

11261
Cej
17

EL PAPEL DE LAS ENCEFALINAS EN LA CONDUCTA
COPULATORIA DE LA RATA MACHO

RAUL GERARDO PAREDES GUERRERO

TRABAJO DE TESIS MAESTRIA EN FISIOLOGIA

CIENCIAS BIOMEDICAS

UNAM

FALLA DE ORIGEN

1987



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.

INDICE

GENERAL.....	1
INTRODUCCION.....	3
<u>CAPITULO I. GENERALIDADES SOBRE LOS DREACECOS ENDRAECOS</u>	
I. I Presumiones.....	6
I. II Anatomia de los sistemas opceados.....	7
I. III Receptores a opceados.....	8
I. III. I Anatomia de los receptores a opceados.....	10
<u>CAPITULO II. ALGUNAS FUNCIONES DE LOS DREACECOS</u>	
II. I Efectos fisiologicos generales.....	13
II. II Estrés y Analgesia.....	14
II. III Aprendizaje y memoria.....	15
II. IV Alimentacion inducida por opceados.....	16
II. V Epilepsia.....	16
II. VI Actividad locomotora.....	17
<u>CAPITULO III. DREACECOS Y CONDUCTA SEXUAL</u>	
III. I Evidencias indirectas.....	18
III. II Evidencias directas.....	20
<u>CAPITULO IV. TRABAJO DE INVESTIGACION</u>	
IV. I Planteamiento del problema.....	27
IV. II Metodo general.....	28
IV. II. I Conducta sexual.....	28
IV. II. II Ejecucion motora.....	30
IV. II. III Drogas.....	31
IV. III Tratamiento estadistico.....	32
IV. IV <u>EXPERIMENTO 1</u>	34
IV. IV. I Resultados y discusion.....	34
IV. V <u>EXPERIMENTO 2</u>	40
IV. V. I Resultados y discusion.....	40
IV. VI <u>EXPERIMENTO 3</u>	54
IV. VI. I Resultados y discusion.....	55
<u>CAPITULO V. CONCLUSIONES</u>	70
REFERENCIAS.....	74

Resumen

A pesar de la gran cantidad de estudios realizados en los últimos años, la existencia de resultados contradictorios no ha permitido elaborar una hipótesis satisfactoria sobre el papel de los sistemas opioides en el control de la conducta sexual. Así, en el presente trabajo se investigó en detalle el efecto de naloxona, morfina y DALA en la conducta sexual de la rata macho.

Naloxona en dosis de 4 y 16 mg/kg, administrada 15 minutos antes de la prueba, no afectó la conducta copulatoria. La administración de morfina 10 mg/kg 60 minutos antes de la observación redujo la proporción de animales que desarrollaron la conducta sexual. Dosis de 2.5 y 5 mg/kg reducen la latencia para la segunda eyaculación, mientras que los pocos animales que copularon después de 10 mg/kg de morfina mostraron una menor latencia para la primera eyaculación. Esto podría indicar que morfina reduce la facilidad con la que la conducta sexual es activada, pero una vez que esta ocurre la conducta se ve facilitada. Las mismas dosis de morfina administradas 5 minutos antes de la observación redujeron el porcentaje de montas, intromisiones y eyaculaciones. Sin embargo los animales que copularon mostraron un patrón de conducta sexual normal. La inyección intracerebroventricular de D-ala-2-met-5-enkefalinamida (DALA) en dosis de 5 μ g 5 o 60 minutos antes de la prueba no tuvo efectos sobre los parámetros de la conducta sexual. Cuando se inyectó el péptido 30 segundos después de la primera intromisión, se redujo tanto el número de intromisiones como la latencia para eyacular.

Estos datos sugieren que los opáceos pueden facilitar los mecanismos eyaculatorios, probablemente como consecuencia de sus propiedades reforzantes. Datos obtenidos en el presente estudio muestran que, en los animales tratados con DALA después de la primera intromisión el número de intromisiones y la latencia de eyaculación fueron similares tanto en la primera como en la

segunda serie copulatoria; mientras que estos parámetros se redujeron en la segunda eyaculación de los animales control. Es posible que la liberación de opéacos endógenos facilite la conducta sexual subsecuente a la eyaculación.

