed hipovolémica, conducta maternal y conducta sexual masculina (Conrad y Pfaff, 1976; Chiba y Murata, 1985; Simerly y Swanson, 1988). Dentro del APM se describe al núcleo del área preóptica medial (NAPM) el cual ha sido propuesto como el sitio que integra la información hormonal asociada con el control de la conducta sexual del macho (Simerly, 1998). Las neuronas de este núcleo contienen receptores a esteroides además de conexiones bidireccionales con otras áreas que están involucradas en la organización de la conducta sexual, i. e., amígdala medial (AMGe), el núcleo de la cama de la estría terminal (NCET), el campo tegmental central, además de extensas conexiones intrahipotalámicas (Coolen y Wood 1998; Simerly y Swanson, 1988).

El APM recibe aferencias desde áreas ampliamente distribuidas entre el cerebro anterior y del tallo encefálico incluyendo regiones límbicas (i.e, amígdala, subículo ventral y núcleo septal ventro-lateral) así como una modesta aferencia desde el área tegmental ventral (Chiba y Murata, 1985; Simerly y Swanson, 1986). La vía eferente principal del APM se observa a través del paquete medial anterior al cerebral medio, particularmente hacia la región tegmental (Chiba y Murata, 1985; Rizvi, Ennis y Shipley, 1992). La lesión de las fibras del paquete medial anterior del mesencéfalo elimina la cópula de manera similar a cuando se lesiona a el APM (Sachs y Meisel, 1994) en tanto que la estimulación eléctrica de esta misma vía hacia el área ventral tegmental



facilita la cópula. Esta evidencia apoya la propuesta de que el APM ejerce sus funciones sobre la cópula a través del paquete medial del cerebro anterior (Furth, et al. 1995).

La lesión neurotóxica, por radio frecuencia o por corte del APM inhibe dramáticamente la conducta sexual masculina, lo que ha sido demostrado en diferentes vertebrados (Paredes y Baum, 1997). Usando este tipo de lesiones se ha demostrado que es crucial la destrucción de las neuronas en el APM y no de las fibras que pasan por esta área para inhibir la conducta (van Furth, Emst y van Ree, 1995). La pérdida de la conducta no se restituye con la administración de altas dosis de testosterona y tampoco se observa atrofia gonadal (Heimer y Larsson, 1964). Por lo que se ha aceptado que las alteraciones conductuales por la lesión del APM no se asocian con disfunción de la hipófisis. Asimismo, la lesión neurotóxica de los somas del APM elimina la conducta de cópula, pero no interrumpe la investigación precopulatoria (Hansen, et al. 1982), incluso en paradigmas donde la obtención del estado recompensante se asocie con un estímulo sexualmente relevante (Everitt, 1990). Estos resultados han permitido sugerir que el APM está involucrado en aspectos consumatorios de la conducta sexual que es la ejecución motora pero no en la motivación (van Furth, Emst y van Ree, 1995). Los trasplantes de hipotálamo fetal, conteniendo a el APM, en ratas con una lesión previa de esta área inducen recuperación gradual de la conducta sexual (Paredes, Piña, et al. 1993; Paredes, Piña y Fernández-Ruiz, 1990). Además, la estimulación eléctrica del APM induce erección del pene en el mono y actividad de monta en rata macho (Oomura, 1983). Estos datos sugieren que el APM es el centro integrador y regulador de la CSM.

Con el propósito de explicar cual es la participación del APM en la conducta sexual masculina se han propuesto tres hipótesis (Paredes, 2003). La primera sugiere que las neuronas del APM controlan los aspectos consumatorios de la conducta, es decir en la ejecución de la conducta. Estos se entienden como los relacionados con



el número de montas, intromisiones y con la eyaculación a la luz de que los machos con lesión en el APM muestran alteración de estos parámetros conductuales (Everitt y Stacey, 1987). La segunda propone que el APM está involucrado en los componentes apetitivos o motivacionales de la conducta sexual. La propuesta surge a partir de que animales con lesión del APM muestran disminución en la preferencia por una hembra receptiva en contraste con animales no lesionados. La alteración en la preferencia por el estímulo sexual se relaciona con la disminución en la motivación sexual (Paredes, Highland, y Karam 1993; Paredes, 2003), sin alterar la coordinación motora del sujeto. La tercera hipótesis apoya la propuesta que las neuronas de esta región están relacionadas con la regulación tanto de aspectos apetitivos, como con mecanismos de la ejecución de la conducta sexual. Los experimentos que apoyan esta propuesta son amplios y diversos. La lesión del APM puede reducir significativamente la conducta relacionada con la interacción sexual sin afectar la interacción social (Paredes, Highland, y Karam, 1993). Además, al seccionar aferencias al APM se observaron alteraciones en la eyaculación e inicio de la conducta copulatoria (Szechtman, 1978). La estimulación eléctrica del APM o bien la administración de bicuculina (antagonista de receptores GABAa) reduce el número de intromisiones, la latencia de eyaculación y el intervalo refractario posteyaculatorio, además de aumentar el número de eyaculaciones en el tiempo de observación de la conducta (Fernández-Guasti, Larsson y Beyer, 1985).

Al retomar la evidencia del efecto inhibitorio que induce la lesión electrolítica del APM en la ejecución de la CSM en varias especies, especialmente cuando se daña la porción caudal de esta área (Paredes y Agmo, 1992; Meisel y Sachs, 1994), surge una hipótesis mas. Ésta sugiere que en el APM existen mecanismos responsables del control tanto de la parte motivacional y la ejecución motora de la conducta sexual a cargo de una sub-regionalización de esta área (Yeh, et al. 2009), en donde la región más



rostral puede estar relacionada con mecanismos apetitivos mientras que la caudal involucrada con aspectos consumatorios (Balthazart, 2007).

2. 2 Neurotransmisores vinculados con la conducta sexual masculina

Son varios los sistemas de neurotransmisión involucrados en el control de la conducta sexual y existen varias revisiones que abordan ampliamente este tópico (Argiolas y Melis, 2003; Larsson y Ahlenius, 1999; Pfaus, 2009; Argiolas, 1999) por lo que en el presente capítulo daremos un panorama general de cómo algunos de ellos regulan la conducta sexual.

De manera general, los sistemas de neurotransmisión relativos a la excitación incluyen a la noradrenalina (NE) y la oxitocina (OT) los cuales estimulan la excitación sexual y el alertamiento en general; la dopamina (DA) y la melanocortina (MC) que estimula la atención y el “deseo” para la obtención del estado recompensante. Las regiones cerebrales en donde actúan son el hipotálamo y regiones límbicas como respuesta a señales con relevancia sexual o a la estimulación. En contraste a esta excitación, existen sistemas neuroquímicos que al ser activados ejercen influencia inhibitoria; es el caso de los opioides endógenos que son liberados en corteza, en el sistema límbico, en el hipotálamo y en mesencéfalo durante la eyaculación y en estados emotivos asociados con una recompensa sexual. Otros sistemas que también participan con un efecto inhibitor son los endocannabinoides (ECBs) los cuales median sedación y, finalmente, la serotonina (5-HT) la cual se relaciona en aquellas regiones reconocidas a la saciedad sexual (Pfaus, 2009).

2.2.1 Dopamina

Como neurotransmisor, la dopamina (DA) se ha relacionado con el movimiento, la atención, el aprendizaje, con los efectos reforzantes a las drogas además de



asociarse a estados placenteros vinculados a la conducta sexual. En el sistema nervioso central de la rata existen varios sistemas de neuronas dopaminérgicas. Los tres más importantes se originan en el mesencéfalo: en la sustancia negra y en el área tegmental ventral. El sistema DA nigroestriatal se origina en las neuronas localizadas en la sustancia negra y proyecta sus axones al estriado dorsal (núcleos caudado y putamen). Las neuronas que constituyen el sistema DA mesolímbico se localizan en el área tegmental ventral y proyecta sus axones a varias partes del sistema límbico, incluyendo al núcleo accumbens (Acc), la AMG, el hipocampo y a través del sistema mesocortical, hacia la corteza prefrontal (mPFC) (Phillips, Vacca y Ahn, 2008). Un cuarto sistema DA esta relacionado con diferentes áreas hipotalámicas. Es el caso de las neuronas localizadas en la zona incerto-medial del hipotálamo cuyas proyecciones llegan al núcleo dorsomedial del hipotálamo y al área preóptica así como con otros cuerpos neuronales en el núcleo arcuato del hipotálamo y que sus proyecciones se dirigen hacia la hipófisis (Melis y Argiolas, 1995).

Investigaciones en ratas macho castradas o no copuladores donde se administra 3,4-dihidroxi-L-fenilalanina (L-DOPA) precursores de DA, muestran la ejecución de conductas apetitivas y consumatorias (Malmnäs, 1976; Malmnäs, 1977), las cuales son bloqueadas al administrar pimozide, un antagonista dopaminérgico. Hoy es aceptado que agonistas DA estimulan la excitación sexual tanto en ratas como en humanos, especialmente en circunstancias en donde la expresión de conductas apetitivas son endogenamente bajas. La administración de quinerolane, agonista selectivo al receptor D2, induce conducta copulatoria en ratas machos inactivos y reduce la latencia de eyaculación de los machos que copularon (Foreman y Hall, 1987). Los antagonistas DAérgicos, clínicamente indicados como fármacos tranquilizantes y antipsicóticos, retrasan el inicio de la cópula en ratas activas (McIntosh y Barfield, 1984) así



como la eliminación de conductas proceptivas en hembras estimuladas hormonalmente (Grierson, et al. 1988).

Hull y colaboradores (1989 y 1999) han apoyado la hipótesis de que en la eyaculación, el índice de receptores D1/D2 en el APM de ratas macho es crítico para la estimulación del deseo sexual, en donde los mismos receptores integran este control conductual así como los cambios autonómicos pertinentes (Hull, Warner, et al. 1989; Hull, Lorrain, et al. 1999). Siguiendo esta propuesta, se ha demostrado la disminución de liberación de DA después de la eyaculación en el APM y en el Acc pero no en el estriado de rata macho (Blackburn, Pfaus y Phillips, 1992). Esta disminución se mantiene durante el periodo refractario post-eyaculatorio (Meisel y Sachs, 1994). Si bien estas evidencias pudieran resultar convincentes, al realizar la integración minuciosa de la evidencia experimental del papel funcional de la DA en la conducta sexual (Paredes y Agmo, 2004) es necesario diferenciar entre los efectos fisiológicos de los farmacológicos reportados. Entendiendo como efectos farmacológicos aquellos que inducen alteraciones en la conducta y que no son el resultado de la actividad sináptica y la liberación normal de DA en el sujeto de experimentación. Es de considerar que los efectos farmacológicos de la administración sistémica o intracerebral de DA es variable tanto en machos como en hembras, aunque refuerzan la hipótesis de la importancia de la DA en la organización de funciones motoras y de la activación en general. Asimismo, los estudios que analizan la liberación de DA en machos y hembras, han enfocado sus objetivos en áreas cerebrales con importancia relativa en la coordinación de la conducta sexual como es el caso del Acc. Si bien este núcleo y la concomitante liberación de DA justifican conductas y respuestas aversivas y apetitivas, no tienen relación específica con conductas de índole sexual, pero si promueven excitación y activación de patrones conductuales no específicos. La liberación de DA en el APM y en el núcleo paraventricular hipotalámico resulta relacionada con



algunos mecanismos fisiológicos de naturaleza autonómica y neuroendocrina asociados con la cópula sin que se demuestre de manera irrefutable la responsabilidad dopaminérgica de su acción fundamental sobre la motivación sexual, es por lo tanto un neurotransmisor más en el control de la conducta sexual (Paredes y Agmo, 2004).

2.2.2 Noradrenalina

Al sistema noradrenérgico central se le ha atribuido especial importancia en la activación y en el control eferente autonómico. Los cuerpos celulares se organizan en el locus coeruleus y en el borde del mesencéfalo además del tronco encefálico. Sus proyecciones se localizan en prácticamente todo el cerebro incluyendo la corteza, el hipotálamo, sistema límbico y motor (Moore y Bloom, 1979). La noradrenalina (NE) reconoce dos clases de receptores denominados " α " y " β ". Del receptor α se reconocen 2 subtipos α_1 y α_2 localizados en posición postsináptica (α_1) y presinápticamente (α_2) en donde la acción presináptica del α_2 constituye un mecanismo de retroalimentación inhibitorio para la reducción en la liberación de NE.

El estradiol induce un incremento en la síntesis de NE en el cerebro de ratas hembra (Ramírez y Carrer, 1982), y su liberación en el núcleo ventromedial del hipotálamo incrementa la respuesta de lordosis (Vathy y Etgen, 1989; Fernández-Guasti, Larsson y Beyer, 1985). La administración sistémica del agonista α_2 , clonidina, no induce conducta de cópula en ratas machos sexualmente activos (Clark y Smith, 1990). La acción sistémica del antagonista α_2 , yohimbina, estimula erección del pene, tanto en rata macho como en el hombre, a través de activación autonómica (Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti, 1994).

Las lesiones de células NE en el locus coeruleus provoca incremento del periodo refractario posteyaculatorio en ratas macho y la inyección de un inhibidor de la



síntesis de NE incrementa las latencias de monta e intromisión sugiriendo una disminución del “deseo” sexual (McIntosh y Barfield, 1984). Otros trabajos en donde lesionan la corteza cerebral frontal reportan incremento en la latencia de monta (Agmo y Villalpando, 1995). Más evidencia experimental pone en relevancia la participación de los adrenoreceptores $\alpha 2A$ en rata macho castrada ya que al inhibir su expresión en el tronco encefálico, se observa un efecto ansiolítico provocando un incremento en la atención del macho hacia la hembra en pruebas de conducta sexual (Shishkina, et al. 2001).

2.2.3 Melanocortina

Se trata de los neuropéptidos derivados de la proopiomelanocortina (POMC) que incluyen a la β -endorfina, hormona adrenocorticotropina (ACTH) y a la hormona estimulante de α -melanocitos (α -MSH). Las neuronas de este sistema de comunicación se organizan en el núcleo arcuato del hipotálamo y sus proyecciones se dirigen hacia núcleos rostrales del hipotálamo, sistema límbico, mesencéfalo y tronco encefálico (Heisler, et al. 2003). Como en otros sistemas de comunicación, el estradiol incrementa la concentración de α -MSH en el hipotálamo medio basal en la rata hembra (Medina, et al. 1998). Su posible acción sobre la conducta sexual masculina ha sido abordada con la administración de diversos agonistas como el MT-II y el bremelanotide (PT-141) en el tratamiento de disfunción sexual masculina y femenina (Hellstrom, 2008; Shadiack, et al. 2007). Se ha reportado que la administración sistémica de bremelanotida estimula la liberación de DA en el APM incrementando conducta proceptiva en la rata hembra, la cual es bloqueada por la co-administración del antagonista selectivo a melanocortina o antagonista a D1 (Rössler, 2006). De esta forma, la propuesta de acción es que las melanocortinas actúan presinápticamente al incrementar la liberación de DA en el APM y que tal liberación actúa sobre receptores D1, los cuales facilitan



la motivación sexual, sin embargo no se propone un mecanismo de control y la influencia sobre los machos especialmente en la erección del pene o en pruebas de motivación incentiva.

2.2.4 Serotonina

Las neuronas serotoninérgicas (5-HT) son abundantes en los núcleos del raphe en el mesencéfalo y envían sus proyecciones hacia el tronco encefálico, al mismo mesencéfalo y al cerebro anterior como el hipotálamo, sistema límbico, hipocampo y corteza cerebral. También existen proyecciones hacia la región lumbo-sacra asociadas con el control reflejo genital. La propuesta del efecto inhibitorio de la serotonina es ampliamente apoyada por diferentes manipulaciones experimentales en donde se reporta incremento de la transmisión de serotonina que provoca inhibición de la conducta sexual (Fernández-Guasti, et al. 1992).

La lesión electrolítica del núcleo medio del raphe (McIntosh y Barfield, 1984), la lesión neurotóxica de neuronas serotoninérgicas (Fernandez-Guasti y Escalante, 1991; Fernández-Guasti y Agmo, 1989) o la inhibición de la síntesis de serotonina (Fernández-Guasti y Agmo 1989) provoca facilitación la cópula debido a una reducción en la longitud del periodo refractario postcopulatorio. Esto en conjunto apoya la propuesta de que la 5-HT origina inhibición tónica sobre la conducta sexual y sobre el umbral eyaculatorio (deJong, et al. 2007).

Con el uso de fármacos específicos a 5-HT se han descrito cuatro clases de receptores que contienen siete subtipos de receptores funcionales y cuatro receptores recombinantes. Con esta amplia información del sistema de comunicación serotoninérgica, el estudio de la participación de la serotonina en la conducta sexual no ha resultado sencillo. Es así que el tratamiento sistémico en rata macho con el



agonista para el autoreceptor 5-HT_{1A}, el 8-OH-DPAT provoca facilitación de la eyaculación en términos de disminución en el número de intromisiones previas a la eyaculación (Agmo, Fernández y Picker, 1989). Sin embargo, este fármaco retrasa el inicio de la cópula, sin inducir cambio de preferencia de lugar (CPL), prueba conductual utilizada para evaluar estados afectivos positivos (Camacho, et al. 2007). Asimismo, la administración del agonista TFMPP al receptor 5-HT_{1B/2C} elimina la conducta copulatoria en el conejo macho (Paredes, Contreras y Agmo, 2000). La administración de serotonina o del agonista TFMPP dentro del APM o del Acc en rata macho provoca aumento en el número de montas y en la latencia de eyaculación (Fernández-Guasti, et al. 1992). Pruebas farmacológicas en el ratón mostraron que el precursor de serotonina (5-HTP), el agonista 5-HT_{1B}, piperazina (TFMPP) y el agonista al receptor 5-HT_{1A}, propylamino-tetralin (8-OH-DPAT) inhibieron la conducta copulatoria del ratón macho. El ratón knockout (KO_{1B}) requiere de mayor estimulación antes de la eyaculación comparando su conducta frente a los machos con genotipo WT. Esta evidencia sugiere que la serotonina participa inhibiendo la conducta sexual del macho y que ambos subtipos de receptores a serotonina, 5-HT_{1B} y 5-HT_{1A} participan en dicha acción inhibitoria (Rodríguez-Manzo, López-Rubalcava, et al. 2002).

Otras investigaciones han evidenciado que la unión de serotonina al receptor 5-HT₂ incrementa la liberación de endocannabinoides, lo que ha sugerido una interesante relación con este sistema de comunicación neural (Best y Regehr, 2008). Es claro que los endocannabinoides participan en la regulación de una variedad de funciones como el dolor, la ansiedad, conducta de alimentación y deseo sexual (Gorzalka, Hill y Chang, 2010, Fattore, et al. 2010). La influencia de los endocannabinoides en la conducta sexual masculina ha sido explorada con anandamida, agonista al receptor CB₁ en donde se reporta aumento en la latencia de eyaculación (Martínez-González, et al. 2004) mientras que la administración de antagonistas al receptor CB₁ provocan



facilitación de la erección y de la eyaculación (Gorzalka, Morrish y Hill, 2008; Melis, Succu y Argiolas, 2004; Succu, et al. 2006). Así, se acepta que los endocannabinoides inducen inhibición de la conducta sexual masculina de manera independiente de la condición hormonal del sujeto (Gorzalka, Hill y Chang, 2010).

2.2.5 Oxitocina

La oxitocina es un neuropéptido presente en ambos sexos conocido como facilitador de la reproducción en mamíferos (Carter, 1992). Es liberado por neuronas localizadas en los núcleos paraventricular (PVN) y supraóptico del hipotálamo (SO) que proyectan hacia la neurohipófisis y hacia otras áreas extrahipotalámicas como el septo, el hipocampo, la médula oblongada y la médula espinal. La neurosecreción de oxitocina se ha relacionado a funciones tales como memoria, aprendizaje, conductas afiliativas y socio-sexuales incluyendo erección del pene y conducta copulatoria (Lee, et al. 2009). La investigación en diferentes especies (Argiolas, 1999) apoya la propuesta del efecto facilitador de la oxitocina en la función eréctil y en la conducta sexual masculina considerando su efecto en la disminución del intervalo posteyaculatorio (Arletti, et al. 1997; Pfau, 2009). La administración intravenosa de oxitocina disminuye la latencia de la primera eyaculación y retarda la saciedad sexual en conejos (Fjellström, Kihlström y Melin, 1968). La destrucción electrolítica o excitotóxica de neuronas oxitocinérgicas en el PVN, elimina la erección del pene (Liu, Salamone y Sachs, 1997). Por otro lado, se ha asociado la baja concentración de ARNm para la oxitocina en el PVN con baja actividad copulatoria (Arletti, et al. 1997).

Las inyecciones intracerebrales de oxitocina en el APM o en el núcleo ventromedial hipotalámico facilitan la conducta de lordosis en rata hembra (Schulze y Gorzalka, 1991) mientras que la inyección en el PVN estimula la erección del pene (Kita, et al. 2006).



Asimismo, la administración de antagonistas a oxitocina por vía intracerebroventricular incrementa la latencia de intromisión, disminuye el número de montas e intromisiones y elimina la eyaculación en ratas, lo cual ha sugerido una acción moduladora de la erección y en la eyaculación dependiente de oxitocina, tanto a nivel periférico como central (Argiolas, 1999; deJong, et al. 2007). Otros trabajos además vinculan a la oxitocina con la excitación sexual y con la motivación (Meisel y Sachs, 1994; Arletti, et al. 1997).

Tanto la oxitocina como el PVN constituyen un binomio funcional analizado a través de diferentes paradigmas. En la actualidad tanto la activación eréctil como la conducta copulatoria relacionadas con la activación de neuronas oxitocinérgicas, ha sido asociada con la activación de otros sistemas de comunicación presentes en el PVN, como la dopamina, serotonina, aminoácidos excitatorios, el óxido nítrico y péptidos opioides (Argiolas y Melis, 2004). En relación con la serotonina se ha demostrado una interesante relación con la neurotransmisión oxitocinérgica. En rata se ha demostrado que la administración intracerebroventricular de 5-HT estimula la secreción de oxitocina (Jørgensen, et al. 2003), y la inyección sistémica de liberadores de 5-HT (fenflutamina y p-cloroamfetamina –p-CA-) incrementan significativamente la concentración plasmática de oxitocina así como la expresión de c-Fos en neuronas oxitocinérgicas (Javed, Kamradt y Van de Kar, 1999; Mikkelsen, 1999). Es de considerar que todos los grupos celulares oxitocinérgicos reciben inervación serotoninérgica, originada principalmente en el núcleo del raphe dorsal (Larsen, et al. 1996). Además, se ha demostrado la presencia de receptores postsinápticos 5HT_{1A} en somas de neuronas oxitocinérgicas y al administrar 8-OH-DPAT se provoca incremento en la liberación de oxitocina que es bloqueada con un antagonista administrado sistémicamente o de forma directa en el PVN (Osei-Owusu, et al. 2005). Como consecuencia de esta relación funcional se ha propuesto que tanto la serotonina como la oxitocina están vinculados con la etiología



de la eyaculación precoz (Waldinger, Hengeveld, et al. 1998), en donde el sistema de receptores serotoninérgicos que originan el incremento en la liberación de oxitocina tengan relación con la hiposensibilidad del receptor 5-HT_{2c} y/o a la hiposensibilidad del receptor 5-HT_{1A} (Waldinger, Berendsen, et al. 1998). El tratamiento crónico con inhibidores de la recaptura de serotonina en el caso de depresión o bien para aliviar la eyaculación precoz, ha originado una hipótesis de acción entre la serotonina y la oxitocina. En este mecanismo se plantea que los receptores 5-HT_{1A} se desensibilizan de manera gradual en neuronas oxitocinérgicas lo que origina retraso significativo en la latencia de eyaculación (deJong, et al. 2007).



Capítulo 3

Control Opiode de la Conducta Sexual Masculina

3.1 Opioides

3.1.1 Definiciones

3.1.2 Sistema opioides endógeno

3.1.3 Receptores a opioides.

3.2 Distribución cerebral de los receptores y péptidos opioides

3.3 Opioides endógenos y conducta sexual

3.4 Endomorfina

3.4.1 Distribución y efectos en la conducta sexual.

3.1.1 Definiciones

El control de la conducta sexual en machos y en hembras, involucra la participación de distintos mecanismos cerebrales tanto excitatorios como inhibitorios, en donde los neuropéptidos actúan como neurotransmisores o neuromoduladores en el cerebro. Estas sustancias activan receptores específicos y son extremadamente potentes en influenciar funciones centrales formando parte importante del sistema neurohormonal (Argiolas, 1999). El conocimiento del sistema de neuropéptidos de naturaleza opioide se ha desarrollado ampliamente debido a que está asociado con diferentes funciones entre las que se incluyen: analgesia, regulación de funciones gastrointestinales, endocrinas y del sistema nervioso autónomo; funciones relacionadas con recompensa y adicción, y en funciones cognitivas como la regulación del aprendizaje y memoria (Akil et al. 1998). Además está bien documentada la participación del sistema opioide endógeno en la regulación del embarazo, parto y funciones reproductivas en ratas hembra (Pfaus y Gorzalka, 1987; Argiolas 1999).

El consumo crónico de opioides en mujeres adictas, se ha asociado con la eliminación de sueños sexuales, amenorrea, anorgasmia y en algunos casos infertilidad, en tanto que otros sujetos refieren una severa disminución en la capacidad de excitación



sexual (Pfaus y Gorzalka, 1987). Varias líneas de investigación han demostrado que los péptidos opioides endógenos modulan la conducta sexual tanto en machos como en hembras de una amplia variedad de mamíferos. La evidencia experimental tanto en humanos como en roedores indica que el uso crónico de drogas relacionadas al sistema opioide endógeno como el opio, la morfina, heroína y metadona provocan inhibición de la conducta copulatoria (Pfaus y Gorzalka, 1987; Palha y Esteves, 2002).

3.1.2 Sistema opioide endógeno

Los péptidos opioides endógenos son pequeñas moléculas que se producen naturalmente en el sistema nervioso central (SNC) y en varias glándulas endocrinas como la hipófisis y la glándula suprarrenal. Estos péptidos producen algunos efectos similares a los que desencadenan los alcaloides clásicos derivados del opio, como la morfina y la heroína. Su función además, como opioides endógenos se encuentra entre hormona y neuromodulador (Janecka, Fichna y Janecki, 2004).

Se han identificado cuatro familias de péptidos opioides clásicos: encefalinas, endorfinas, dinorfinas y nociceptina; cada una se deriva de un polipéptido precursor distinto y tiene distribución anatómica característica. La pro-opiomelanocortina (POMC), la proencefalina (PENK), la prodinorfina (PDYN) y la pronociceptin/orfanina (FQ) (cuadro 1, página 37). Todos los péptidos, excepto la nociceptina, se derivan de precursores constituidos por un pentapéptido con una secuencia peptídica Tir-Gli-Gli-Fe-(Met o Leu) que se ha denominado secuencia común de opioides. Cada precursor queda sujeto a complejas divisiones y modificaciones post traduccionales, lo que da por resultado la síntesis de múltiples péptidos activos. Éste va seguido por varias extensiones C-terminal que producen péptidos que varían de 5 a 31 residuos. El precursor FQ contiene fenilalanina en el extremo tirosina- N-terminal lo que repre-



senta un residuo necesario para la alta afinidad de unión a los receptores a opioides clásicos (Waldhoer, Barlett y Whistler, 2005) .

La proopiomelanocortina contiene 265 aminoácidos. De su procesamiento posttraduccional en la hipófisis se genera la hormona adrenocorticotrópa (ACTH), la hormona estimulante de los melanocitos (α -MSH, β -MSH y γ MSH) y la beta lipotropina (β -LPH), las cuales no tienen actividad opioide. A partir del fragmento de β -LPH se producen la β -endorfina (β -end) y la Met-enkefalina (Met-enk), conocidas como proteínas opioides. Los péptidos de naturaleza opioide producidos por la Pro-enkefalina se encuentran ampliamente distribuidos en el sistema nervioso central. La Pro-enkefalina contiene cuatro copias de Met-enkefalina, una Leu-enkefalina, una Met-enkefalina-Arg-Phe y una Met-enkefalina-Arg-Glu-Leu. La Pro-dinorfina es una prohormona de 254 aminoácidos la cual, al ser cortada enzimáticamente, puede producir tres copias de Dinorfina A, Dinorfina B, α -Neoendorfina y α -Neoendorfina. Del precursor de Pronociceptina se obtienen tres diferentes péptidos, una copia de Nociceptina/Orfanina FQ (noc/o FQ), una de Nocistatina (prepronociceptina) y una copia de prepronociceptina (cuadro 1).

3.1.3 Receptores opioides

Estudios de clonación molecular han confirmado la existencia de diferentes tipos de receptores a opioides, designados μ , κ , δ y el receptor ORL en el sistema nervioso central y periférico. También se cuenta con fuerte evidencia que indica la presencia de varios subtipos de receptores de cada clase (Hardman y Limbird, 2007) tomando como referencia la diferencia de afinidades de distintos agonistas clasificándolos como: μ_1 y μ_2 , δ_1 y δ_2 y κ_{1a} , κ_2^a y κ_2^b .



Cuadro 1. Se presentan algunos de los péptidos opioides endógenos descritos en mamíferos, así como su precursor biológico, la secuencia de aminoácidos y la afinidad por su receptor. (μ , receptor mu; δ , receptor delta; κ , receptor kappa; ORL, receptor a nociceptina). Tomado de (Janecka, Fichna y Janecki, 2004).

Péptidos opioides endógenos en mamíferos.

Precursor	Péptido endógeno	Secuencia de amino ácidos	Afinidad al receptor opioide
Pro-encefalina	Met- encefalina	Tir-Gli-Gli-Fe-Met	δ, μ ($\delta >> \mu$)
	Leu- encefalina	Tir-Gli-Gli-Fe-Leu	
	Metorfamida	Tir-Gli-Gli-Fe-Met-Arg-Arg-Val—NH ₂	
Pro-opiomelanocortina	β - endorfina	Tir-Gli-Gli-Fe-Met-R-Ser-Glu-Lis-Ser-Gln-Tr-Pro-Leu-Val-Tr-Leu-Fe-Lis-Asn-Ala-Ile-Ile-Lis-Asn-Ala-Tir-Lis-Lis-Gli-Gli	μ, δ ($\mu = \delta$)
Pro-dinorfina	Dinorfina A	Tir-Gli-Gli-Fe-Leu-Arg-Arg-Ile-Arg-Pro-Lis-Leu-Lis-Trp-Asp-Asn-Gln	κ, μ, δ ($\kappa >> \mu$ y δ)
	Dinorfina A (1-8)	Tir-Gli-Gli-Fe-Leu-Arg-Arg-Ile	
	Dinorfina B	Tir-Gli-Gli-Fe-Leu-Arg-Arg-Gln-Fe-Lis-Val-Val-Tr	
	α -Neoendorfina	Tir-Gli-Gli-Fe-Leu-Arg-Lis-Tir-Pro-Lis	
	β -Neoendorfina	Tir-Gli-Gli-Fe-Leu-Arg-Lis-Tir-Pro	
Pro-nociceptina	Nociceptina	Fe-Gli-Gli-Fe-Tr-Gli-Ala-Arg-Lis-Ser-Arg-Lis-Leu-Ala-Asn-Gln	ORL
Desconocido	Endomorfina-1	Tir-Pro-Trp-Fe-NH ₂	μ
	Endomorfina-2	Tir-Pro-Fe-Fe-NH ₂	

La Unión Internacional de Farmacología (IUPHAR) ha propuesto la denominación (OP1, OP2 y OP3) en función del orden cronológico de clonación de los tres tipos de receptores (δ , κ , y μ respectivamente). La existencia de los subtipos para cada receptor puede estar relacionada a que una vez producido el ARN mensajero (ARNm), se originan diferencias de acoplamiento proteico. Por otra parte, algunos datos far-



macológicos y bioquímicos sugieren la existencia de agrupaciones de receptores que pudieran explicar diferencias farmacológicas, en particular la formación de dímeros, tanto entre receptores del mismo grupo como entre grupos de receptores, en particular entre μ y δ y entre δ y κ . Los receptores opioides pertenecen a la familia de receptores con siete segmentos trans-membrana, acoplados a proteínas G, (GPCRs) por lo que se relacionan con los efectores celulares primarios a través de proteínas Gi/Go y a la mayoría de las respuestas a los opioides (Corbet y Mignani, 2006).

Las neuronas opioides liberan péptidos que se unen a receptores neuronales de localización presináptica que afectan la transmisión del estímulo nervioso. La unión del opioide al receptor provoca, mediante acción de la subunidad α de la proteína G, la inhibición de la adenililciclase, responsable de la transformación de ATP en AMPc, disminuyendo así las concentraciones de AMPc intracelular. Por otra parte, las subunidades β y γ de la proteína G actúan modulando los canales de potasio y calcio. Dependiendo del tipo de receptor opioide implicado; dicha inhibición provoca la apertura de canales de potasio y el cierre de canales de sodio. Así por ejemplo, la activación de los receptores μ y δ provoca la apertura de los canales de potasio, mientras que los receptores κ provocan el cierre de determinados canales de calcio. Por localizarse preferentemente a nivel presináptico, al abrirse los canales de potasio se produce una hiperpolarización de membrana, que provoca una reducción de la descarga de potenciales de acción, la consecuente disminución en la duración de dichos potenciales, causa una reducción de la capacidad para la liberación del neurotransmisor. Un efecto similar se obtendrá si se cierran los canales de calcio, ya que este ión es fundamental en los mecanismos de liberación de neurotransmisores (Corbet y Mignani, 2006).

Los genes que codifican para estos receptores han sido clonados. La comparación en la secuencia de aminoácidos entre estos receptores revela amplia homología



estructural ente ellos. Las funciones vinculadas para cada tipo de receptor no pueden ser señaladas de forma tajante. Por ejemplo, la participación en procesos nociceptivos esta a cargo de los tres tipos de receptores pero en diferente grado. El receptor μ tiene el efecto antinociceptivo más potente acompañado por el desarrollo de dependencia. El receptor δ tiene baja eficacia en la mediación del dolor pero reduce el potencial adictivo. Los receptores κ median efectos analgésicos en tejidos periféricos. Por otro lado es conocido que el receptor μ , lo mismo que los demás receptores a opioides, es translocado desde la membrana plasmática en un endosoma después de ser estimulado por su ligando (Zhang, et al. 1998). La endocitosis del receptor puede contribuir a la desensibilización o resensibilización en donde la transducción de señales intracelulares son atenuadas con la remoción rápida y reversible del receptor desde la superficie celular, en donde se involucra la fosforilación del receptor y participación de β -arrestina en directa interacción con el extremo carboxilo-terminal tanto de β -adaptina y clatrina (Ferguson, 2001). Así, este mecanismo de desensibilización funcional ha sido utilizado como herramienta experimental para correlacionar diferentes aspectos de la conducta sexual con la activación e internalización del receptor μ (Micevych, et al. 2003; Mills, Sohn y Micevych, 2004; Coolen, et al. 2004).



3.2 Distribución de los péptidos opioides y sus receptores

La distribución de los péptidos opioides endógenos se observa a lo largo del sistema nervioso central (SNC) (cuadro 2, página 41). Las neuronas muestran vesículas sinápticas en co-existencia con los neurotransmisores clásicos y/o con neuropéptidos (Argiolas, 1999; Vaccarino y Kastin, 2001). La proopiomelanocortina se localiza en las neuronas del núcleo arquato y del núcleo del tracto solitario, que proyectan sus axones hacia el sistema límbico y a la médula espinal. Además, se encuentran endorfinas en la hipófisis y en células pancreáticas. En cuanto a los derivados de la proencefalina y la prodinorfina, se encuentran en todo el SNC con posibilidad de co-localización. Su distribución incluye zonas relacionadas con el dolor (asta dorsal de la médula espinal), con la integración de sensaciones afectivas (hipocampo, corteza cerebral), con el sistema autónomo (mesencéfalo) o con el sistema endocrino (eminencia media) (Lorenzo, 2008). Los tres tipos de receptores están densamente localizados en regiones asociadas a vías descendentes nociceptivas, como la sustancia gris periacueductal, médula rostroventral, tálamo ventral y asta dorsal de la médula espinal. También se localizan en otras regiones tales como, el área tegmental ventral del mesencéfalo y el núcleo accumbens, regiones asociadas a procesos de reforzamiento por efecto de opioides, en áreas vinculadas con el control motor (estriado) o bien aquellos que participan en respuestas somáticas de dependencia y abstinencia a los opioides como el locus coeruleus. Entre los receptores opioides, la activación del receptor μ produce analgesia supraespinal, aumento del tono muscular, constipación, oliguria, fuerte depresión respiratoria e intensa dependencia física (Hardman y Limbird, 2007). En el hipotálamo se han identificado los tres tipos de receptores usando el método de hibridación in situ (Mansour, et al. 1995) lo cual explica la participación del sistema opioide en la regulación de funciones autonómicas, conductuales y neuroendocrinas vinculadas a esta región diencefálica (Desjardins, Brawer y Beaudet, 1990).



Cuadro 2. Se ilustra la distribución topográfica de los péptidos opioides endógenos y los receptores opioides en el sistema nervioso central. Adaptado de Lorenzo 2008.