Introducción.

Desde hace muchos años los opeáceos han sido de gran interés para el hombre no sólo por su ampliamente documentado efecto analgésico sino también por las experiencias placenteras asociadas con su uso. Al parecer una efecto en común descrito por los usuarios de este tipo de drogas incluye una euforia muy intensa aunque breve, seguida por un periodo de relajación, sedación y sensación de bienestar (Mirin y col. 1980). Estas sensaciones se han equiparado con el orgasmo sexual y su descripción data desde finales del siglo XIX y principios del siglo XX (Becker 1903; Kaan 1891). Estas propiedades hicieron que los opeáceos fuesen considerados como afrodisíacos; sin embargo, la administración prolongada de opeáceos puede producir un deterioro de la función sexual. Este deterioro es progresivo; siendo los primeros síntomas la desaparición de sueños con contenido sexual y la desaparición de erecciones espontáneas. Posteriormente puede observarse retardo en la eyaculación, disminución del volumen eyaculado, anorgasmia, impotencia y en algunos casos infertilidad (Pfaus y Gorzalka 1987). Tanto en hombres como en mujeres hay desinterés en la actividad sexual y son incapaces de llegar al orgasmo, aún en hombres capaces de mantener una erección prolongada. Además, si la dosis es suficientemente alta puede desarrollarse una incapacidad sexual total. Por otro lado, al suspender el uso de opeáceos hay una recuperación progresiva caracterizada por la aparición de sueños relacionados con temas sexuales, aumento en la frecuencia de erecciones y emisiones espontáneas, hasta la reaparición del deseo sexual y la capacidad de llegar al orgasmo. (Pfaus y Gorzalka 1987; y referencias ahí citadas). La reaparición de estos síntomas puede facilitarse con el tratamiento de naloxona y naltrexona, antagonistas específicos de los opeáceos (Hollister

1975). Además la administración de estos antagonistas en sujetos no adictos parece tener efectos importantes. Recientemente se demostró que al administrar naloxona (20 mg), en individuos no adictos, aumenta la latencia de eyaculación al igual que el número de contracciones anales durante esta, comparados con un grupo control (Graber y col. 1984). Del mismo modo, la administración de naloxona (1 mg/kg) y naltrexona (50 mg/kg) inducen erecciones espontáneas y duraderas en sujetos no adictos (Mendelson y col. 1979; 1980). En cuanto a la actividad de los opiáceos endógenos, Whipple y Komisaruk (1985) demostraron que la estimulación vaginal hasta el orgasmo en mujeres, aumenta significativamente el umbral al dolor; lo que sugiere un componente opioide endógeno en la conducta sexual humana puesto que es ampliamente conocido el papel de los opiáceos en el dolor.

A pesar de que los efectos de los opiáceos han interesado al hombre desde hace muchos años, no fue sino hasta después de la identificación de la existencia de opiáceos endógenos por Hughes y col. (1975), cuando se empezó a estudiar en el laboratorio de manera sistemática el posible papel de los opiáceos en la conducta sexual (Gessa y col. 1979; McIntosh y col. 1980; Meyerson y Terenius 1977; Mumford y Kumar 1977; Pellegrini y col. 1978). A partir de entonces la literatura en este campo ha aumentado de manera importante (esto se discutirá ampliamente en el capítulo III). Sin embargo, la existencia de estudios contradictorios (McIntosh y col. 1980; Myers y Baum 1979; Pellegrini y col. 1979) no ha permitido obtener un panorama claro sobre el posible papel de los opiáceos endógenos en el control de la conducta sexual.

A diferencia de otros trabajos, donde se observó el efecto de opiáceos 5 min o 30 min después de su administración, en la presente investigación se decidió estudiar el efecto de la morfina y de D-ala-2-met-5-encefalina (DALA) en la conducta sexual de la rata macho aplicados a diferentes intervalos previos

a la observación conductual. La morfina es el principal representante de los opéáceos, también llamados narcóticos (que incluyen a los alcaloides derivados del opio); mientras que DALA es un análogo sintético de las encefalinas, uno de los opéáceos endógenos derivado de las proencefalinas y que se describen en el primer capítulo.

Capítulo I. Generalidades sobre los opéáceos endógenos

I.1 Precursores

A partir de las primeras identificaciones a mediados de los años setentas de péptidos cerebrales con actividad similar a los opéáceos (Hughes 1975; Huges y col. 1975; Terenius y Walhstrom 1975) se describieron una serie de compuestos con características similares. Sin embargo, no fue sino hasta el principio de la década de los ochentas, utilizando técnicas de recombinación de ADN, estudios inmunocitoquímicos, bioquímicos y de biología molecular que fue posible identificar la estructura de 3 precursores que dan origen a los opéáceos endógenos hasta hoy descritos (Akil y col. 1984; Khachaturian y col. 1983):

1. Pro-opiomelanocortina (POMC):

Los derivados del POMC incluyen a las hormonas adrenocorticotrofica (ACTH), la hormona estimulante del melanocito (~~α~~-MSH) y el opio β-endorfina.

2. Proencefalina:

Contiene en su estructura 7 péptidos que incluyen: Ieu-encefalina, met-encefalina, met-encefalina-Arg-Phe, met-encefalina-Arg-Gly-Leu, y varios péptidos grandes (Bam-22p, péptidos E y F).

3. Prodinorfina (pro-neoendorfina-dinorfina):

Contiene varios péptidos activos que incluyen dinorfina A, dinorfina B y o B neoendorfina.

Citocrofinas y Hemorfinas

Recientemente se ha descrito in vitro la existencia de citocrofinas, péptidos opioides derivados del citocromo mitocondrial (Erantl y col. 1985) y de hemorfinas, derivados de la hemoglobina (Erantl y col. 1986). Sin embargo, es necesario

conocer si estos 2 tipos de péptidos opioides se encuentran de la misma manera in vivo.

1.11 Anatomía de los sistemas opioides:

POMC: Existen dos grupos celulares distintos en el cerebro que contienen péptidos opéicos derivados de POMC. El primero está localizado en el núcleo arqueado del hipotálamo medio basal con proyecciones a través de áreas diencefálicas y telencefálicas innervando estructuras límbicas e hipotalámicas que incluyen el área preóptica y septum. Proyecciones dorso-caudales del arqueado innervan áreas asociadas con nocicepción y de integración sensorial como son el tálamo periventricular y la sustancia gris periacueductal. Otras proyecciones caudales innervan distintas áreas de la formación reticular como el núcleo reticular gigantocelular y el magno del rafe. El segundo grupo celular que contiene derivados de POMC se encuentra en el núcleo caudal del tracto solitario y el núcleo comisural. En cuanto a este grupo celular sus proyecciones no están claramente descritas. El POMC también es sintetizado en la pituitaria.

Proencefalina: Péptidos derivados de proencefalina se encuentran en la médula adrenal, el tracto gastrointestinal y ampliamente distribuidos en todos los niveles del neuroeje. Se han encontrado células encefalinérgicas en varias regiones del telencefalo que incluyen la corteza cerebral, tubérculo olfatorio, amígdala, hipocampo, estriado, septum y el área preóptica. En el diencefalo se han encontrado células encefalinérgicas en la mayoría de los núcleos del tálamo, mientras que en el cerebro medio se han localizado en los colículos y sustancia gris periacueductal. En el bulbo y la médula se han detectado células encefalinérgicas en los núcleos vestibulares, rafe, gigantocelulares, del tracto solitario y sustancia gris dorsal de la médula espinal. Aunque las proyecciones no se han identificado claramente es de esperarse

que estos sistemas estén asociados con diferentes funciones como son dolor, acciones endocrinas, motoras y límbicas entre otras.

Prodinorfina: Se encuentra en el intestino, pituitaria posterior y varias partes de la corteza cerebral así como en el estriado, amígdala hipocampo y varios núcleos hipotalámicos, además de varias partes del tronco cerebral como el núcleo del tracto solitario, núcleo lateral reticular y raíz dorsal de la médula. Es importante hacer notar que tanto la dinorfina como la prodinorfina están en algunos casos anatómicamente relacionadas, lo que permite suponer que ambas estén involucradas en el control de diferentes funciones del CNS.