Distribución de los péptidos opioides endógenos y de los receptores opioides						
	Péptidos opioides endógenos			Receptores opioides		
	Encefalina	Dinorfina	β -endorfina	<i>Mu</i>	<i>Delta</i>	<i>Kappa</i>
Sustancia gris periacueductal	●	●	●	●		●
Núcleo periventricular	●	●				
Colículo inferior				●		●
Núcleos talámicos				●		●
Núcleos Hipotalámicos	●	●	●	●		●
Núcleo interpeduncular				●		●
Núcleos del rafe	●			●		●
Núcleo estriado	●			●		●
Área tegmental ventral				●		●
Sustancia negra				●		●
Amígdala		●	●	●	●	●
Núcleo accumbens			●		●	●
Tubérculo olfatorio					●	●
Tracto solitario		●	●			
Núcleo pontino					●	
Núcleo neostriado					●	
Hipocampo	●	●	●			
Corteza cerebral	●	●		●	●	●



3.3 Opioides endógenos y conducta sexual

Se ha demostrado que los sistemas de opioides endógenos están involucrados en la regulación de la conducta sexual ya que la inyección sistémica de morfina provoca efecto dependiente de la dosis, esto es, en dosis altas, reduce el número de animales copuladores, pero a dosis bajas puede facilitar los mecanismos eyaculatorios disminuyendo la latencia de eyaculación (Agmo y Paredes, 1988). El papel inhibitorio de los péptidos opioides sobre la conducta copulatoria ha sido evidenciado en mamíferos incluso en el humano (Pfaus y Gorzalka, 1987). La afectación de la conducta sexual por la administración de opioides esta relacionada al sitio o vía de administración y a la dosis recibida. En humanos, el consumo agudo de fármacos relacionados con el opio, como la morfina y la heroína, desencadenan intensa euforia y su consumo crónico está asociado con la eliminación de sueños sexuales, amenorrea, anorgasmia, infertilidad y severa disminución en la capacidad de excitación sexual (Fabbri, et al. 1989; Hallinan, et al. 2008; van Ahlen, et al. 1995). Con el fin de conocer la participación de los péptidos opioides endógenos en el control de la conducta sexual se han administrado agonistas a opioides en diferentes estructuras cerebrales y por vías diferentes. La administración sistémica de morfina y β -endorfina altera aspectos específicos de la conducta sexual en donde la magnitud de la respuesta depende de la dosis administrada. Así, al administrar morfina o β -endorfina se ha descrito un incremento de la latencia de monta e intromisión, y reducción en la frecuencia de montas e intromisiones con disminución del número de machos que copulan. Esta inhibición es revertida por el tratamiento previo con naloxona (Agmo y Paredes, 1988; McIntosh, Vallano y Barfield, 1980; Meyerson, 1981). Por otro lado, la administración intraventricular en dosis bajas de β -endorfina (3 μ g) reduce la frecuencia de montas e intromisiones, en tanto que las dosis altas (30 μ g) provocan disminución del número de eyaculaciones durante la prueba conductual (Meyerson y Terenius, 1977) además disminuyen



la actividad exploratoria y las aproximaciones socio-sexuales hacia la hembra receptiva (Meyerson, 1981). La inyección intracerebral de β -endorfina en el APM reduce el porcentaje de machos que eyaculan en la prueba conductual e incrementa la latencia de monta, de intromisiones y de eyaculación (Hughes, Everitt y Herbert, 1987) así como el intervalo inter-intromisión (van Furth, Wolterink y van Ree, 1995). La inyección intra-cerebral en el APM de α -endorfina, dinorfina-A (1-17) o de met-enkefalina mostró menor efecto inhibitorio sobre los parámetros conductuales evaluados que la β -endorfina (van Furth, Wolterink y van Ree, 1995). La administración bilateral de morficeptina, un agonista selectivo al receptor μ en el APM, prolongó las latencias de monta e intromisión y el tratamiento previo con naloxona evitó los efectos de la morficeptina (Matuszewich, Ormsby, et al. 1995; Matuszewich y Dornan, 1992). En ratas macho que copulan hasta la saciedad sexual existe un aumento en la concentración tisular de opioides endógenos como son la Leu-enkefalina, Met-enkefalina y octapéptido Met-Arg6-Gly7-Leu8 (Oct) en el mesencéfalo, corteza cerebral e hipotálamo durante 24 horas, o hasta 48 horas en el caso de la Met-enkefalina y el Oct (Rodríguez-Manzo, Asai y Fernández-Guasti, 2002). La administración intracerebral de β -endorfina en el área tegmental ventral en pruebas de exploración en biniveles, facilita la conducta sexual por incremento en la motivación y/o por la obtención de la recompensa presumiblemente por estimulación del sistema dopaminérgico mesolímbico en respuesta a un estímulo olfatorio sexualmente relevante (vanFurth y vanRee, 1996).

Los opioides también están involucrados en los estados afectivos positivos o placenteros inducidos por la cópula. Se ha demostrado que la conducta sexual en ratas induce un estado placentero evaluado por el condicionamiento de preferencia de lugar (CPL) (Agmo y Berenfeld, 1990; Agmo y Gómez, 1993; Martínez y Paredes, 2001). En estas investigaciones se demostró que la administración de naloxona en el APM previa al inicio de la copula, bloquea la inducción del CPL sugiriendo que los



opioides son liberados durante la conducta sexual y que la eyaculación contribuye a la inducción del estado afectivo positivo o placentero que origina el apareamiento (Agmo y Paredes 1988; Agmo y Berenfeld, 1990; Agmo y Gomez, 1991, Paredes y Martínez, 2001; Agmo, 2003). La administración de met-enkefalina dentro del APM produce CPL, lo que se ha interpretado como la inducción de un estado placentero por parte de los opioides en esta área del hipotálamo (Agmo, y Gomez, 1991). Otros trabajos muestran que la eyaculación induce hipoalgesia como resultado de la activación del sistema opioide en el sistema nervioso central (Szechtman, Hershkowitz y Simantov, 1981) y que la disminución del contenido de opioides en el cerebro medio previene al sujeto de la percepción de estímulos aversivos (vanFurth y vanRee, 1996). Por otro lado, se ha demostrado que la activación del receptor μ sufre internalización en el APM tras la actividad sexual. El tratamiento previo a la cópula con naloxona evita esta internalización (Coolen, et al. 2004; Sinchak, y Micevych, 2003). En conjunto, estas evidencias apoyan la participación de los opioides en la conducta sexual y que la liberación de los mismos en el APM induce un estado placentero en donde de manera particular, la activación del receptor μ provoca una modulación de la conducta sexual en ambos sexos.

3.4 Endomorfinas

Antes de 1997 no se contaba con un ligando endógeno específico para el receptor opioide μ . Con el descubrimiento de una nueva familia de péptidos opioides, las endomorfinas 1 y 2 (EM-1= Tir-Pro-Tri-Fen-NH₂; EM-2= Tir-Pro-Fen-Fen-NH₂) que, a diferencia de otros péptidos opioides endógenos, resultaron ser ligandos altamente selectivos y con alta afinidad por el receptor opioide μ (Zadina et al. 1997) se abre una nueva era en la investigación del sistema opioide. Estos péptidos además de presentar una homología estructural parcial con la secuencia consenso de aminoácidos de los



péptidos opioides endógenos (Tir-Gli-Gli-Fen), inducen respuestas fisiológicas y conductuales similares a las generadas por otros péptidos opioides como la β -endorfina (Zadina, 2002). Sin embargo, su precursor proteico aún no se ha identificado.

La endomorfina-1 es un péptido biológicamente activo identificado en el cerebro de bovino (Zadina et al. 1997) y en corteza cerebral de humano (Hackler et al. 1997) que posee afinidad por el receptor μ de 360 pM y selectividad entre 4000 y 15000 veces más sobre el receptor μ que por el δ y κ respectivamente. Este péptido presenta un potente y específico efecto antinociceptivo (Hackler et al. 1997; Zadina et al. 1997) superior al que desarrolla el DAMGO in vitro en el ratón. Considerando las características farmacológicas de esta familia de péptidos opioides y en particular la endomorfina-1 se ha podido demostrar la participación del receptor μ en diferentes investigaciones relacionadas con desordenes conductuales como la ansiedad y depresión (Fichna, et al. 2007), con el control del dolor (Zadina, et al. 1997), con la conducta de alimentación (Cota, et al. 2006) y la conducta sexual y la reproductiva específicamente en hembras (Vaccharino y Kastin 2001; Sinchak y Micevych, 2001; Acosta-Martinez y Etgen 2002; Sinchak y Micevych, 2003).

3.4.1. Distribución, función y efectos en la conducta sexual

Consistente con su potente papel de agonista endógeno del receptor μ , la inmunoreactividad para las endomorfinas se ha demostrado en numerosas regiones que contienen alta densidad de receptor μ (Martin-Schild, et al. 1999; Zadina, 2002). Tal es el caso de estructuras diencefálicas y telencefálicas las cuales son ricas en EM-1 y que al relacionar la presencia del péptido en cercanía a su receptor se ha tratado de demostrar su potencial participación en funciones neuroendocrinas y homeostáticas; como por ejemplo en el sistema límbico (el núcleo accumbens y la amígdala), en núcleos talámicos incluso en el tronco encefálico (locus coeruleus) (Greenwell, et



al. 2007; Pan y Kastin, 2007). También se ha demostrado que las endomorfina y los receptores a opioide tipo μ están presentes en regiones que contienen neurotransmisores como la serotonina, dopamina y noradrenalina (Fichna, et al. 2007). Se ha demostrado que las endomorfina producen efectos biológicos al estimular diversos subtipos de receptores μ , μ_1 y μ_2 , los cuales pueden ser responsables de su diferente actividad farmacológica (Sakurada, et al. 2000; Tseng, et al. 2000). En la figura 4 (página 47) se ilustra la distribución de endomorfina así como los efectos fisiológicos más sobresalientes en el sistema nervioso central. En la figura 5 (página 48) se muestra la distribución y densidad del receptor μ en el cerebro de rata.

Al considerar las particularidades de su constitución bioquímica en donde solo se intercambia un aminoácido, la EM-1 y EM-2 podrían estar reflejando diferentes precursores, o diferente procesamiento de un solo precursor lo cual tiene implicaciones funcionales. La inmunoreactividad para ambos péptidos ha sido visualizada en regiones donde existe alta densidad de receptores μ y en neuronas diferentes a las inmunopositivas a β -endorfina. La inmunoreactividad a la EM-1 indica su presencia en campos terminales del núcleo dorsomedial del hipotálamo, en la banda diagonal de Broca, núcleos del septo, en el núcleo cama de la estría terminal, complejo amigdalino, en el núcleo accumbens y en el núcleo parabraquial (Zadina, 2002).

Para los propósitos de este trabajo, resultan de especial interés aquellas funciones vinculadas con procesos reproductivos. Aunque los reportes que dan cuenta de la influencia de las endomorfina en la conducta reproductiva son escasos, Sinchak y Micevych (2001) reportaron la participación del receptor μ y sus ligandos en la inducción de la lordosis en ratas ovariectomizadas tratadas con estrógenos. La administración de EM-1 dentro del área preóptica medial inhibió la conducta de lordosis a través de la activación del receptor μ . En otro estudio similar, Acosta-Martínez y Etgen (2002) demostraron que las endomorfina pueden inhibir la conducta de lordosis cuando



son administradas en la parte ventral del septo lateral de la banda diagonal (MS-HDB) probablemente por modulación específica en la liberación de otros factores presentes en esta región como la hormona liberadora de hormona luteinizante, la acetilcolina o el GABA, todos ellos presentes en esta región. Sin embargo no existe evidencia experimental que relacione la actividad de las endomorfina en la conducta sexual masculina.

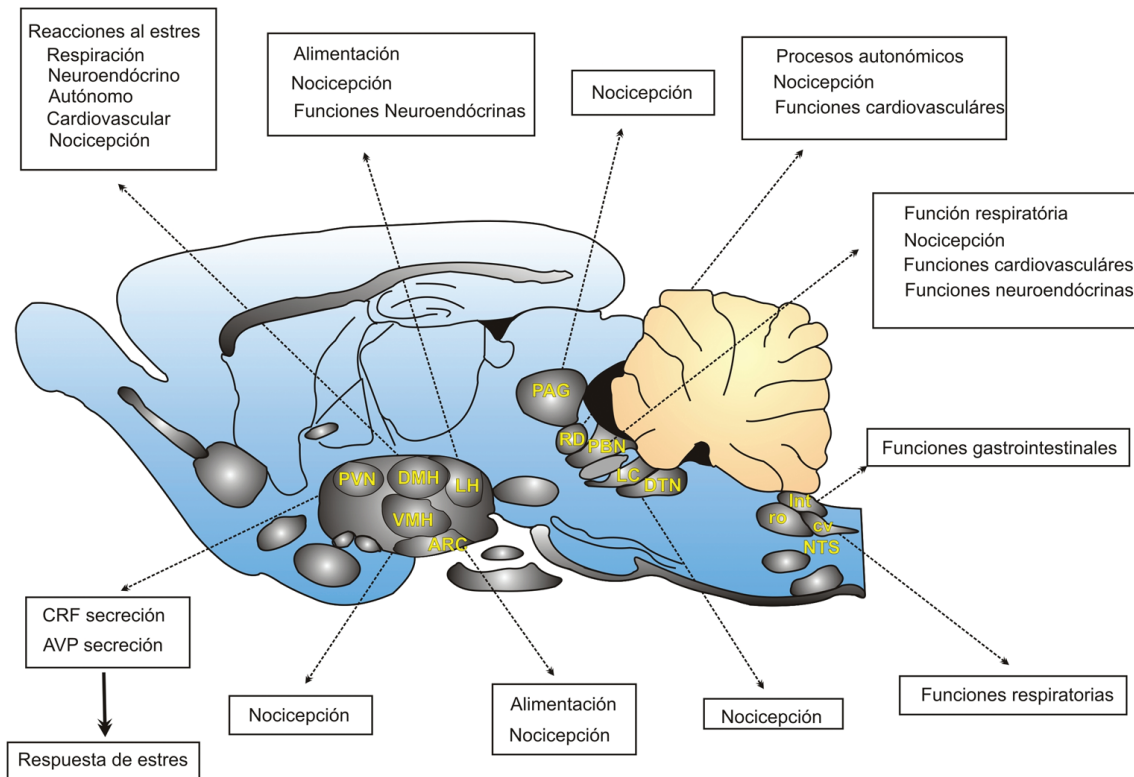
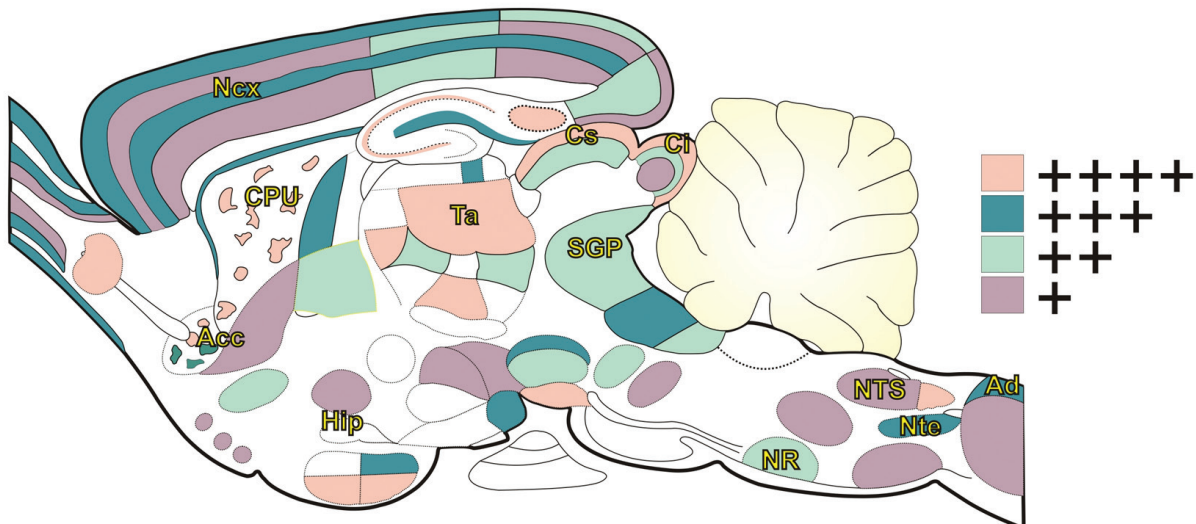


Figura 4. Se muestran las principales estructuras cerebrales que contienen endomorfina así como los efectos fisiológicos más sobresalientes: hipotálamo anterior HPT. Núcleo paraventricular del hipotálamo PVN, núcleo dorsomedial DMH, núcleo ventro medial VMN, núcleo lateral LH, núcleo arcuato ARC, sustancia gris periacueductal PAG, parte dorsocaudal del NTS RD, núcleo parabraquial PBN, locus coeruleus LC, núcleo dorsal DTN, núcleo del tracto solitario NTS, porción rostral del NTS ro, porción intermedia del NTS im, porción ventral del NTS cv. Adaptado de Fichna, et al. 2007.



Distribución del receptor μ en el Sistema Nervioso Central.

Figura 5. Los receptores opioides μ están ampliamente distribuidos a todo lo largo del encéfalo y su distribución corresponde con su función de integración sensomotora. Su densidad es alta en la neocórtex (Ncx), caudado-putamen (CPU), núcleo accumbens (Acc), tálamo (Ta), hipotálamo (Hip), amígdala, colículo superior e inferior (Cs, Ci), núcleo del tracto solitario (NTS), núcleo trigeminal espinal (Nte), y asta dorsal (Ad). Una moderada densidad del receptor μ se observa en la sustancia gris periacueductal (SGP) y núcleo del raphe (NR). El símbolo positivo implica la concentración de receptores μ en las áreas cerebrales con el color correspondiente. Adaptado de Mansour, et al. 1995.



Capítulo 4

4.1 Planteamiento del problema

La integración de la información sensorial que el macho requiere para el despliegue de la conducta copulatoria discurre por una red neural en donde el balance entre la activación y la inhibición neuronal participan en la construcción final de una respuesta sexual (van Furth, van Emst y van Ree, 1995). Sin constituir el único factor responsable de esta respuesta, el sistema opioide endógeno ha sido reiteradamente relacionado con la inhibición de diferentes aspectos de la conducta sexual tanto en machos como en hembras (Argiolas, 1999), lo que ha sido demostrado con la administración sistémica de agonistas y antagonistas a los diferentes receptores de este sistema de comunicación neuronal (Balthazart y Ball, 2007; Phillips-Farfán y Fernández-Guasti, 2009). Sin embargo no existe evidencia experimental que relacione la actividad de un ligando endógeno como la endomorfina-1 en la conducta sexual masculina.

Las estructuras cerebrales seleccionadas para este propósito incluyen al APM y a la AMG. Ambas constituyen un circuito de funcionamiento selectivo en la conducta sexual masculina (Newman, 1999) en la integración de señales hormonales y quimiosensoriales que participan en la regulación de conductas socio-sexuales y copulatorias. Estudios conductuales en rata macho han demostrado que la cópula activa al receptor μ en el APM (Coolen, et al. 2004) y que en hembras la administración intracerebral, en el APM y en el VMH, de endomorfina-1 (EM-1), un ligando endógeno específico al receptor μ , inhibe la conducta sexual evaluada por el coeficiente e intensidad de lordosis (Acosta-Martinez y Etgen, 2002). Estas evidencias en conjunto apoyan la propuesta de que el sistema de receptores opioide, y en particular el μ están involucrados en la regulación de la conducta sexual. Por otro lado, paradigmas



diseñados para evaluar las propiedades hedónicas de la actividad sexual, como el condicionamiento de preferencia de lugar (CPP), han permitido demostrar la relevancia de los opioides en el APM al inducir estados afectivos positivos, vinculados con la actividad sexual (Agmo y Gómez, 1993; García-Horsman, Agmo y Paredes, 2008). Toda esta evidencia experimental en conjunto sugiere la participación del receptor μ , del sistema opioide en la modulación de la conducta sexual masculina. En el presente trabajo se administró un ligando endógeno específico a este receptor, en áreas cerebrales relevantes para la organización de la conducta copulatoria en la rata macho para evaluar específicamente el papel de los receptores μ en la conducta sexual masculina.