Una descripción más detallada sobre la anatomía de los 3 sistemas de opéáceos previamente descritos se encuentra en Akil y col. 1984 y Khachaturian y col. 1985 (y las referencias citadas en estos estudios).

I.III Receptores a opéáceos:

Debido a la existencia de gran cantidad de opéáceos endógenos no es sorprendente que existan varios receptores para estos ligandos. Así, se ha descrito la existencia de cuando menos 5 distintos tipos de receptores para opéáceos (Akil y col. 1984; Lord y col. 1977; Moskowitz y Goodman 1985 a y b; Wuster y col. 1979) y la existencia de dos subtipos al menos para dos de ellos (Iyengar y col. 1986; Pasternak y col. 1980; Zhang y Pasternak 1980). Los 5 receptores caracterizados hasta el momento son:

- δ -Delta (receptor de encefalinas)
- ϵ -Epsilon (receptor beta-endorfina)
- κ -Kappa (receptor ketociclazocin) 2 subtipos
- μ -Mu (receptor morfina) Mu-1 y Mu-2
- σ -Sigma (receptor SKF-10047)

En cuanto a los receptores μ Pasternak y col. (1980) y

Zhang y Pasternak (1980) han descrito la existencia de sitios a los que llamaron mu-1, con alta afinidad para los opáceos y opáceos alcaloides, y mu-2, que tienen mayor afinidad para los opáceos alcaloides que para otro tipo de opáceos. De manera similar, recientemente se ha descrito la existencia de cuando menos 2 subtipos de receptores kappa (Iyengar y col. 1986).

Debido a la complejidad anatómica de los sistemas de opáceos y a la gran variedad de ligandos endógenos existentes no se conoce del todo la relación farmacológica entre los péptidos opáceos y los diferentes tipos de receptores. Sin embargo, según Akil y col. (1984) y Khachaturian y col. (1985) es posible observar algunas generalizaciones. De acuerdo a estos autores los péptidos derivados de las proencefalinas muestran actividad delta en diferentes grados; así por ejemplo, mientras que leu-encefalina es primordialmente delta, el octapéptido met-enkefalina-8 parece tener la misma afinidad por los receptores mu y delta. En contraste, las dinorfinas y neo-endorfinas muestran preferencia por los receptores kappa, pero la dinorfina A(1-8) tienen capacidad delta, mientras que la dinorfina A(1-13) es muy potente tanto para los receptores kappa como para los receptores mu. Por otro lado, la beta-endorfina es muy potente tanto para los receptores mu como para los delta teniendo ligera preferencia por los delta. Los datos están resumidos en el cuadro 1.

Precursores	Derivados	Afinidad por receptor
B/END/ACTH (Pro-opiomelanocortina)	B-endorfina	$\mu\delta$
Proencefalina	Met-encefalina	δ
	Leu-encefalina	δ
	Met-encefalina-O	$\mu\delta$
	Met-encefalina-Arg-Phe	δ
	Péptido E	δ
Prodinorfina	α -neo-endorfina	κ
	β -neo-endorfina	κ
	Dinorfina A(1-8)	$\kappa\delta$
	Dinorfina A(1-17)	$\kappa\mu$
	Dinorfina B(1-13)	κ

Cuadro 1. Péptidos opioides y afinidad predominante por los receptores (Adaptada de Akil y col. 1984).

I.III.1 Anatomía de los receptores opioideos:

Estudios autoradiográficos han demostrado que sitios de unión de receptores μ predominan en varios núcleos hipotalámicos y talámicos; la sustancia gris periacueductal, colículos inferiores y los núcleos medios del rafe. Por otro lado, los sitios de unión a receptores δ parecen ser mayores en la amígdala, núcleo accumbens y tubérculo olfatorio (Goodman y col. 1980). En lo que a la corteza cerebral se refiere los sitios μ son más densos en

la corteza límbica mientras que los delta parecen mostrar una distribución más uniforme (Lewis y col. 1983). En el caudado-putamen los sitios mu muestran una distribución en forma de parche mientras que los delta presentan una distribución difusa (Goodman y col. 1980). De manera similar Fields y col (1980) describieron la existencia de sitios de unión mu y delta en la corteza dorsal de la médula espinal con una proporción relativamente mayor de sitios mu. En un trabajo reciente McLean y col. (1986) describieron la existencia de sitios de unión del receptor mu en prácticamente todas las estructuras que contienen materia gris donde muestran patrones heterogéneos de densidad. Sitios de mayor densidad de receptores mu fueron detectados en parches estriatales. En contraste, sitios delta presentaron patrones distintos a los mu estando la corteza y el estriado densamente marcados. Los mismos autores encontraron que ambos receptores fueron levemente marcados en el septum, globo pálido y el área preóptica; mientras que el tálamo presentó mayor densidad de receptores mu que de receptores delta.

La falta de agonistas y antagonistas con alta selectividad para los diferentes tipos de receptores de opéáceos no ha permitido obtener un panorama claro sobre su localización anatómica y las posibles funciones en que estos se involucran. Para una descripción más detallada sobre la localización de los diferentes receptores de opéáceos se recomienda al lector interesado consultar los trabajos mencionados previamente y las referencias que estos incluyen.

En cuanto a las funciones en que pueden estar involucrados los diferentes receptores a opéáceos, solo el desarrollo de sustancias con alta especificidad permitirán una mejor comprensión sobre los aspectos funcionales de estos receptores. Aunque existen algunos datos, no del todo concluyentes, puede considerarse que en lo que a este campo se refiere el estudio apenas comienza. Puede mencionarse como ejemplo que la

administración del agonista del receptor delta ICI 151,129 disminuye el comportamiento social y la latencia de ataque en ratas (Benton y col. 1984). Este mismo receptor parece ser el único receptor de opéáceos presente en el vaso deferente del hamster (McKnight y col. 1985). Por otro lado, los mecanismos fisiológicos de los receptores de opéáceos parecen ser distintos cuando menos en la inhibición de la liberación de Ach en el conejillo de Indias. Mientras que la inhibición presináptica causada por los receptores mu se debe a un aumento en la conductancia al potasio, el receptor kappa parece actuar disminuyendo la entrada de calcio en la terminal nerviosa (Cherubini y North 1985).

En el próximo capítulo se discutirán algunos efectos de los opéáceos endógenos y se mencionarán en su oportunidad estudios sobre diferencias funcionales de los receptores a opéáceos.

Capítulo II. Algunas funciones de los opioáceos.

El interés que existe por los opioáceos endógenos puede observarse claramente en la gran cantidad de publicaciones sobre la actividad de estos péptidos. Basta mencionar como ejemplo las revisiones anuales de Olson y col. (A partir de 1978, en Peptides) donde citan 250 trabajos en promedio por año. A partir de 1984 se limitan a revisar los efectos conductuales y no analgésicos debido a la gran cantidad de estudios publicados sobre los diferentes efectos de los opioáceos. Tomando en consideración lo anterior, el presente capítulo no pretende ser una revisión exhaustiva de los efectos de los opioáceos, sino simplemente dar un panorama general de la importancia de estos péptidos y de las funciones en que pueden estar involucrados.

II.1 Efectos fisiológicos generales:

Al parecer la temperatura corporal se encuentra influenciada por opioáceos. La administración de E-endorfina y encefalinas produce hipotermia (Martín y Bascio 1979; Tseng y col. 1980). Además del efecto bifásico bien conocido de la morfina la dosis juega un papel importante en la termoregulación. Una dosis baja de morfina produce hipotermia mientras que una dosis alta produce hipotermia, siendo en ambos casos el efecto reversible por naloxona (Geller y col. 1983).

Es bien conocido que los opioáceos exógenos como la morfina suprimen la respiración y que la causa principal de muerte por una sobredosis es la depresión respiratoria (Olson y col. 1984). Por lo que no es de sorprender que met-enkefalina y algunos análogos de las encefalinas supriman la respiración de igual manera o con mayor fuerza que la morfina (Faden y Feuerstein 1983; Paxos y Flores 1983).

La función cardiovascular también se ve influenciada por la

administración de opiáceos. Los agonistas de los opiáceos aumentan la presión arterial y la frecuencia cardíaca en animales conscientes pero las disminuyen en animales anestesiados (Byrd 1983; Olson y col. 1984). Estos efectos mixtos se observan también dependiendo de si la administración es central o periférica, del tipo de receptor para el que la sustancia administrada tenga mayor afinidad y del sitio de inyección cerebral (Akil y col. 1984).