4.2 Hipótesis

La administración intracerebral de endomorfina-1 previa al inicio de la conducta copulatoria, modificará diversos parámetros de la conducta sexual y socio-sexual.

4.3 Objetivo general

Caracterizar el efecto de la endomorfina-1 sobre la conducta sexual de la rata macho.



4.4 Objetivos específicos

1- Demostrar la influencia de la endomorfina-1 sobre la conducta copulatoria mediante la administración intraventricular del péptido.

2- Diferenciar el efecto modulador específico de la endomorfina-1 sobre la conducta sexual masculina tras la administración intracerebral en el área preóptica media (APM) y en la amígdala (AMG).

4.5 Sujetos, Material y Método

Animales

Se utilizaron ratas machos adultos de la cepa Wistar con peso de 250 a 300 gramos. Como animales estímulo se utilizaron hembras que al inicio del experimento pesaban entre 200 a 250 gramos y fueron proporcionadas por el bioterio general de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México. Los sujetos se colocaron en cajas de estancia individuales, mantenidas en ciclo invertido de luz oscuridad 12:12 (luz 19:00 h) temperatura de 22° C, comida (Rodent Laboratory Chow, 5001) y agua a libre disposición.

Las hembras estímulo fueron ovariectomizadas bilateralmente haciendo una incisión dorsal (entre L1 a L5) 15 días antes de iniciar las pruebas conductuales, siguiendo técnicas quirúrgicas de asepsia estándar y bajo condiciones de anestesia profunda (xilacina 12 mg/Kg., ketamina 90 mg/ Kg. i.p.). La inducción del estro se logró por administración subcutánea de benzoato de estradiol (25 µg) 48 horas antes de la prueba y 1 mg de progesterona de 4 a 6 horas antes de la sesión de conducta (Sigma Chemical Company St. Louis, MO, USA). Las hormonas fueron disueltas en aceite de maíz comercial y la dosis administrada en un volumen de 0.2 ml por la vía antes mencionada. Este tratamiento aseguró un alto índice de receptividad en las hembras.



Grupos

Los machos fueron puestos en una arena de cópula dos veces por semana frente a una hembra receptiva en sesiones de 30 minutos y siempre durante el segundo tercio de la fase de oscuridad, con el fin de adquirir experiencia sexual. Después de tres sesiones de entrenamiento, los machos que fueron seleccionados tenían que cumplir como mínimo con una serie eyaculatoria durante cada una de las sesiones de prueba. A estos sujetos se les implantaron cánulas intracerebrales con el fin de recibir los diferentes tratamientos farmacológicos encaminados a comprobar los objetivos y metas propuestas.

Conducta sexual

Las pruebas de conducta sexual se realizaron durante el segundo tercio de la fase de oscuridad bajo luz roja tenue (25 watts). Se utilizaron arenas circulares de observación de plástico (50 x 60 cm.) para la valoración de la conducta sexual. En estas sesiones se registraron el número de montas, intromisiones previas a la eyaculación, así como el número de series eyaculatorias. Con esta información se obtuvo el análisis conductual de los parámetros definidos en el capítulo uno, estos son: latencia de monta (LM), latencia de intromisión (LI), número de montas (NM), número de intromisiones (NI), latencia de eyaculación (LEy), intervalo posteyaculatorio (IPE), intervalo inter-intromisión (III), índice de aciertos (IR), número de eventos de la primer serie copulatoria (NEV) y número de eyaculaciones durante el tiempo de observación (NE). Solo aquellos sujetos que cumplieron con al menos una serie eyaculatoria en cada una de las sesiones de entrenamiento fueron considerados para la siguiente fase del experimento que se relaciona con el implante de cánulas.

Conducta socio-sexual

Se registraron los siguientes parámetros: erguido (elevación sobre las patas posteriores), husmeo (movimiento de vibrisas y de la cabeza cuando el animal esta



explorando), auto-aseo (lamido o mordisqueo de sus miembros, pelo o región genital), exploración genital (olfateo de la región ano-genital de la hembra), persecución (el macho corretea a la hembra para tener contacto con ella), aseo a la hembra y descanso. Estas conductas fueron cuantificadas, utilizando el *sistema ConduSexOMNIALVA MR2009*, durante los primeros 10 minutos de la prueba de conducta sexual en cada una de las diferentes sesiones experimentales.

Cirugía estereotáxica

Todos los procedimientos quirúrgicos se desarrollaron en condiciones de asepsia y bajo anestesia profunda con una mezcla de xilacina y ketamina (12 mg/Kg.; 90mg/Kg. i.p respectivamente). Se colocaron cánulas guía de acero inoxidable diseñadas para la administración bilateral o en el tercer ventrículo (Plastic One Roanoke VA) utilizando las siguientes coordenadas a partir de Bregma **APM**: A-P -0.4, Lat $\pm$ 0, D-V -6 mm.; y en **AMG** A-P -3.14, Lat $\pm$ -3.4, D-V -7 mm. Las cánulas fueron aseguradas al cráneo conacrílico dental y 4 tornillos. Después de la cirugía se administró vía muscular bencilpenicilina con el propósito de evitar infecciones. Trascurridos 10 días post-cirugía los sujetos fueron evaluados (sesiones experimentales) tras recibir el tratamiento farmacológico correspondiente siguiendo un cuadro latino.

Registro conductual

La conducta se registró a través de un sistema de video (Sony CCD-TRV65 NT SC), y fue almacenado en una PC. Posteriormente, los registros de la conducta de cada rata fueron analizados en una PC mediante el *sistema ConduRepOMNIALVA MR2007*.

Fármacos

La endomorfina-1 (EM-1), péptido sintético (Tocris Cook Inc. Elisville Missouri Nº cat. 1055), agonista específico de los receptores μ (μ) (Zadina, et al. 1997; Goldberg, et al. 1998). fue disuelto en solución salina y administrado intracerebral o intraventricular en dosis y volumen como se describe en cada experimento. La naloxona



hidroclorada (Sigma), antagonista de opioides (Takemori y Portoghesi, 1984; Crain y Shen, 2000) fue disuelta en solución salina y administrada ip en dosis de 5 mg/Kg. de peso, 30 minutos antes del inicio de la prueba conductual.

Histología

Identificación del sitio de inyección

Al finalizar los distintos protocolos experimentales, los sujetos fueron sacrificados bajo anestesia profunda (65 mg/ml) de pentobarbital sódico, ip, y perfundidos vía transcardiaca con 250 ml. de solución salina (9 gr. /L.) seguido por 400 ml de formol al 10%. Los cerebros se crío protegieron con sacarosa al 30% con el fin de realizar cortes coronales en el micrótomos de congelación con un espesor de 40 μ m y así determinar la ubicación de la cánula y el sitio de estimulación mediante la tinción con violeta de cresilo.

Análisis estadístico

El análisis de los parámetros conductuales de latencias y número de eventos que se registraron durante las diferentes sesiones se realizó con la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis, debido a que no se encontró homogeneidad de varianza. En caso de encontrar diferencias significativas en algún parámetro conductual entre los grupos las comparaciones múltiples se realizaron con la prueba de Dunn. Consideramos como significativa una $p < 0.05$.

Diseño experimental

4.6 Experimento 1

Con el propósito de demostrar la influencia de la endomorfina-1 sobre la conducta copulatoria mediante la administración intraventricular del péptido, se diseñaron



dos experimentos en donde los machos implantados fueron distribuidos aleatoriamente en una de las siguientes condiciones.

Experimento A. Esta fase fue diseñada con el fin de obtener una curva de respuesta de los efectos de la EM-1 sobre la conducta copulatoria masculina. Los animales fueron implantados con una cánula en el tercer ventrículo (23 gauge) y con las coordenadas AP= -0.8; L= 0; DV= -6.0, siguiendo el método quirúrgico descrito. Los sujetos implantados recibieron solución salina (0.9%, S= 13) o una de las cuatro diferentes dosis de EM-1 i.e., EM-1: 1 μ mol (n=8), 10 μ mol (n=13), 50 μ mol (n=8), o 100 μ mol (n= 8), en un volumen de 5 μ L a lo largo de 45 segundos utilizando un inyector (30 gauge) conectado a una micro-jeringa (Hamilton, Reno, NV). El inyector permaneció por dos minutos más en la cánula guía para asegurar la permanencia del fármaco administrado en el área deseada. Tanto la solución salina como el péptido fueron administrados 10 minutos antes del inicio de la prueba conductual.

Experimento B. Una vez determinada la dosis de EM-1 que provoca cambios significativos en la conducta sexual del macho, se requería demostrar si los efectos conductuales se bloquean con naloxona para determinar la especificidad del péptido. Así, se implantaron nuevos animales con parámetros semejantes al experimento A, los cuales se organizaron en cuatro grupos: **Sal** grupo de inyección de solución salina, **EM-1** grupo de inyección de endomorfina-1 100 μ L, **NLx** grupo con tratamiento de naloxona (5 mg/Kg de peso ip) y el grupo **NLx+EM-1** (5 mg/Kg de peso ip y 100 μ moL en un volumen de 5 μ L respectivamente). La naloxona fue administrada 30 minutos antes y la EM-1 justo antes del comienzo de la sesión de conducta sexual. Los animales solo recibieron un tratamiento farmacológico.

4.7 Resultados

Experimento 1

La evaluación histológica de los cerebros nos permitió descartar cinco sujetos del análisis estadístico y conductual debido a que la posición de la cánula se localizó fuera del área de interés (tercer ventrículo). En la figura 6 se muestra la localización de las cánulas en el grupo experimental.

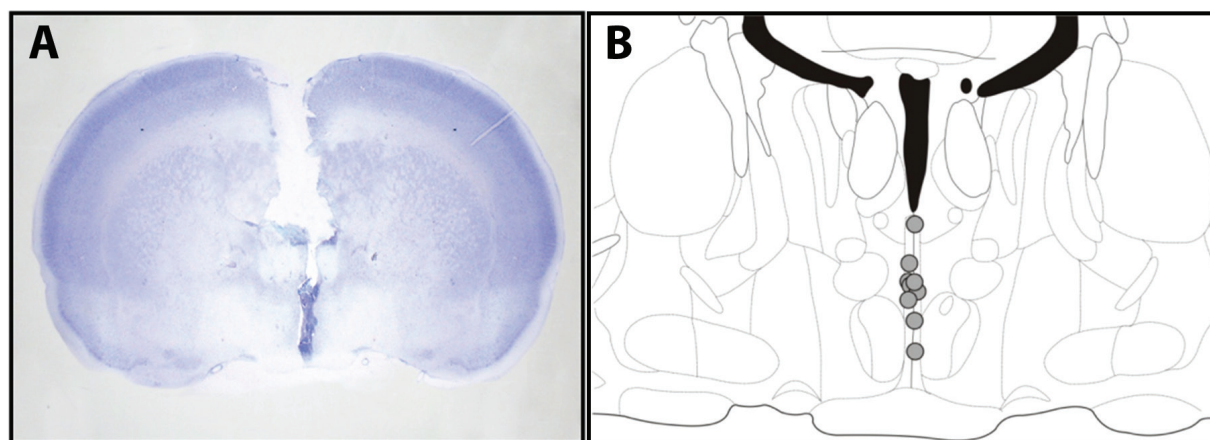


Figura 6. A) Fotomicrografía de un corte coronal de cerebro que ejemplifica la zona de administración. B) Representación esquemática que resume el sitio de administración en el experimento 1.

Experimento 1. A

El análisis conductual de latencias y número de eventos de la conducta copulatoria se concentran en el cuadro 3 (página 57). El análisis estadístico de los diferentes parámetros conductuales muestra diferencias significativas en la latencia de eyaculación ($KW= 17.89$, $p=0.0013$), en el número de eyaculaciones ($KW= 10.82$, $p= 0.02$), en el intervalo inter-intromisión ($KW=9.54$, $p=0.04$), y en el número de eventos registrados en la primera serie copulatoria ($KW=9.7$, $p=0.04$). La comparación entre grupos reveló un incremento en la latencia de eyaculación, intervalo inter-intromisión y en el número de eventos con reducción en el número de eyaculaciones en los animales con administración de EM-1 en la dosis más alta comparado con el grupo inyectado con



salina. Estos resultados nos sugieren que la activación del receptor μ por la presencia de EM-1 en el sistema ventricular induce alteración de eventos vinculados con la eyaculación.

Cuadro 3. Parámetros de la conducta sexual de ratas macho con diferentes dosis de endomorfina-1.

Grupos					
Parámetro Conductual	S N=13	1 μ mol N=8	10 μ mol N=13	50 μ mol N=8	100 μ mol N=8
NM	8.8 $\pm$ 1.5	13.5 $\pm$ 3.3	10.1 $\pm$ 1.7	14.4 $\pm$ 2.6	21.1 $\pm$ 5.4
NI	13.5 $\pm$ 1.5	16.7 $\pm$ 3.5	16.4 $\pm$ 1.4	16.2 $\pm$ 2	22.3 $\pm$ 3
LM	195.5 $\pm$ 115.4	738.12 $\pm$ 465.3	222.5 $\pm$ 132.48	640.7 $\pm$ 430.82	55.2 $\pm$ 29.0
LI	202.5 $\pm$ 118.0	752.6 $\pm$ 468.6	293.3 $\pm$ 142.5	698.8 $\pm$ 456.8	76.8 $\pm$ 34.5
LEy	674.1 $\pm$ 94.1	646 $\pm$ 49.3	958.1 $\pm$ 139.2	924.5 $\pm$ 187.9	1862.2$\pm$226 ***
IPE	405.9 $\pm$ 23.5	477.1 $\pm$ 38.2	422.5 $\pm$ 21.5	444.4 $\pm$ 36.7	411.8 $\pm$ 25.9
III	48.1 $\pm$ 5	51.6 $\pm$ 6.7	60.7 $\pm$ 7.8	55.6 $\pm$ 8.4	82$\pm$9*
IR	0.65 $\pm$ 0.04	0.56 $\pm$ 0.06	0.65 $\pm$ 0.03	0.56 $\pm$ 0.04	0.55 $\pm$ 0.05
NE	1.8 $\pm$ 0.2	1.6 $\pm$ 0.2	1.6 $\pm$ 0.2	1.4 $\pm$ 0.3	1$\pm$0 *
NEV	22.4 $\pm$ 2.6	30.3 $\pm$ 6.5	26.5 $\pm$ 2.7	30.6 $\pm$ 3.7	43.5$\pm$6.5 *

Los datos están expresados en medias ($\pm$ error estándar). Los parámetros conductuales evaluados fueron: Número de montas (NM), número de intromisiones (NI), latencia de monta (LM), latencia de intromisión (LI), latencia de eyaculación (LEy), intervalo posteyaculatorio (IPE), intervalo interintromisión (III), índice de intromisión (IR), número de eyaculaciones (NE) y número de eventos durante el tiempo de evaluación (NEV). El símbolo * indica diferencia significativa frente al grupo de salina. * $p < 0.05$; *** $p < 0.001$.

Una vez que demostramos que la dosis de EM-1 100 μ mol inhibió los parámetros relacionados con la eyaculación, en el siguiente experimento (1B) nos propusimos demostrar el bloqueo farmacológico de los efectos inhibitorios del péptido con el antagonista a opioides, naloxona.



Experimento 1. B

El análisis estadístico mostró diferencias estadísticamente significativas en el número de montas ($KW=011.5$, $p=0.009$), en el intervalo inter intromisión ($KW=15.4$, $p=0.0015$), en la latencia de eyaculación ($KW=26.3$, $p=0.0001$) y en el número de eyaculaciones ($KW=26.3$, $p=0.0001$) (cuadro 4, página 59). Observamos incremento en el número de montas, en el intervalo inter-intromisión y la latencia de eyaculación, además de reducción en el número de eyaculaciones cuando se comparó el grupo EM-1 contra el grupo S (salina). El grupo tratado con EM-1 también fue estadísticamente diferente frente al grupo EM-1+NLX en los mismos parámetros antes mencionados, por lo que el tratamiento con naloxona bloqueó el efecto inhibitorio de la EM-1, además de que no se encontraron diferencias significativas entre al grupo control (salina) y el EM-1+NLx. La administración de naloxona por si misma no modificó ninguno de los parámetros conductuales. Estos resultados sugieren que el efecto de la endomorfin-1 es mediado por receptores a opioides.

Experimento 2

En el experimento 1 demostramos que la administración de EM-1 (100 μmol) en el tercer ventrículo inhibe diferentes parámetros de la conducta sexual masculina. También demostramos que estos efectos inhibitorios se bloquean con la administración del antagonista naloxona indicando que los efectos de EM-1 se producen por la estimulación de receptores a opioides, en particular los receptores μ .

En el experimento 2 evaluamos los efectos de la EM-1 administrada previa al inicio de la conducta sexual y de manera específica (intra parénquima) y en una de dos áreas involucradas en el control de la conducta sexual masculina, como son el área preóptica medial (APM) y la amígdala (AMG) y cuya relevancia funcional fue mencionada en párrafos previos.



Cuadro 4. Evaluación de la conducta sexual de machos tratados con salina, endomorfina-1 (100 μ mol), endomorfina-1 + naloxona o naloxona (5mg/kg).

Grupos				
Parámetro conductual	S N=10	EM-1 N=10	EM-1+NLx N=10	NLx N=10
NM	8.1 $\pm$ 2.1	21.2 $\pm$ 4.4^{a*}	8.8 $\pm$ 1.2	12.4 $\pm$ 1.9
NI	13 $\pm$ 1.7	21.1 $\pm$ 3.1	15.4 $\pm$ 1.3	17.9 $\pm$ 2
LM	20.9 $\pm$ 5.01	185.7 $\pm$ 160.02	44 $\pm$ 18.9	19.8 $\pm$ 4.8
LI	29.4 $\pm$ 5.8	228.7 $\pm$ 157.4	37.5 $\pm$ 20.6	61.5 $\pm$ 23.6
LEy	596.5 $\pm$ 84.9	1781.1 $\pm$ 268^{a**,b*}	680 $\pm$ 75.2	767.2 $\pm$ 92.8
IPE	397.7 $\pm$ 24.7	461.4 $\pm$ 31.7	446.8 $\pm$ 34.2	448.5 $\pm$ 29
III	42.2 $\pm$ 4.6	81.3 $\pm$ 10.6^{a**,b**,c*}	41.2 $\pm$ 3.2	43.4 $\pm$ 4.3
IR	0.66 $\pm$ 0.05	0.53 $\pm$ 0.04	0.65 $\pm$ 0.03	0.63 $\pm$ 0.0
NE	2.2 $\pm$ 0.1	1 $\pm$ 0^{a***,b***,c***}	2.1 $\pm$ 0.2	2.2 $\pm$ 0.1
NEV	25 $\pm$ 2.2	45 $\pm$ 5.9	33 $\pm$ 5.8	28 $\pm$ 5

Los datos se expresan en medias $\pm$ error estándar. Número de montas (NM), número de intromisiones (NI), latencia de monta (LM), latencia de intromisión (LI), latencia de eyaculación (LEy), intervalo posteyaculatorio (IPE), intervalo interintromisión (III), índice de intromisión (IR), número de eyaculaciones (NE) y número de eventos durante el tiempo de evaluación (NEV). El asterisco indica diferencia significativa del grupo EM-1 frente al grupo de salina (a), con el EM-1+ NLx (b) o con el grupo NLx (c) * $p < 0.05$; ** $p < 0.001$.