II.II Stress y Analgesia

Los choques a las patas parece ser el estresor más estudiado y al parecer lo naturalista y el tiempo de aplicación del choque son críticos para determinar si los opiáceos están involucrados en la analgesia inducida por stress (Olson y col. 1984). Así por ejemplo, choques repetidos intermitentemente parecen producir analgesia por opiáceos (Coderre y Rollman 1983; Maier y col. 1983) mientras que choques breves producen analgesia no mediada por opiáceos (Terman y col. 1983). Aun más, se ha demostrado que un mismo estresor puede producir ambos tipos de analgesia, dependiendo de la parte del cuerpo donde se administren los choques eléctricos (Watkins y col. 1982). Por otro lado, la fatiga producida por el ejercicio afecta los niveles de B-endorfina y leu-encefalina aumentándolos tanto en el acumbens como en el área ventral tegmental, sugiriendo que el ejercicio agudo es lo suficientemente estresante para influir a los opiáceos endógenos (Blake y col. 1983). Del mismo modo se ha demostrado que el ejercicio aumenta la cantidad de B-endorfina periférica y que el stress producido al nadar un tiempo prolongado facilita la unión a receptores de opiáceos en el cerebro de la rata (Sforzo y col. 1984). Asimismo se ha postulado que la activación de los opiáceos endógenos durante el ejercicio regula la secreción de varias hormonas (Farrel y col. 1986).

Es evidente que la función más fácilmente asociada con los

opeáceos y en particular con las endorfinas es el control del dolor. Numerosas descripciones detalladas sobre el particular se encuentran en varias fuentes. Algunos ejemplos pueden consultarse en las revisiones de Akil y col. 1984; Bloom y col. 1979; Olson y col. 1979, 1980; Terenius 1978.

II. III Aprendizaje y memoria:

Los primeros estudios que involucraron a los opeáceos en funciones relacionadas con la memoria se realizaron a mediados de la década de los setentas. Así, por ejemplo se observó que la administración de encefalina y morfina facilita el aprendizaje de un laberinto en ratas, recorriendo con menor número de errores y en menor tiempo el laberinto que los animales control (Maskin y col. 1976). Del mismo modo se observó que B-endorfina y met-encefalina retrasan la extinción en condicionamientos de evitación (DeWied y col. 1978). Posteriormente, el descubrimiento de receptores a opeáceos en el hipocampo aportó evidencia anatómica sobre la posibilidad de que los opeáceos estuviesen involucrados en procesos relacionados con la memoria (Fry y col. 1979; Olson y col. 1979). Otra serie de estudios han demostrado que la administración periférica de agonistas de opeáceos inhiben la adquisición de tareas aversivas de condicionamiento clásico (Schinder y col. 1983).

II. IV Alimentación inducida por opeáceos:

A partir de las primeras observaciones de que B-endorfina estimula el consumo de alimentos cuando se inyecta en el hipotálamo ventral (Grandison y Guidotti 1977) se despertó gran interés sobre el papel modulador de los opeáceos en conductas consumatorias. Al parecer, los agonistas de los opeáceos como morfina, DALA, dinorfina y butorfanol inician o aumentan el consumo de alimentos mientras que antagonistas como naloxona y naltrexona lo suprimen (Bellinger y Williams 1983; Kirkham y

Blundell 1987). En lo que al consumo de agua se refiere los efectos no parecen ser tan claros (Olson y col. 1984). Al parecer más de un tipo de receptor para opéáceos está involucrado en el consumo de alimentos. Agonistas selectivos de los receptores kappa, mu y delta estimulan tanto el consumo de agua como de comida (Gosnell y col. 1986; a y b). Además parecen existir áreas cerebrales sensibles para incrementar la ingesta. Por ejemplo, inyecciones de naloxona en los núcleos hipotálámicos ventromedial o paraventricular así como del globo pálido disminuyen el consumo de alimento mientras que la inyección de naloxona en el estriado o el hipotálamo lateral carece de efecto (Gosnell y col. 1986, b).