Diseño experimental

Cuarenta y tres machos con experiencia sexual, con implante de cánulas bilaterales en el APM y la misma cantidad (43 machos) en la AMG fueron inyectados, para recibir uno de los siguientes tratamientos: NaCl (0.5 μ L), EM-1 (100 μ mol en 0.5 μ L), NLx (5 mg/Kg. ip) y NLx+EM-1 manteniendo grupos independientes. Se utilizaron las mismas dosis y tiempos de infusión descritos en el experimento 1 B.

Las pruebas de conducta sexual tuvieron una duración de 30 minutos y se registraron los parámetros habituales ya descritos en el método general. Asimismo, durante los primeros 10 minutos de la prueba fueron registrados los parámetros de conducta socio-sexual.



Análisis estadístico

El análisis de los parámetros conductuales de latencias y número de eventos que se obtuvieron durante las diferentes sesiones tanto para la conducta copulatoria como para la socio-sexual, se realizó con la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis, debido a que no se encontró homogeneidad de varianza en los grupos. En caso de diferencias significativas se utilizó la prueba de comparaciones múltiples de Dunn.

Resultados

Histología:

Al realizar el análisis histológico, 5 animales del grupo APM y 5 del grupo AMG tenían la cánula fuera del sitio donde se intentó el implante. Estos sujetos fueron excluidos de estos grupos y formaron el grupo FUERA. Este grupo representa un control de la especificidad de la acción del péptido. En la figura 7 (página 61) se muestran el sitio y la distribución de las áreas de administración así como cortes coronales de cerebro que refieren la ubicación de las cánulas.

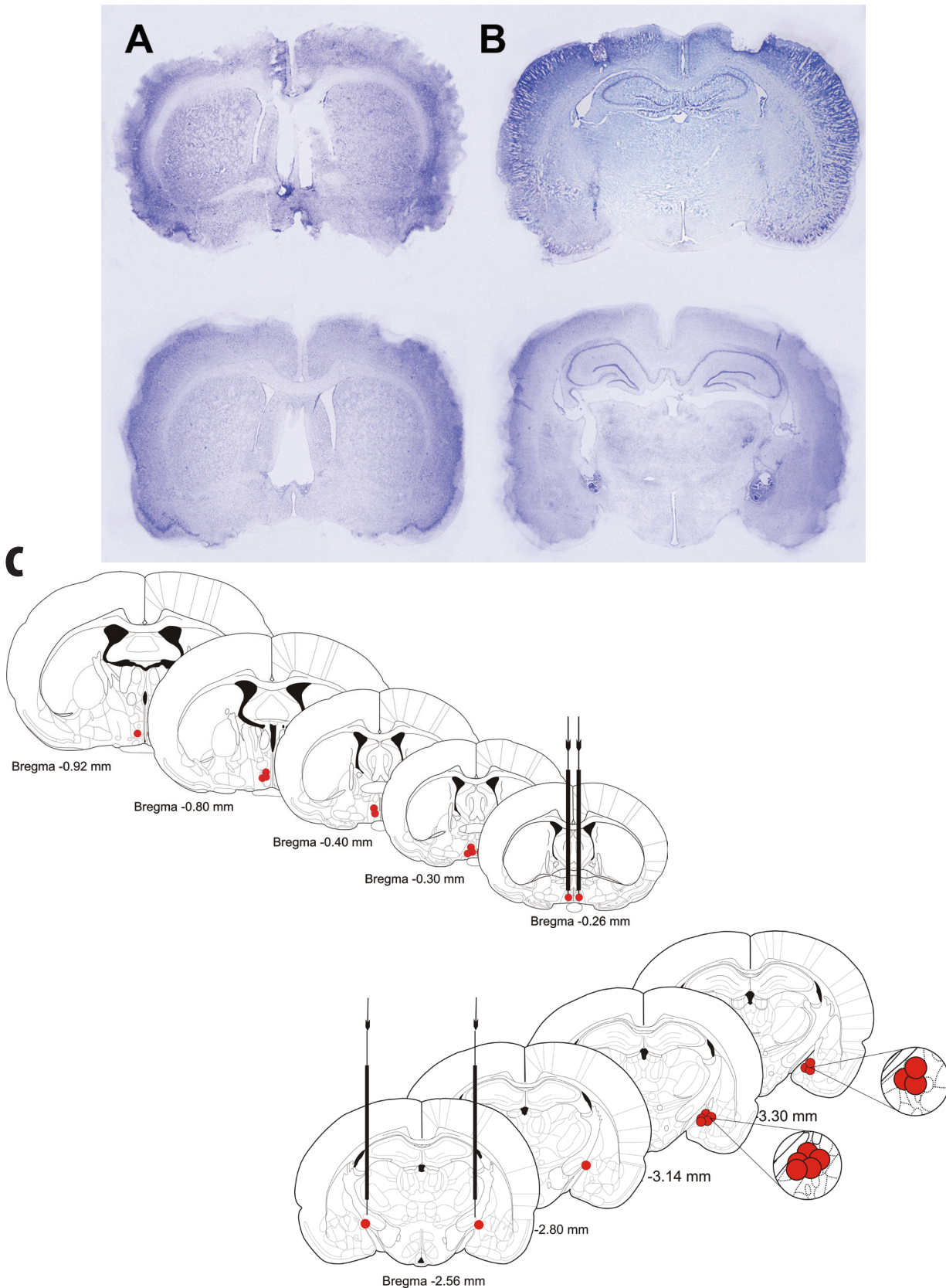


Figura 7. Fotomicrografías de cortes coronales del cerebro de rata implantada con cánulas bilaterales en área preóptica medial (A) y en amígdala medial (B) que ejemplifican la ubicación de las cánulas. a manera de resumen se muestran los sitios de administración para cada área cerebral (C).



Conducta sexual

Administración en APM

El análisis de la conducta copulatoria se resume en el cuadro 5 (página 63). Los parámetros que mostraron diferencia significativa fueron la latencia de monta ($KW= 18.169$, $p=0.001$), de intromisión ($KW= 18.082$, $p=0.0012$), de eyaculación ($KW=9.151$, $p= 0.024$) y el número de eventos a lo largo de la primer serie copulatoria ($KW= 7.621$, $p= 0.022$). Las diferencias entre grupos se observan al comparar el grupo tratado con el opioide (EM-1) con el resto de los grupos. La latencia de monta (LM) del grupo EM-1 es significativamente mayor que el resto de los grupos, i.e., NaCl ($p<0.05$), NLx+EM-1 ($p<0.01$), NLx ($p<0.01$) y FUERA ($p<0.01$). La latencia de intromisión (LI) también es mayor en el grupo EM-1 con respecto a los otros grupos, NaCl ($p<0.01$), NLx+EM-1 ($p<0.05$), NLx ($p<0.01$) y grupo FUERA ($p<0.01$). La latencia de eyaculación (LEy) aumentó significativamente en el grupo EM-1 con respecto al grupo FUERA ($p<0.05$). El número de eventos (NEV) registrados en la primer serie copulatoria aumentó en el grupo EM-1 frente a los grupos NLx y FUERA ($p<0.05$).

Administración en AMG

Los resultados de los animales implantados en la AMG demostraron diferencias significativas en el número de montas ($KW= 9.527$, $p= 0.01$), número de eventos ($KW= 7.486$, $p=0.023$) y en la latencia de eyaculación ($KW= 7.122$, $p=0.0284$). El análisis post hoc mostró que la administración de EM-1 provocó incremento en el número de montas (NM) con respecto a los grupos NaCl y FUERA ($p<0.01$). La latencia de eyaculación y el número de eventos también aumentaron significativamente en el grupo EM-1 con respecto a los grupos NaCl ($p<0.05$) y FUERA ($p<0.05$) en ambos grupos. En el cuadro 6 (página 64) se muestran los datos de la administración de los diferentes tratamientos en la AMG.



Cuadro 5
Conducta copulatoria infusión en APM
machos tratados con salina, endomorfina-1 (100 μ mol), naloxona (5mg/kg) o
endomorfina-1 + naloxona.

Grupos					
Parámetro	NaCl N=10	EM-1 N=10	NLx+EM-1 N=9	NLx N=9	FUERA N=5
NM	10.2 $\pm$ 1.9	17.8 $\pm$ 3	13.3 $\pm$ 3	10.2 $\pm$ 1.7	10 $\pm$ 2.3
NI	15.3 $\pm$ 2.3	21.6 $\pm$ 3	15.1 $\pm$ 2.03	13.5 $\pm$ 1.5	13 $\pm$ 1.2
LM	23 $\pm$ 6.5	198.8 $\pm$ 65.9 ^{a*, b**, c**, d**}	38.2 $\pm$ 28	13.6 $\pm$ 2.8	9.4 $\pm$ 1.7
LI	26 $\pm$ 6.7	193.9 $\pm$ 62 ^{a**, b*, c**, d**}	42.3 $\pm$ 28	15.6 $\pm$ 3.5	11 $\pm$ 3
LEy	832.3 $\pm$ 123	1407.3 $\pm$ 251 ^{d*}	1266.6 $\pm$ 297	857 $\pm$ 138	626 $\pm$ 57
IPE	432.6 $\pm$ 23	546.3 $\pm$ 51	507 $\pm$ 57	506.8 $\pm$ 26	435 $\pm$ 42
III	56.2 $\pm$ 13.4	66.8 $\pm$ 11	67.3 $\pm$ 12	61.9 $\pm$ 10.6	46 $\pm$ 7
IR	0.64 $\pm$.03	0.6 $\pm$ 0.01	0.6 $\pm$ 0.1	0.6 $\pm$ 0.12	0.6 $\pm$ 0.06
NE	1.6 $\pm$ 0.22	0.8 $\pm$ 0.2	1.2 $\pm$ 0.3	1.3 $\pm$ 0.48	1.25 $\pm$ 0.24
NEV	26.9 $\pm$ 3.9	40.3 $\pm$ 5 ^{c*, d*}	29.6 $\pm$ 4.5	23.6 $\pm$ 2.8	22 $\pm$ 2.9

Los datos se expresan en medias $\pm$ error estándar. Número de montas (NM), número de intromisiones (NI), latencia de monta (LM), latencia de intromisión (LI), latencia de eyaculación (LEy), intervalo posteyaculatorio (IPE), intervalo interintromisión (III), índice de intromisión (IR), número de eyaculaciones (NE) y número de eventos durante el tiempo de evaluación (NEV). El análisis pos hoc (Dunn) indicó diferencia significativa del grupo EM-1 frente al grupo NaCL = a; diferencia significativa del grupo EM-1 frente al grupo NLx+EM-1 = b; diferencia significativa del grupo EM-1 frente al grupo NLx = c; diferencia significativa del grupo EM-1 frente al grupo FUERA = d. * p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001.



Cuadro 6
Conducta copulatoria infusión en AMG
machos tratados con salina, endomorfina-1 (100 µmol), naloxona (5mg/kg) o
endomorfina-1 + naloxona.

Grupo					
Parámetro	NaCl N=10	EM-1 N=10	NLx+EM-1 N=9	NLx N=9	FUERA N=5
NM	7.5±0.8	22.1±6.3 ^{a**, d**}	14.8±4	12±5	10±2.3
NI	12.9±1.8	22.2±4.3	22.2±6	15±4.2	12±0.8
LM	33.1 ±9.3	48.5± 37	35.1± 19	40.5± 21	16.8± 6.4
LI	42± 9.5	58.9±37	37.9±19	44.5±21	19±2
LEy	835.1±91	1536.7±354 ^{a**, d*}	1284.4±383	873.3±232	576±112
IPE	448.3±32	491±46	493±35	448.2±22	451±37
III	73.6±8.8	67.8±9.8	69.3±11.6	66±9.8	45±7.7
HR	0.6 ± .01	0.5 ± 0.01	0.6 ± 0.01	0.6 ± 0.1	0.6 ±0.01
NE	1.3 ± 0.2	1.1 ± 0.1	1.1 ± 0.1	1.0 ±1.01	1.4 ± 0.2
NEV	21.1±2.6	45.3±10 ^{a**, d*}	38±10	32±11	23±3

Los datos se expresan en medias ± error estándar. Número de montas (NM), número de intromisiones (NI), latencia de monta (LM), latencia de intromisión (LI), latencia de eyaculación (LEy), intervalo posteyaculatorio (IPE), intervalo interintromisión (III), índice de intromisión (IR), número de eyaculaciones (NE) y número de eventos durante el tiempo de evaluación (NEV). El análisis pos hoc (Dunn) indicó diferencia significativa del grupo EM-1 frente al grupo NaCl= a; diferencia significativa del grupo EM-1 frente al grupo NLx+EM-1= b; diferencia significativa del grupo EM-1 frente al grupo NLx = c; diferencia significativa del grupo EM-1 frente al grupo FUERA = d. * p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001.



Conducta Socio-Sexual

El análisis de la conducta socio sexual para ambos sitios de infusión intracerebral se muestra en los cuadros 7 y 8 (páginas 66 y 67 respectivamente). Este análisis se realizó durante los primeros 10 minutos de la conducta copulatoria. De esta observación se reporta la duración y la frecuencia en la ocurrencia de las conductas antes mencionadas.

El tiempo que invierte el macho en perseguir a la hembra y la frecuencia en que realiza esta conducta, denominado como “persecución” mostró una diferencia estadísticamente significativa (cuadro 7) en el grupo de sujetos con infusión en el APM (KW= 15.983, $p= 0.003$). La comparación entre grupos indica que el grupo EM-1 tiene diferencia contra los grupos NLx+EM-1 ($p<0.05$), NLx ($p<0.05$) y FUERA ($p<0.05$). En relación a la frecuencia la diferencia significativa se obtuvo entre el grupo EM-1 (KW= 17.634 $p= 0.0015$) contra FUERA ($p<0.001$).

Cuando el fármaco se administró en la AMG (tabla 8, página 67) las diferencias significativas se obtienen en la duración de la persecución (KW=12.170 $p= 0.016$) entre el grupo EM-1 frente al NLx, ($p<0.05$). En las frecuencias se observó diferencia significativa en la persecución (KW= 9.589, $p=0.0479$) entre el grupo EM-1 contra NLx+EM-1 y FUERA ($p<0.05$). También se obtuvo diferencia en la frecuencia de la exploración genital (KW=10.706, $p= 0.03$) entre los grupos EM-1 contra NaCL ($p<0.05$) y contra FUERA ($p<0.05$).



Cuadro 7
Conducta socio sexual evaluación en el APM
en machos tratados con salina, endomorfina-1 (100 µmol), naloxona (5mg/kg) o
endomorfina-1 + naloxona

Grupos					
Duración (seg.)	NaCl	EM-1	NLx+EM-1	NLx	FUERA
	N=10	N=10	N=9	N=9	N=5
Olfateo	137.6±17	164.7±18	169±17	150±21	114±25
Auto aseo	208±15	164.7±27	236±29	195±30	207±20
Levantamiento	7±1.6	7±1.7	3±1.2	4±1.2	8±2.3
Persecución	65±13	139±21^{b*,c*,d*}	52±16	46.3±9	39.0±12
Descanso	42.5 ± 17.0	34.6 ± 16.4	35.6 ± 19.7	98.7 ± 38.1	49.8 ± 23.8
Aseo a la hembra	2.9 ± 2.4	7.0 ± 4.1	1.4 ± 1.4	0.0	7.0
Exploración genital	7.2 ± 4.6	7.4 ± 6.0	1.3 ± 0.9	0.7 ± 0.7	26.0 ± 12.5

Frecuencias					
Olfateo	22.3±2.6	22±2	23.4±2.1	22±1.8	15±4.5
Auto aseo	25.4±2	21±3	29±2	23.1±3	24±3
Levantamiento	4.8±0.9	4.0±0.8	2.0±0.6	2.7±0.7	4.3±1.5
Persecución	21±3	27±3^{d***}	22.4±3	17±3	13±4
Descanso	4.1 ± 1.4	2.9 ± 1.4	2.6 ± 0.9	5.6 ± 1.3	4.0 ± 0.6
Aseo a la hembra	0.6 ± 0.5	2.2 ± 1.5	0.8 ± 0.8	0.1 ± 0.1	2.0 ± 1.5
Exploración genital	3.0 ± 1.7	2.5 ± 1.6	0.6 ± 0.3	0.4 ± 0.4	2.3 ± 0.7

Los datos se expresan en medias ± error estándar. La conducta de persecución indica diferencia tanto en la duración como en la frecuencia durante los diez minutos de observación. En la duración el análisis pos hoc (Dunn) indicó diferencia significativa del grupo EM-1 frente al grupo NLx+EM-1= b; diferencia significativa del grupo EM-1 frente al grupo NLx = c; diferencia significativa del grupo EM-1 frente al grupo FUERA = d. En la frecuencia de persecución se encontraron diferencias del grupo EM-1 contra el grupo FUERA = d.* p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001.



Cuadro 8

Conducta socio sexual evaluación en el AMG en machos tratados con salina, endomorfina-1 (100 μ mol), naloxona (5mg/kg) o endomorfina-1 + naloxona

Grupos					
Duración (seg.)	NaCl N=10	EM-1 N=10	NLx+EM-1 N=9	NLx N=9	FUERA N=5
Olfateo	109 $\pm$ 12	121 $\pm$ 13	135 $\pm$ 19.1	175 $\pm$ 19	135 $\pm$ 11
Auto aseo	205.1 $\pm$ 27	209 $\pm$ 23	185 $\pm$ 12	180 $\pm$ 14	217 $\pm$ 36
Levantamiento	11.7 $\pm$ 4	8.9 $\pm$ 2.6	23 $\pm$ 8	19 $\pm$ 4	6 $\pm$ 2
Persecución	55 $\pm$ 7	73$\pm$15^{c*}	40 $\pm$ 6	31 $\pm$ 4	44 $\pm$ 13
Descanso	23.6 $\pm$ 8	30.3 $\pm$ 7.8	39.3 $\pm$ 15.9	60.1 $\pm$ 15.1	67 $\pm$ 17
Aseo a la hembra	2.9 $\pm$ 2.4	7.0 $\pm$ 4.1	1.4 $\pm$ 1.4	0.0	12.5
Exploración genital	9.0 $\pm$ 2.8	1.8 $\pm$ 1.0	6.6 $\pm$ 4.5	5.8 $\pm$ 3.2	14.0 $\pm$ 6

Frecuencias					
Olfateo	21.2 $\pm$ 2	26.2 $\pm$ 3.1	24 $\pm$ 3	30 $\pm$ 2	26 $\pm$ 4
Auto aseo	25 $\pm$ 2.6	27.4 $\pm$ 1.4	20 $\pm$ 1	24 $\pm$ 1	22 $\pm$ 3
Levantamiento	5 $\pm$ 1.2	5 $\pm$ 1	10 $\pm$ 4	10 $\pm$ 2	4 $\pm$ 2
Persecución	17 $\pm$ 3	22$\pm$1^{b*,d*}	15 $\pm$ 2	19 $\pm$ 2	17 $\pm$ 2.3
Descanso	3.2 $\pm$ 1.1	3.2 $\pm$ 0.8	4.2 $\pm$ 1.5	4.6 $\pm$ 1.2	4.2 $\pm$ 1.3
Aseo a la hembra	0.7 $\pm$ 0.4	0.2 $\pm$ 0.1	0.1 $\pm$ 0.1	0.1 $\pm$ 0.1	0.0
Exploración genital	3.7 $\pm$ 1.2	0.6 $\pm$ 0.3^{a*,d*}	2.3 $\pm$ 1.7	1.2 $\pm$ 0.5	3.2 $\pm$.07

Los datos se expresan en medias $\pm$ error estándar. La conducta de persecución indica diferencia tanto en la duración como en la frecuencia durante los diez minutos de observación. En la duración el análisis pos hoc (Dunn) indicó diferencia significativa del grupo EM-1 frente al grupo NLx = c. En la frecuencia de la persecución presenta diferencia del grupo EM-1 frente al grupo NLx+EM-1 = b y diferencia del EM-1 frente al grupo FUERA = d. La frecuencia de la exploración genital del grupo EM-1 es diferente al grupo NaCl = a y con el grupo FUERA = d.* p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001.



5.1 Discusión

Los resultados del experimento 1 indican que la EM-1 modifica la conducta sexual de ratas macho sexualmente expertos. La administración de EM-1 aumentó el número de montas, el intervalo inter-intromisión y la latencia de eyaculación y el número de eventos observados durante la prueba conductual. Estos efectos fueron bloqueados por la administración ip de naloxona. En el experimento 2, la administración bilateral del péptido en las áreas cerebrales seleccionadas i.e., APM y AMG, provocó un incremento en la latencia de eyaculación, en la latencia de intromisión y de monta, en el número de montas y en el número de eventos ejecutados durante la prueba conductual. Al igual que en el experimento 1, los efectos de EM-1 sobre la conducta sexual se bloquearon con la administración de naloxona. El análisis de la conducta socio sexual indica que la administración del opioide previa al inicio de la prueba conductual y en ambas áreas cerebrales estudiadas, induce aumento significativo de la persecución a la hembra lo que puede justificar el incremento de la latencia de eyaculación de la fase consumatoria.

Estos resultados en conjunto apoyan la propuesta de que los opioides participan en el circuito neuronal involucrado en el control de la conducta sexual (Agmo y Paredes, 1988; Paredes, 2009; van Furth, Wolterink y van Ree, 1995; Agmo, Paredes y Contreras, 1994; Arletti, et al. 1997; Fabbri, et al. 1989; Rodríguez-Manzo, Asai y Fernández Guasti, 2002) y son congruentes con trabajos previos que reportan que ligandos sintéticos y endógenos provocan inhibición o retraso de la conducta sexual masculina en parámetros semejantes a los aquí descritos (McIntosh, Vallano y Barfield, 1980; Meyerson, 1981; Matuszewich, et al. 1995; Hughes, Everitt y Herbert, 1987; Meyerson y Terenius, 1977; Band y Hull, 1990; García-Horsman, Agmo y Paredes, 2008; Matuszewich y Dornan, 1992; Shadiack, et al. 2007; van Ahlen et al. 1995; van Furth, Wolterink y van Ree, 1995 y vanFurth y vanRee, 1996).



En el presente trabajo se administró un péptido específico al receptor μ previo a la ejecución copulatoria, lo que permite proponer activación del receptor μ durante la fase consumatoria de la conducta sexual. Si bien existe evidencia experimental de la influencia de la EM-1 en la conducta de receptividad sexual de la rata hembra (Acosta-Martínez y Etgen, 2002), no existe antecedente experimental en machos donde sea estimulado el sistema opioide a través de un agonista específico al receptor μ , como es el caso de la EM-1. Esto permite proponer que la EM-1 tiene capacidad de afectar la respuesta conductual del macho mediante la activación del sistema opioide, específicamente por la activación de receptores μ . Así, este trabajo demuestra específicamente la participación del receptor μ en la conducta sexual masculina y la posibilidad de la acción biológica de la EM-1 en el sustrato neural relacionado con esta conducta.

De la evaluación conductual, resulta claro que la activación del receptor μ por administración de EM-1 previa al inicio de la cópula, induce retraso en la aparición del patrón motor de eyaculación en términos de incremento de la latencia de eyaculación (LEy), lo cual fue observado tanto por administración ventricular o directamente en el área cerebral específica. La LEy es el parámetro que resulta significativamente modificado en ambos experimentos. Asimismo, la administración en APM provocó que el macho retrasara el inicio de la fase copulatoria debido al incremento en las latencias de monta e intromisión (LM y LI) así como en el aumento en el número de eventos previos a la eyaculación. Como ya se comentó, existe evidencia abundante de que los opioides son liberados durante la conducta sexual (Rodríguez-Manzo, Asai y Fernández Guasti, 2002; García-Horsman, Agmo y Paredes, 2008; Holloway, Cornil y Balthazart, 2004; Coolen, et al. 2004; Balfour, Yu y Coolen, 2004). En este trabajo se administró el opioide previo al inicio de la conducta, esta condición necesariamente induce una activación de los receptores μ aun sin ejecutar la conducta, con las implicaciones fun-



cionales descritas para este receptor (apertura de canales potasio y una consecuente hiperpolarización de la membrana) (Corbet y Mignani, 2006). Así, el sistema opioide que se activa justo antes del inicio de la cópula tiene como consecuencia un incremento en la latencia de eyaculación como resultado de un intervalo inter-intromisión que aumenta (experimento 1B). Estos datos contrastan con investigaciones previas en donde la administración de un agonista opioide en el ventrículo lateral una vez iniciada la cópula, facilita la conducta subsecuente, reduciendo el número de intromisiones y la latencia de eyaculación (Agmo y Paredes, 1988). Resulta interesante señalar que un porcentaje de machos no exhibió conducta tras la administración del opioide (30% del total de machos) en el APM, lo cual contrasta con la evidencia experimental (Agmo y Paredes, 1988). Esta observación de respuesta de inactividad total por parte de un pequeño porcentaje de machos, podría ser explorado con nuevos experimentos tomando en consideración la distribución y densidad neuronal regional del receptor μ en el APM, que apoye la posible subregionalización tanto en fenotipos bioquímicos como en la interconexión neuronal de esta área hipotalámica.

Por otro, la liberación de opioides durante la conducta sexual implica el establecimiento de un estado afectivo positivo el cual es reforzado con la eyaculación (Agmo, 2007). En este sentido el paradigma de condicionamiento de preferencia de lugar (CPL) ha demostrado que la ejecución de la conducta copulatoria tiene propiedades intrínsecamente recompensantes, en donde la eyaculación y el número de intromisiones inducen cambios en la preferencia del lugar independiente de la experiencia sexual del macho (Camacho, et al. 2009). Puede proponerse entonces que, bajo el diseño experimental adoptado en esta investigación de administrar el opioide antes de la presentación del incentivo sexual (la hembra receptiva), se origina el estado afectivo positivo sin la consecuente estimulación que desencadena en la interacción sexual. Así, la búsqueda por la obtención del estado placentero se retrasa aumentando la



latencia de eyaculación. Este incremento podría ser el resultado de la inducción de un diferente umbral de estimulación requerido para conseguir el estado recompensante después de la intromisión.

Resulta interesante visualizar a los opioides, en particular aquellos ligandos específicos al receptor μ , como neuromoduladores de la conducta sexual y no como inhibidores de la misma. Si bien existen datos que señalan a los opioides como inhibidores de la conducta copulatoria (Agmo, Paredes y Contreras, 1994; Acosta-Martinez y Etgen 2002; van Furth, Wolterink y van Ree 1995; Agmo, Gomez y Irazabal, 1994; Matuszewich y Dornan, 1992) incluso como facilitadores (Agmo y Paredes 1988), estas investigaciones incluyen la administración de agonistas de especificidad compartida con otros receptores a opioides en dosis y vías de administración muy diversa que justifican la consideración inicial de bioactividad inhibitoria sobre la conducta sexual a cargo de la acción opioide. El efecto farmacológico del antagonismo con naloxona observado en esta investigación y en otras previas, constituye otra evidencia experimental que apoya la hipótesis de la liberación de opioides durante la conducta sexual, así como en el desarrollo del estado afectivo positivo evaluado con diversos paradigmas como el CPL tanto en machos como en hembras (Martínez y Paredes, 2001; Paredes y Martínez, 2001; García-Horsman, Agmo y Paredes, 2008).

La vía diferente de administración utilizada en ambos experimentos nos permitió demostrar que la EM-1 puede provocar un efecto funcional en aquellas neuronas con receptor μ y que forman parte del sustrato neuronal vinculado con la conducta sexual. Los resultados nos sugieren que independiente al sitio de infusión, se obtiene afectación de la conducta copulatoria. No obstante, los efectos puntuales sobre la temporalidad de los eventos (latencia de monta e intromisión) entre las dos áreas estudiadas, abren la posibilidad de una activación del receptor μ de manera regional que origina una fina acción entre el circuito AMG-APM modulando alguno de los



mecanismos implicados tanto en el inicio de la conducta como en la ejecución de la fase consumatoria de la conducta sexual. Existe amplia evidencia de la importancia funcional del APM como área crítica para la expresión de la conducta sexual (Paredes, 2003). Sin embargo no se puede negar la importancia funcional de la AMG en la fase consumatoria de la conducta (Coolen, et al., 1996, Harris y Sachs, 1975; Kondo, 1992; Kondo y Sachs, 2002; Kostarczyk, 1986, Lanuza, et al. 2008; Newman, 1999; Stark, et al. 1998; Veening y Coolen, 1998) y aún mas, de aquellas áreas periventriculares que tras la infusión iv (experimento 1) pudieron ser activadas por la EM-1 y así influenciar la conducta analizada.

Como ya ha sido planteado en párrafos previos, la conducta copulatoria requiere de la interacción con una pareja sexualmente receptiva lo que constituye la fase precopulatoria en tanto que la copulatoria es la ejecución de la interacción sexual con la hembra (Hlinák, 1986). Dicha interacción precopulatoria incluye principalmente el aseo y la persecución a la pareja. Si bien existe la posibilidad de observar otras interacciones socio-sexuales, la manipulación farmacológica en el APM y las lesiones en esta área han permitido proponer que la evaluación de la persecución a la hembra representa un índice muy importante de motivación sexual (Paredes y Baum, 1995; Paredes, Highland y Karam, 1993). Por ejemplo, lesiones en el APM o en el tegmento dorsolateral (Paredes, Highland y Karam, 1993; Giordano, et al. 1998), así como la administración farmacológica de un agonista al GABA (Paredes y Agmo, 1989), disminuyen significativamente la persecución a la hembra. Esta condición nos llevo a la evaluación de la conducta socio-sexual de los machos con el fin de correlacionar el estatus de motivación existente bajo la influencia del opioide. La administración del péptido indujo un aumentó significativo en la duración de la persecución a la hembra, tanto en el APM como en la AMG. Estos resultados permiten apoyar la propuesta que la activación del receptor μ a través de la presencia de EM-1 lejos de provocar influencia



inhibitoria, se asocia con una modulación de la transición a la fase copulatoria. Con esta línea de pensamiento, no puede afirmarse que el estado motivado se encuentre inhibido ya que el macho persigue reiteradamente a la hembra receptiva (estímulo recompensante), sumando estimulación previo a la eyaculación (búsqueda del estado afectivo positivo), sin menospreciar la liberación endógena de endomorfina-1 o de otros opioides. Como resultado final el macho alarga la serie copulatoria y su latencia de eyaculación.

Tomando en conjunto toda la evidencia experimental es prematuro proponer que la EM-1 es mas relevante en la fase consumatoria que en la fase apetitiva, o que el APM o la AMG expresen alguna jerarquía funcional ante la presencia del opioide. Sin embargo, es asequible afirmar que la administración del opioide previo al encuentro sexual no inhibe la aproximación y persecución a la hembra (mas aún la incrementa). Sin embargo, se identifica un compromiso conductual de la transición entre la fase precopulatoria hacia la consumación (incremento en la latencia de monta y de intromisión) siendo la consecuencia final un retraso en la eyaculación y que representa el evento consumatorio mas significativo para lograr el estado afectivo positivo (Camacho et al. 2009).

En una postura paralela, existe la consideración de la modificación del umbral de estimulación y la asociación con el estado recompensante inducido por la cópula. Bajo esta consideración, la activación del receptor μ en presencia de EM-1 previa al inicio de la cópula, podría modificar el umbral de respuesta al estímulo sensorial necesario para representar en el sujeto un significado recompensante, por lo que observamos mayor número de intromisiones previas a la eyaculación. En este sentido, el umbral de estimulación y la consecuente asociación con el estado recompensante, que la ejecución de la conducta implica, constituyen factores críticos para el estado afectivo positivo presente en la conducta sexual de la rata macho.



5.2 Conclusiones

La inyección intracerebral de EM-1 modifica la conducta copulatoria de la rata macho al incrementar la latencia de eyaculación y resulta independiente de la vía de infusión.

La vía de administración específica del péptido en el APM o en la AMG induce cambios similares en la latencia de eyaculación, por lo que la activación del receptor μ resulta igualmente significativo para estas dos áreas cerebrales involucradas en el circuito neural de la conducta sexual.

La interacción socio-sexual que exhibe la rata macho bajo la presencia de EM-1 aumenta la persecución a la hembra.

La transición de la fase precopulatoria a la copulatoria constituye el punto crítico en donde se afecta la conducta sexual en presencia de EM-1.

El presente trabajo representa una contribución al conocimiento de la participación del receptor opioide μ en la regulación de la conducta sexual masculina.



5.3 Perspectivas

Existe evidencia experimental que demuestra que la interacción sexual causa un estado afectivo positivo y que la habilidad de pasar de la fase precopulatoria a la copulatoria resulta crítica para una interacción exitosa. Con base en estos hechos se propone diseñar nuevos experimentos en donde se exploren los mecanismos funcionales que permitan entender la transición entre la motivación a la consumación del acto copulatorio.

Es necesario demostrar y evaluar la posible modificación al umbral de estimulación provocado por el aumento en el tono opioide y que desencadena el retraso en la consolidación del estado afectivo positivo que induce la ejecución de la cópula y la misma eyaculación.

Asímismo, es importante demostrar la activación del receptor μ en presencia de EM-1 justo en el circuito neuronal vinculado con la conducta sexual lo que confirmará la importancia de este receptor en la expresión y modulación de la conducta sexual masculina así como la actividad biológica de este péptido putativamente endógeno.

- Acosta-Martinez M y Etgen AM. 2002. Activation of mu-opioid receptors inhibits lordosis behavior in estrogen and progesterone-primed female rats. *Horm Behav* 41 (1): 88-100.
- Agmo A. 2003. Unconditioned sexual incentive motivation in the male Norway rat (*Rattus norvegicus*). *J Comp Psychol* 117 (1): 3-14.
- Agmo A. Functional and Dysfunctional Sexual Behavior. USA: Academic Press, 2007.
- Agmo A, y Paredes R. 1988. Opioids and sexual behavior in the male rat. *Pharmacol Biochem Behav* 30 (4):1021-34.
- Agmo A, Fernández H y Picker Z. 1989. Naloxone inhibits the facilitatory effects of 8-OH-DPAT on male rat sexual behaviour. *Eur J Pharmacol* 1, 166 (1): 115-6.
- Agmo A, Berenfeld R. 1990. Reinforcing properties of ejaculation in the male rat: role of opioids and dopamine. *Behav Neurosci*. 104, 1: 177-82.
- Agmo A, Gomez M. 1991. Conditioned place preference produced by infusion of Met-enkephalin into the medial preoptic area. *Brain Res* 550 (2) 343-6.
- Agmo A, Gómez M. 1993. Sexual reinforcement is blocked by infusion of naloxone into the medial preoptic area. *Behav Neurosci* 107 (5): 812-8.
- Agmo A, Gomez M y Irazabal Y. 1994. Enkephalinase inhibition facilitates sexual behavior in the male rat but does not produce conditioned place preference. *Pharmacol Biochem Behav* 47(4): 771-8.
- Agmo A, Paredes R, y Contreras JL. 1994. Opioids and sexual behavior in the male rabbit: the role of central and peripheral opioid receptors. *J Neural Transm Gen Sect* 97 (3): 211-23.
- Agmo A y Villalpando A. 1995. Central nervous stimulants facilitate sexual behavior in male rats with medial prefrontal cortex lesions. *Brain Res* 696 (1-2): 187-93.
- Akil H, Owens C, Gutstein H, Taylor L, Curran E, Watson S. 1998. Endogenous opioids: overview and current issues. *Drug Alcohol Depend* 51(1-2): 127-40.
- Alheid F. 2003. Extended amygdala and basal forebrain. *Annl's N Y Acad Sci* 985: 185-205.
- Argiolas A. 1999. Neuropeptides and sexual behaviour. *Neurosci Biobehav Rev* 23 (8): 1127-42.

Argiolas A y Melis M. 2003. The neurophysiology of the sexual cycle. *J Endocrinol Invest* 26 (3): 20-2.

Argiolas A y Melis M. 2004. The role of oxytocin and the paraventricular nucleus in the sexual behaviour of male mammals. *Physiol Behav* 83 (2): 309-17.

Arletti R, Calza L, Giardino L, Benelli A, Cavazzuti E y Bertolini A. 1997. Sexual impotence is associated with a reduced production of oxytocin and with an increased production of opioid peptides in the paraventricular nucleus of male rats. *Neurosci Lett* 233 (2-3): 65-8.

Balfour E, Brown JL, Yu L, y Coolen LM. 2006. Potential contributions of efferents from medial prefrontal cortex to neural activation following sexual behavior in the male rat. *Neuroscience* 137: 1259-1276.

Balthazart J y Ball GF. 2007. Topography in the preoptic region: differential regulation of appetitive and consummatory male sexual behaviors. *Front Neuroendocrinol* 28, (4): 161-78.

Band LC, y Hull EM. 1990. Morphine and dynorphin (1-13) microinjected into the medial preoptic area and nucleus accumbens: effects on sexual behavior in male rats. *Brain Res* 524: 77-84.

Baum M y Kelliher KR. 2009. Complementary roles of the main and accessory olfactory systems in mammalian mate recognition. *Annu Rev Physiol* 71: 141-160.

Beach FA y Jordan L. 1956. Effects of sexual reinforcement upon the performance of male rats in a straight runway. *J Comp Physiol Psychol* 49 (2): 105-10.

Best A, y Regehr W. 2008. Serotonin evokes endocannabinoid release and retrogradely suppresses excitatory synapses. *J Neurosci* 28 (25): 6508-15.

Biały M y Kaczmarek L. 1996. c-Fos expression as a tool to search for the neurobiological base of the sexual behaviour of males. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 56 (2): 567-77.

Blackburn J, Pfaus J y Phillips A. 1992. Dopamine functions in appetitive and defensive behaviours. *Prog Neurobiol* 39 (3): 247-79.

Bressler C y Baum MJ. 1996. Sex comparison of neuronal fos immunoreactivity in the rat vomeronal projection circuit after chemosensory stimulation. *Neuroscience* 71 (4): 1063-1072.

- Camacho FJ, Castro M, Hernández V, y Paredes R. 2007. Facilitation of ejaculation induced by 8-OH-DPAT does not produce conditioned place preference in male rats. *Behav Neurosci* 121 (3): 579-85.
- Camacho FJ, Portillo W, Quintero-Enríquez O, Paredes RG. 2009. Reward value of intrusions and morphine in male rats evaluated by conditioned place preference. *Physiol Behav* 98 (5): 602-7.
- Canteras SN, Simerly RB y Swanson LW. 1995. Organization of projections from the medial nucleus of the amygdala: a PHAL study in the rat. *J Comp Neurol* 360 (2): 213-45.
- Carter CS. 1992. Oxytocin and sexual behavior. *Neurosci Biobehav Rev* 16 (2): 131-44.
- Castilhos J, Marcuzzo S, Forti CD, Frey RM, Stein D, Achaval M, Rasia-Filho AA. 2006. Further studies on the rat posterodorsal medial amygdala: dendritic spine density and effect of 8-OH-DPAT microinjection on male sexual behavior. *Brain Res Bull* 69: 131-139.
- Chiba T y Murata Y. 1985. Afferent and efferent connections of the medial preoptic area in the rat: a WGA-HRP study. *Brain Res Bull* 14(3): 261-72.
- Clark JT y Smith ER. 1990. Clonidine suppresses copulatory behavior and erectile reflexes in male rats: lack of effect of naloxone pretreatment. *Neuroendocrinol* 51 (3): 357-64.
- Conrad CL y Pfaff DW. 1976. Efferents from medial basal forebrain and hypothalamus in the rat. I. An autoradiographic study of the medial preoptic area. *J Comp Neurol* 169 (2): 185-219.
- Coolen LM, Peters HJ, Veening JG. 1996. Fos immunoreactivity in the rat brain following consummatory elements of sexual behavior: a sex comparison. *Brain Res* 738 (1): 67-82.
- Coolen LM y Wood RL. 1998. Bidirectional connections of the medial amygdaloid nucleus in the Syrian hamster brain: simultaneous anterograde and retrograde tracing. *J Comp Neurol* 399 (2): 189-209.
- Coolen LM, Allard J, Truitt WA y McKenna KE. 2004. Central regulation of ejaculation. *Physiol Behav* 83 (2): 203-15.
- Corbet JP y Mignani G. 2006. Selected patented cross-coupling reaction technologies. *Chem Rev* 106 (7): 2651-710.
- Cota DK, Smith KA, Proulx SC, Kozma G, Thomas SC, Woods RJ Seeley. 2006. Hypothalamic mTOR signaling regulates food intake. *Science* 312 (5775): 927-30.

- Crain SM y Shen KF. 2000. Antagonists of excitatory opioid receptor functions enhance morphine's analgesic potency and attenuate opioid tolerance/dependence liability. *Pain* 84 (2-3): 121-31.
- Dahlöf LG y Larsson K. 1978. Copulatory performances of penile desensitized male rats as a function of prior social and sexual experience. *Behav Biol* 24 (4): 492-7.
- deJong T, Veening J, Olivier B y Waldinger M. 2007. Oxytocin involvement in SSRI-induced delayed ejaculation: a review of animal studies. *J Sex Med* 4 (1): 14-28.
- Desjardins GC, Brawer JR y Beaudet A. 1990. Distribution of mu, delta, and kappa opioid receptors in the hypothalamus of the rat. *Brain Res* 536 (1-2): 114-23.
- Emery E y Sachs BD. 1976. Copulatory behavior in male rats with lesions in the bed nucleus of the stria terminalis. *Physiol Behav* 17: 803-806.
- Everitt B. 1990. Sexual motivation: a neural and behavioural analysis of the mechanisms underlying appetitive and copulatory responses of male rats. *Neurosci Biobehav Rev* 14 (2): 217-32.
- Everitt B y Stacey P. 1987. Studies of instrumental behavior with sexual reinforcement in male rats (*Rattus norvegicus*): II. Effects of preoptic area lesions, castration, and testosterone. *J Com Psychol* 101 (4): 407-19.
- Everitt B, Cador M y Robbins TW. 1989. Interactions between the amygdala and ventral striatum in stimulus-reward associations: studies using a second-order schedule of sexual reinforcement. *Neuroscience* 30 (1): 63-75.
- Fabbri A, Jannini EA, Gnessi L, Ulisse S, Moretti C y Isidori A. 1989. Neuroendocrine control of male reproductive function. The opioid system as a model of control at multiple sites. *J Steroid Biochem* 32 (1B): 145-50.
- Fattore L, Melis M, Fadda P, Pistis M y Fratta W. 2010. The endocannabinoid system and nondrug rewarding behaviours. *Exp Neurol* 224(19): 23-36.
- Ferguson SS. 2001. Evolving concepts in G protein-coupled receptor endocytosis: the role in receptor desensitization and signaling. *Pharmacol Rev* 53 (1): 1-24.
- Fernández-Guasti A, Larsson K y Beyer C. 1985. Potentiative action of alpha- and beta-adrenergic receptor stimulation in inducing lordosis behavior. Comparison of the effects of different isomers of bicuculline infused in the preoptic area on male rat sexual behavior. *Pharmacol Biochem Behav* 22 (4): 613-7.

- Fernández-Guasti A y Agmo A. 1989. Inhibitory action of various 5-HT1B receptor agonists on rat masculine sexual behaviour. *Pharmacol Biochem Behav* 34 (4): 811-6.
- Fernandez-Guasti A y Escalante A. 1991. Role of presynaptic serotonergic receptors on the mechanism of action of 5-HT1A and 5-HT1B agonists on masculine sexual behaviour: physiological and pharmacological implications. *J Neural Transm Gen Sect* 85 (2): 95-107.
- Fernández-Guasti A, Escalante A, Ahlenius S., Hillegaart V y Larsson K. 1992. Stimulation of 5-HT1A and 5-HT1B receptors in brain regions and its effects on male rat sexual behaviour. *Eur J Pharmacol* 210: 121-9.
- Fichna J, Janecka A, Costentin J y Do Rego JC. 2007. The endomorphin system and its evolving neurophysiological role. *Pharmacol Rev* 6858 (1): 88-123.
- Fjellström D, Kihlström J y Melin P. 1968. The effect of synthetic oxytocin upon seminal characteristics and sexual behaviour in male rabbits. *J Reprod Fertil* 17 (1): 207-9.
- Foreman M y Hall J. 1987. Effects of D2-dopaminergic receptor stimulation on male rat sexual behavior. *J Neural Transm* 68 (3-4): 153-70.
- García-Horsman SP, Agmo A y Paredes R. 2008. Infusions of naloxone into the medial preoptic area, ventromedial nucleus of the hypothalamus, and amygdala block conditioned place preference induced by paced mating behavior. *Horm Behav* 54 (5): 709-16.
- Giantonio G, Lund NL y Gerall AA. 1970. Effect of diencephalic and rhinencephalic lesions on the male rat's sexual behavior. *J Comp Physiol Psychol* 73 (1): 38-46.
- Giordano M, Güemes M, López-Arias V, Paredes R. 1998. Socio-sexual behavior in male rats after lesions of the dorsolateral tegmentum. *Physiol Behav* 65 (1): 89-94.
- Goldberg IE, Rossi GC, Letchworth SR, Mathis JP, Ryan-Moro J, Leventhal L, Su W, Emmel D, Bolan EA, Pasternak GW. 1998. Pharmacological characterization of endomorphin-1 and endomorphin-2 in mouse brain. *J Pharmacol Exp Ther* 286 (2): 1007-13.
- Gorzalka B, Morrish A y Hill M. 2008. Endocannabinoid modulation of male rat sexual behavior. *Psychopharmacol (Berl)* 198 (4): 479-86.
- Gorzalka B, Hill M y Chang S. 2010. Male-female differences in the effects of cannabinoids on sexual behavior and gonadal hormone function. *Horm Behav* 58 (1): 91-9.
- Greco B, Edwards DA, Zumpe D, Michael RP y Clancy AN. 1998. Fos induced by mating or noncontact sociosexual interaction is colocalized with androgen receptors in

neurons within the forebrain, midbrain and lumbosacral spin cord of male rats. *Horm Behav* 33 (2): 125-38.

Greenwell TN, Martin-Schild S, Inglis FM y Zadina JE. 2007. Colocalization and shared distribution of endomorphins with substance P, calcitonin gene-related peptide, gamma-aminobutyric acid, and the mu opioid receptor. *J Comp Neurol* 503 (2): 319-33.

Grierson J, James M, Pearson J y Wilson C. 1988. The effect of selective D1 and D2 dopaminergic agents on sexual receptivity in the female rat. *Neuropharmacol* 27 (2): 181-9.

Gu G, Cornea A y Simerly RB. 2003. Sexual differentiation of projections from the principal nucleus of the bed nuclei of the stria terminalis. *J Comp Neurol* 460: 542-562.

Guillamón A y Segovia S. 1997. Sex differences in the vomeronasal system. *Brain Res Bull* 44(4):377-82.

Hackler L, Zadina JE, Ge LJ y Kastin AJ. 1997. Isolation of relatively large amounts of endomorphin-1 and endomorphin-2 from human brain cortex. *Peptides* 18 (10): 1635-9.

Hallinan R, Byrne A, Agho K, Tynan C, McMahon P y Attia J. 2009. Erectile dysfunction in men receiving methadone and buprenorphine maintenance treatment. *J Sex Med* 5 (3): 684-92.

Hansen S, Höhler C, Goldstein M y Steinbusch HV. 1982. Effects of ibotenic acid-induced neuronal degeneration in the medial preoptic area and the lateral hypothalamic area on sexual behavior in the male rat. *Brain Res* 239 (1). 213-32.

Hardman JG y Limbird LE. Goodman & Gilman's. *The Pharmacological basis of therapeutics*. Tenth Edition. Vol. 1. 1 vols. Ney York: McGraw-Hill, 2007.

Harris V y Sachs BD. 1975. Copulatory behavior in male rats following amygdaloid lesions. *Brain Res* 86: 514-518.

Heimer L y Larsson K. 1964. Drastic changes in the mating behaviour of male rats following lesions in the junction of diencephalon and mesencephalon. *Experientia* 20 (8): 460-1.

Heisler L, Cowley M, Kishi T, Tecott L, Fan W, Low M. 2003. Central serotonin and melanocortin pathways regulating energy homeostasis. *Ann N Y Acad Sci* 994: 169-74.

Hellstrom W. 2008. Clinical applications of centrally acting agents in male sexual dysfunction. *Int J Impot Res* 20 (1): S17-23.

- Hlinák Z. 1986. Precopulatory behaviour of laboratory rat: an ethological approach. *Act Nerv Super* (Praha) 28 (2): 108-16.
- Hlinák Z, Madlafousek J y Spinka M. 1987. Transition from precopulatory to copulatory behaviour in male rats with lesions in medial preoptic area: dependence on precopulatory pattern of female. *Act Nerv Super* (Praha) 29 (4): 257-63.
- Hlinák Z. 1990. Precopulatory behaviour in male rats: ethological analysis and functional considerations. *Act Nerv Super* (Praha) 32 (1): 12-34.
- Holloway KS, Cornil CA y Balthazart J. 2004. Effects of central administration of naloxone during the extinction of appetitive sexual responses. *Behav Brain Res* 153: 567-572.
- Hughes AM, Everitt BJ y Herbert J. 1987. Selective effects of beta-endorphin infused into the hypothalamus, preoptic area and bed nucleus of the stria terminalis on the sexual and ingestive behaviour of male rats. *Neuroscience* 23 (3): 1063-73.
- Hull E, Warner R, Bazzett T, Eaton R, Thompson, J y Scaletta L. 1989. D2/D1 ratio in the medial preoptic area affects copulation of male rats. *J Pharmacol Exp Ther* 251 (2): 422-7.
- Hull E, Lorrain D, Du J, Matuszewich L, Lumley L y Putnam S. 1999. Hormone-neurotransmitter interactions in the control of sexual behavior. *Behav Brain Res* 105 (1): 105-16.
- Jakupovic J, Kang N y Baum, MJ. 2008. Effect of bilateral accessory olfactory bulb lesions on volatile urinary odor discrimination and investigation as well as mating behavior in male mice. *Physiol Behav* 93 (3): 467-473.
- Janecka A, Fichna J y Janecki T. 2004. Opioid receptors and their ligands. *Curr Top Med Chem* 4 (1): 1-17.
- Javed A, Kamradt M y Van de Kar LG. 1999. D-Fenfluramine induces serotonin-mediated Fos expression in corticotropin-releasing factor and oxytocin neurons of the hypothalamus, and serotonin-independent Fos expression in enkephalin and neurotensin neurons of the amygdala. *Neuroscience* 90 (3): 851-8.
- Jørgensen H, Kjaer A, Knigge U, Møller M y Warberg J. 2003. Serotonin stimulates hypothalamic mRNA expression and local release of neurohypophyseal peptides. *J Neuroendocrinol* 15(6): 564-71.

- Keller M, Douhard Q, Baum M y Bakker J. 2006. Sexual experience does not compensate for the disruptive effects of zinc sulfate--lesioning of the main olfactory epithelium on sexual behavior in male mice. *Chem Senses* 31 (8): 753-62.
- Keller M, Baum M, Brock O, Brennan P y Bakker J. 2009. The main and the accessory olfactory systems interact in the control of mate recognition and sexual behavior. *Behav Brain Res* 200 (2): 268-76.
- Keverne E. 1983. Pheromonal influences on the endocrine regulation of reproduction. *Trends Neurosci* 6: 381-384.
- Kikusui T, Takigami S, Takeuchi Y y Mori Y. 2001. Alarm pheromone enhances stress-induced hypothermia in rats. *Physiol Behav* 72: 45-50.
- Kimoto H, Haga S, Sato K y Touhara K. 2005. Sex-specific peptides from exocrine glands stimulate mouse vomeronasal sensory neurons. *Nature* 437 (7060): 896-901.
- Kita I, Seki Y, Nakatani Y, Fumoto M, Oguri M, Sato-Suzuki I. 2006. Corticotropin-releasing factor neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus are involved in arousal/yawning response of rats. *Behav Brain Res* 169 (1): 48-56.
- Kolunie M y Stern JM. 1995. Maternal aggression in rats: effects of olfactory bulbectomy, Znso4- Induced anosmia, and vomeronasal organ removal. *Horm Behav* 29: 493-518.
- Kondo Y. 1992. Lesions of the medial amygdala produce severe impairment of copulatory behavior in sexually inexperienced male rats. *Physiol Behav* 51 (5): 939-943.
- Kondo Y y Arai Y. 1995. Functional association between the medial amygdala and the medial preoptic area in regulation of mating behavior in the male rat. *Physiol Behav* 57 (1): 69-73.
- Kondo Y y Yamanouchi K. 1995. The possible involvement of the nonstriatal pathway of the amygdala in neural control of sexual behavior in male rats. *Brain Res Bull* 38 (1): 37-40.
- Kondo Y, Sachs BD, Sakuma Y. 1997. Importance of the medial amygdala in rat penile erection evoked by remote stimuli from estrous females. *Behav Brain Res* 88 (2): 153-60.
- Kondo Y y Sachs BD. 2002. Disparate effects of small medial amygdala lesions on non-contact erection, copulation and partner preference. *Physiol Behav* 76: 443-447.

- Kostarczyk E. 1986. The amygdala and male reproductive functions: I. anatomical and endocrine bases. *Neurosci Biobehav Rev* 10: 67-77.
- Krieger MS y Barfield RJ. 1976. Masculine sexual behavior: pacing and ejaculatory patterns in femal rats induced by electrical shock. *Physiol Behav* 16 (6): 671-5.
- Lanuza E, Novejarque A, Martinez-Ricós J, Martínez-Hernández J, Agustín-Pavón C y Martínez-García F. 2008. Sexual pheromones and the evolution of the reward system of the brain: the chemosensory function of the amygdala. *Brain Res Bull* 75: 460-466.
- Larsen PJ, Hay-Schmidt A, Vrang N y Mikkelsen JD. 1996. Origin of projections from the midbrain raphe nuclei to the hypothalamic paraventricular nucleus in the rat: a combined retrograde and anterograde tracing study. *Neuroscience* 70 (4): 963-88.
- Larsson K. 1975. Sexual impairment of inexperienced male rats following pre and postpuberal alfactory bulbectomy. *Physiol Behav* 14: 195-199.
- Larsson K y Ahlenius L. 1999. Brain and sexual behavior. *Ann N Y Acad Sci* 29 (877): 292-308.
- LeDoux J. 2007. The amygdala. *Curr Biol* 17 (20): R868-R874.
- Lee HJ, Macbeth AH, Pagani JH y Young WS. 2009. Oxytocin: the great facilitator of life. *Prog Neurobiol* 88 (2): 127-51.
- Liu CY, Salamone JD y Sachs BD. 1997. Lesions in medial preoptic area and bed nucleus of stria terminalis: differential effects on copulatory behavior and noncontact erection in male rats. *J Neurosci* 17 (13): 5245-5253.
- López HS y Carrer HF. 1982. Investigation of peripeduncular-hypothalamic pathways involved in the control of lordosis in the rat. *Brain Res* 253 (1-2): 287-302.
- Lorenzo Fernández P. Velázquez. *Farmacología básica y Clínica*. Vol. 1. Panamericana, 2008.
- Luo M, Fee M y Katz L. 2003. Encoding pheromonal signals in the accesory olfactory bulb of behaving mice. *Science* 299: 1196-1201.
- Malmnäs C. 1976. The significance of dopamine, versus other catecholamines, for L-dopa induced facilitation of sexual behavior in the castrated male rat. *Pharmacol Biochem Behav* 4 (5): 521-6.
- Malmnäs C. 1977. Dopaminergic reversal of the decline after castration of rat copulatory behaviour. *J Endocrinol* 73 (1): 187-8.

- Mansour A, Fox CA, Akil H y Watson SJ. 1995. Opioid-receptor mRNA expression in the rat CNS: anatomical and functional implications. *Trends Neurosci* 18 (1): 22-9.
- Martel KL y Baum MJ. 2007. Sexually dimorphic activation of the accessory, but not the main, olfactory bulb in mice by urinary volatiles. *Eur J Neurosci* 26(2): 463-75.
- Martin-Schild S, Gerall AA, Kastin AJ y Zadina JE. 1999. Differential distribution of endomorphin 1- and endomorphin 2-like immunoreactivities in the CNS of the rodent. *J Comp Neurol* 405 (4): 450-71.
- Martínez-González D, Bonilla-Jaime H, Morales-Otal A, Henriksen S. Velázquez-Moctezuma J y Prospéro-García O. 2004. Oleamide and anandamide effects on food intake and sexual behavior of rats. *Neurosci Lett* 364 (1): 1-6.
- Martínez I, y Paredes R. 2001. Only self-paced mating is rewarding in rats of both sexes. *Horm Behav* 40 (4): 510-7.
- Matuszewich L y Dornan WA. 1992. Bilateral injections of a selective mu-receptor agonist (morphiceptin) into the medial preoptic nucleus produces a marked delay in the initiation of sexual behavior in the male rat. *Psychopharmacol (Berl)* 106 (3): 391-6.
- Matuszewich L, Ormsby JL, Moses J, Lorrain DS y Hull EM. 1995. Effects of morphiceptin in the medial preoptic area on male sexual behavior. *Psychopharmacol (Berl)* 122 (4): 330-5.
- McGregor A y Herbert J. 1992. Differential effects of excitotoxic basolateral and cortical lesions of the amygdala on the behavioural and endocrine responses to either sexual or aggression-promoting stimuli in the male rat. *Brain Res* 574: 9-20.
- McIntosh T, Vallano ML y Barfield RJ. 1980. Effects of morphine, beta-endorphin and naloxone on catecholamine levels and sexual behavior in the male rat. *Pharmacol Biochem Behav* 13 (3): 435-41.
- McIntosh T y Barfield R. 1984. Brain monoaminergic control of male reproductive behavior. II. Dopamine and the post-ejaculatory refractory period. *Behav Brain Res* 12 (3): 267-73.
- Medina F, Siddiqui A, Scimonelli T, Fenske C, Wilson CA y Celis ME. 1998. The inter-relationship between gonadal steroids and POMC peptides, beta-endorphin and alpha-MSH, in the control of sexual behavior in the female rat. *Peptides* 19 (8): 1309-16.
- Meisel L y Sachs B. 1994. The physiology of male sexual behavior. En K. E. D, *The physiology of reproduction* (págs. 3-105). New York: Raven Press.

- Meisel R, Lumia A y Sachs B . 1982. Disruption of copulatory behavior of male rats by olfactory bulbectomy at two, but not ten, days of age. *Exp Neurol* 77 (3): 612-24.
- Melis M, Succu SM y Argiolas A. 2004. Antagonism of cannabinoid CB1 receptors in the paraventricular nucleus of male rats induces penile erection. . *Neurosci Lett* 359 (1-2): 17-20.
- Melis M y Argiolas A. 1995. Dopamine and sexual behavior. *Neurosci Biobehav Rev* 19 (1): 19-38.
- Meredith M. 1986. Vomeronasal organ removal before sexual experience impairs male hamster mating behavior. *Physiol Behav* 36: 737-743.
- Meredith M y Westberry JM. 2004. Distinctive responses in the medial amygdala to same species and different. species pheromones. *J Neurosci* 24 (25): 5719-5725.
- Meyerson BJ. 1981. Comparison of the effects of beta-endorphin and morphine on exploratory and socio-sexual behaviour in the male rat. *Eur J Pharmacol* 69 (4): 453-63.
- Meyerson BJ y Terenius L. 1977. Beta-endorphin and male sexual behavior. *Eur J Pharmacol* 42 (2): 191-2.
- Meyerson BJ y Höglund AU. 1981. Exploratory and socio-sexual behaviour in the male laboratory rat: a methodological approach for the investigation of drug action. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)* 48 (2): 168-80.
- Micevych P, Sinchak K, Mills RH, Tao L, LaPolt P, y Lu JK. 2003. The luteinizing hormone surge is preceded by an estrogen-induced increase of hypothalamic progesterone in ovariectomized and adrenalectomized rats. *Neuroendocrinol* 78 (1): 29-35.
- Mikkelsen JD, Jensen JB, Engelbrecht T, Mørk A. 1999. D-fenfluramine activates rat oxytocinergic and vasopressinergic neurons through different mechanisms. *Brain Res* 851 (1-2): 247-51.
- Mills RH, Sohn RK y Micevych PE. 2004. Estrogen-induced mu-opioid receptor internalization in the medial preoptic nucleus is mediated via neuropeptide Y-Y1 receptor activation in the arcuate nucleus of female rats. *J Neurosci* 24 (4): 947-55.
- Moore RY y Bloom FE. 1979. Central catecholamine neuron systems: anatomy and physiology of the norepinephrine and epinephrine systems. *Annu Rev Neurosci* 2: 113-168.
- Newman SW. 1999. The medial extended amygdala in male reproductive behavior. A node in the mammalian social behavior network. *Ann N Y Acad Sci* 29 (877): 242-57.

- Oomura Y, Yoshimatsu H, Aou S. 1983. Medial preoptic and hypothalamic neuronal activity during sexual behavior of the male monkey. *Brain Res* 266 (2): 340-3.
- Osei-Owusu P, James A, Crane J, Scrogin KE. 2005. 5-Hydroxytryptamine 1A receptors in the paraventricular nucleus of the hypothalamus mediate oxytocin and adrenocorticotropin hormone release and some behavioral components of the serotonin syndrome. *J Pharmacol Exp Ther* 313(3): 1324-1330.
- Palha AP y Esteves M. 2002. A study of the sexuality of opiate addicts. *J Sex Marital Ther* 28 (5): 427-37.
- Pan W y Kastin AJ. 2007. From MIF-1 to endomorphin: the Tyr-MIF-1 family of peptides. *Peptides* 28 (12): 2411-34.
- Pankevich D, Baum M y Cherry J. 2004. Olfactory sex discrimination persists, whereas the preference for urinary odorants from estrous females disappears in male mice after vomeronasal organ removal. *J Neurosci* 24 (42): 9451-7.
- Pankevich D, Cherry J y Baum M. 2006. Effect of vomeronasal organ removal from male mice on their preference for and neural Fos responses to female urinary. *Behav Neurosci* 120 (4): 925-936.
- Paredes R. 2003. Medial preoptic area/anterior hypothalamus and sexual motivation. *Scand J Psychol* 44 (3): 203-12.
- Paredes R. 2009. Evaluating the neurobiology of sexual reward. *ILAR J* 50 (1): 15-27.
- Paredes R, Piña A y Fernández-Ruiz J, Bermúdez-Rattoni F. 1990. Fetal brain transplants induce recovery of male sexual behavior in medial preoptic area-lesioned rats. *Brain Res* 523 (2): 331-6.
- Paredes R y Agmo, A. 1992. Facilitation of sexual behavior shortly after electrolytic lesion of the medial preoptic area: what does it mean? *Brain Res Bull* 29 (1): 125-8.
- Paredes R, Highland L y Karam P. 1993. Socio-sexual behavior in male rats after lesions of the medial preoptic area: evidence for reduced sexual motivation. *Brain Res* 618 (2): 271-6.
- Paredes R, Piña A y Bermudez-Rattoni F. 1993. Hypothalamic but not cortical grafts induce recovery of sexual behavior and connectivity in medial preoptic area-lesioned rats. *Brain Res* 620 (2): 351-5.

- Paredes R y Baum MJ. 1995. Altered sexual partner preference in male ferrets given excitotoxic lesions of the preoptic area/anterior hypothalamus. *J Neurosci* 15 (10): 6619-30.
- Paredes R, Contreras J y Agmo A. 2000. Serotonin and sexual behavior in the male rabbit. *J Neural Transm* 107 (7): 767-77.
- Paredes R y Martínez I. 2001. Naloxone blocks place preference conditioning after paced mating in female rats. *Behav Neurosci* 115 (6): 1363-7.
- Paredes R y Agmo A. 2004. Has dopamine a physiological role in the control of sexual behavior? A critical review of the evidence. *Prog Neurobiol* 73 (3): 175-226.
- Pfaus J. 2009. Pathways of sexual desire. *J Sex Med* 6 (6): 1506-33.
- Pfaus JG y Gorzalka BB. 1987. Opioids and sexual behavior. *Neurosci Biobehav Rev* 11 (1): 1-34.
- Phillips A, Vacca G y Ahn S. 2008. A top-down perspective on dopamine, motivation and memory. *Pharmacol Biochem Behav* 90 (2): 236-49.
- Phillips-Farfán BV y Fernández-Guasti A. 2009. Endocrine, neural and pharmacological aspects of sexual satiety in male rats. *Neurosci Biobehav Rev* 33 (3): 442-55.
- Powers J y Winans SS. 1975. Vomeronasal organ: critical role in mediating sexual behavior of the male hamster. *Science* 187 (4180). 961-3.
- Ramírez O y Carrer H. 1982. Effect of estrogen and progesterone priming on the uptake and release of serotonin and noradrenaline from the ventromedial hypothalamus. *Acta Physiol Lat Am* 32 (4): 313-9.
- Rizvi A, Ennis M y Shipley MT. 1992. Reciprocal connections between the medial preoptic area and the midbrain periaqueductal gray in rat: a WGA-HRP and PHA-L study. *J Comp Neurol* 315 (1): 1-15.
- Robertson GS, Pfaus JG; Atkinson LJ, Matsumura H; Phillips AG; Fibiger CF. 1991. Sexual behavior increases c-fos expression in the forebrain of the male rat. *Brain Res* 564 (2): 342-7.
- Rodríguez-Manzo, G y Fernández-Guasti A. 1994. Reversal of sexual exhaustion by serotonergic and noradrenergic agents. *Behav Brain Res* 62 (2): 127-34.

Rodríguez-Manzo G, Asai M, Fernández-Guasti A. 2002. Evidence for changes in brain enkephalin contents associated to male rat sexual activity. *Behav Brain Res* 131 (1-2): 47-55.

Rodríguez-Manzo G, López-Rubalcava C, Hen R y Fernández-Guasti A. 2002. Participation of 5-HT(1B) receptors in the inhibitory actions of serotonin on masculine sexual behaviour of mice: pharmacological analysis in 5-HT(1B) receptor knockout mice. *Br J Pharmacol* 136 (8): 1127-34.

Romero-Carbente JC, Hurtazo EA, Paredes RG. 2007. Central tegmental field and sexual behavior in the male rat: effects of neurotoxic lesions. *Neuroscience* 148 (4): 887-75.

Rössler AS, Pfaus JG, Kia HK, Bernabé J, Alexandre L, Giuliano F. 2006. The melanocortin agonist, melanotan II, enhances proceptive sexual behaviors in the female rat. *Pharmacol Biochem Behav* 85 (3): 514-21.

Sachs BD y Garinello LD. 1979. Spinal pacemaker controlling sexual reflexes in male rats. *Brain Res* 17 (1): 152-8.

Sachs B y Meisel R. 1994. *The physiology of male sexual behavior*. (Vol. 2). (N. J. Knobil E, Ed.) New York: Raven Press.

Saito R y Moltz H. 1986. Copulatory behavior of sexual naive and sexually experienced male rats following removal of the vomeronasal organ. *Physiol Behav* 37(3): 507-510.

Sakurada S, Hayashi T, Yuhki M, Fujimura T, Murayama K, Yonezawa A, Sakurada C, Takeshita M, Zadina JE, Kastin AJ, Sakurada T. 2000. Differential antagonism of endomorphin-1 and endomorphin-2 spinal antinociception by naloxonazine and 3-methoxynaltrexone. *Brain Res* 881 (1): 1-8.

Scalia F y Winans SS. 1975. The differential projections of the olfactory bulb and accessory olfactory bulb in mammals. *J Comp Neurol* 161 (1): 31-55.

Schulze H y Gorzalka B. 1991. Oxytocin effects on lordosis frequency and lordosis duration following infusion into the medial pre-optic area and ventromedial hypothalamus of female rats. *Neuropeptides* 18 (2): 99-106.

Segovia S y Guillamón A. 1991. Sexual dimorphism in the vomeronasal pathway and sex differences in reproductive behaviors. *Brain Res Rev* 18: 51-74.

Segovia S y Guillamón A. 1993. Sexual dimorphism in the vomeronasal pathway and sex differences in reproductive behaviors. *Brain Res Brain Res Rev* 18 (1): 51-74.

- Shadiack A, Sharma S, Earle D, Spana C y Hallam T. 2007. Melanocortins in the treatment of male and female sexual dysfunction. *Curr Top Med Chem* 7 (11): 1137-44.
- Shammah-Lagnado SJ, Beltramino CA, McDonald AJ, Miselis RR, Yang M, de Olmos J, Heimer L y Alheid GF. 2000. Supracapsular bed nucleus of the stria terminalis contains central and medial extended amygdala elements: evidence from anterograde and retrograde tracing experimental in the rat. *J Comp Neurol* 422 (4): 533-55.
- Shishkina G, Kalinina T, Sournina N y Dygalo N. 2001. Effects of antisense to the (alpha)2A-adrenoceptors administered into the region of the locus ceruleus on behaviors in plus-maze and sexual behavior tests in sham-operated and castrated male rats. *J Neurosci* 21 (2): 726-31.
- Simerly R y Swanson LW. 1986. The organization of neural inputs to the medial preoptic nucleus of the rat. *J Comp Neurol* 246 (3): 312-42.
- Simerly R y Swanson LW. 1988. Projections of the medial preoptic nucleus: a Phaseolus vulgaris leucoagglutinin anterograde tract-tracing study in the rat. *J Comp Neurol* 270 (2): 209-42.
- Simerly R. 1998. Organization and regulation of sexually dimorphic neuroendocrine pathways. *Behav Brain Res* 92: 195-203.
- Sinchak K, Micevych P. 2003. Visualizing activation of opioid circuits by internalization of G protein-coupled receptors. *Mol Neurobiol* 27 (2): 197-202.
- Sinchak K, Micevych P. 2001. Progesterone blockade of estrogen activation of mu-opioid receptors regulates reproductive behavior. *J Neurosci* 21 (15): 5723-9.
- Smoch T, Arnold S, Emerson P, Garritano J, Burrows K, Derber W, Sanson C, Marrs K y Weatherl H. 1992. A peptidergic circuit for reproductive behavior. *Brain Res* 598 (1-2): 138-42.
- Stark P, Alpern HP, Fuhrer MG, Trowbridge H, Wimbish H y Smock T. 1998. The medial amygdaloid nucleus modifies social behavior in male rats. *Physiol Behav* 63 (2): 253-259.
- Succu S, Mascia M, Sanna F, Melis T, Argiolas A y Melis, M. 2006. The cannabinoid CB1 receptor antagonist SR 141716A induces penile erection by increasing extra-cellular glutamic acid in the paraventricular nucleus of male rats. *Behav Brain Res* 169 (2): 274-81.

- Swaney W y Keverne EB. 2009. The evolution of pheromonal communication. *Behav Brain Res* 200:239-247.
- Swann, J y Fiber JM. 1997. Sex differences in function of a pheromonally stimulated pathway. role of steroids and the main olfactory system. *Brain Res Bull* 44 (4): 409-413.
- Szechtman H, Caggiula AR y Wulkan D. 1978. Preoptic knife cuts and sexual behavior in male rats. *Brain Res* 150 (3): 569-95.
- Szechtman H, Hershkowitz M y Simantov R. 1981. Sexual behavior decreases pain sensitivity and stimulated endogenous opioids in male rats. *Eur J Pharmacol* 70 (3): 279-85.
- Takemori AE y Portoghese PS. 1984. Comparative antagonism by naltrexone and naloxone of mu, kappa, and delta agonists. *Eur J Pharmacol* 104 (1-2): 101-4.
- Taylor J y Keverne EB. 1991. Accessory olfactory learning. *Biol Cybern* 64 (4): 301-305.
- Tseng LF, Narita M, Suganuma C, Mizoguchi H, Ohsawa M Kampine L y Nagase JP. 2000. Differential antinociceptive effects of endomorphin-1 and endomorphin-2 in the mouse. *J Pharmacol Exp Ther* 292 (2): 576-83.
- Vaccarino AL y Kastin AJ. 2001. Endogenous opiates: 2000. *Peptides* 22 (12): 2257-328.
- Valcourt R y Sachs RD. 1979. Penile reflexes and copulatory behavior in rats following lesions lesions in the bed nucleus of the stria terminalis. *Brain Res Bull* 4 (1): 131-3.
- van Ahlen H, Piechota HJ, Kias HJ, Brennemann W y Klingmüller D. 1995. Opiate antagonists in erectile dysfunction: a possible new treatment option? Results of a pilot study with naltrexone *Eur Urol* 28 (3): 246-50.
- van Furth WR, G Wolterink y van Ree JM. 1995. Regulation of masculine sexual behavior: involvement of brain opioids and dopamine. *Brain Res Brain Res Rev* 21 (2): 162-84.
- van Furth WR, van Emst MG y van Ree JM. 1995. Opioids and sexual behavior of male rats: involvement of the medial preoptic area. *Behav Neurosci* 109 (1): 123-34.
- vanFurth WR y vanRee JM. 1996. Sexual motivation: involvement of endogenous opioids in the ventral tegmental area. *Brain Res* 729 (1): 20-8.
- Vathy I, y Etgen A. 1989. Hormonal Activation of Female Sexual Behavior is Accompanied by Hypothalamic Norepinephrine Release. *J Neuroendocrinol* 1 (5): 383-8.

- Veening JG y Coolen LM. 1998. Neural activation following sexual behavior in the male and female rat brain. *Behav Brain Res* 92: 181-193.
- Veening JG y Coolen LM. 2005. Do similar neural systems subserve aggressive and sexual behaviour in male rats? Insights from c-Fos and pharmacological studies. *Eur J Pharmacol* 526 (1-3): 226-39.
- Waldinger MD, Berendsen HH, Blok BF, Olivier B y Holstege G. 1998. Premature ejaculation and serotonergic antidepressants-induced delayed ejaculation: the involvement of the serotonergic system. *Behav Brain Res* 92(2): 111-8.
- Waldinger MD, Hengeveld, MV, Zwinderman AH y Olivier B. 1998. Effect of SSRI antidepressants on ejaculation: a double-blind, randomized, placebo-controlled study with fluoxetine, fluvoxamine, paroxetine, and sertraline. *J Clin Psychopharmacol* 18(4): 274-81.
- Waldhoer M, Fong J, Jones RM, Lunzer MM, Sharma SK, Kostenis E, Portoghesi PS y Whistler JL. 2005. A heterodimer-selective agonist shows in Vitro relevance of G proteina-coupled receptor dimers. *Proc Natl Acad Sci USA* 102(25): 9050-5.
- Weller L y Smith DA. 1982. Afferent connections to the bed nucleus of the stria terminalis. *Brain Res* 232 (2): 255-70.
- Yeh K, Pu H, Wu C, Tai M y Tsai Y. 2009. Different subregions of the medial preoptic area are separately involved in the regulation of copulation and sexual incentive motivation in male rats: a behavioral and morphological study. *Behav Brain Res* 205 (1): 219-25.
- Zadina JE, Hackler L, Ge LJ y Kastin AJ. 1997. A potent and selective endogenous agonist for the mu-opiate receptor. *Nature* 386 (6624): 499-502.
- Zadina JE. 2002. Isolation and distribution of endomorphins in the central nervous system. *Jpn J Pharmacol* 89 (3): 203-8.
- Zhang S, Tong Y, Tian M, Dehaven RN, Cortesburgos L, Mansson E, Simonin F, Kieffer B, Yu L. 1998. Dynorphin A as a potential endogenous ligand for four members of the opioid receptor gene family. *J Pharmacol Exp Ther* 286 (1): 136-41.