II.V Epilepsia:

Otro de los aspectos estudiados sobre los opéáceos ha sido el posible papel de estos péptidos en los mecanismos de epilepsia. Así, la administración de morfina, met-enkefalina, leu-enkefalina y B-endorfina produce actividad epiléptica electroencefalográfica y convulsiones (Frank 1983; Lee y col. 1983). Sin embargo, existen estudios que demuestran que los opéáceos disminuyen las crisis producidas experimentalmente (Adler 1976; Foote y Gale 1983). Estos efectos opuestos parecen deberse a diferencias en el diseño experimental, la especie en estudio y los parámetros medidos (Schwark y col. 1986). También se ha utilizado el modelo de epilepsia experimental "kindling" que produce una susceptibilidad permanente a la epilepsia por la estimulación crónica de regiones cerebrales (Goddard y col. 1969). Utilizando esta técnica se ha descrito que los niveles de enkefalina se alteran en regiones cerebrales específicas de ratas kindleadas (Vindrola y col. 1981) y que naloxona facilita el kindling amigdalino en la rata (Hardy y col. 1980). Recientemente se ha demostrado que diferentes opéáceos pueden afectar de manera distinta los diversos parámetros del kindling amigdalino cuando son administrados en dosis usadas en la clínica por su efecto

analgésico (Schwark y col 1986).

II.VI Actividad locomotora:

La administración sistémica de morfina tiene un efecto bifásico en la motilidad de la rata produciendo en un principio depresión seguida por estimulación (Babbini y Davis 1972; Oka y Hosoya 1977; Emee y Darcinrest 1976). Un efecto similar al de la morfina se obtiene por la administración de DALA (Brady y Holtzman 1981; Harston y col. 1980). En contraste, naloxona reduce la actividad locomotriz tanto en ratas como en ratones (Castellano y Puglisi-Allegra 1982; Holtzman 1974; Walker y col. 1981). Por otro lado se ha sugerido que la depresión locomotriz y la catalepsia pueden estar mediados por receptores tipo mu en el núcleo accumbens, mientras que la estimulación motora se debe a una acción sobre los receptores delta (Bayewann y Kuschinsky 1985). Aun más, la administración de DALA en combinación con agonistas de dopamina ha planteado la posibilidad de que los opéáceos inhiben la transmisión GABAérgica, lo que facilita a su vez la transmisión dopaminérgica, produciendo mayor actividad locomotriz que cuando se aplican agonistas de dopamina por si solos (Agno y DeAvila 1985).

Los efectos de los opéáceos sobre la conducta sexual se discutirán ampliamente en el próximo capítulo.

Capítulo III Opiáceos y conducta sexual

Como se describió anteriormente el interés por el estudio de la acción de los opiáceos en la conducta sexual se origina por los efectos eufóricos y placenteros que estos producen. Así, los opiáceos fueron estudiados originalmente en perros, ratones, ratas, conejos, mones y chimpancés, donde se demostró que inducían síntomas comunes a los observados en humanos (Pfau y Gonzalez 1987). En la actualidad el estudio de los opiáceos en la copulación se ha enfocado en las ratas probablemente por las ventajas que esta especie ofrece como animal de laboratorio.

En el presente capítulo se revisarán evidencias "directas" e "indirectas" que involucran a los opiáceos en la conducta sexual. Por evidencias "indirectas" se entenderán aquellos estudios en los que no se manipulan de manera directa los niveles de opiáceos con agonistas o antagonistas. Las evidencias "directas" se revisarán en la segunda parte del capítulo y constituyen estudios donde se aplican opiáceos y se observa su efecto en la conducta sexual.

III.1 Evidencias indirectas:

Existen por el momento 3 líneas de investigación que sugieren que la actividad sexual en las ratas y el hombre aumenta la actividad de los opiáceos endógenos.

La primera se refiere a los estudios realizados por Szuchman y col. (1981) en los que demostró que la actividad sexual induce analgesia en ratas macho progresivamente. Aplicaba choques eléctricos para medir vocalizaciones o pellizcaba la pata para medir el retiro de esta cuando los animales copulaban con una hembra receptiva. Los animales control recibían el mismo número de choques que los experimentales pero no tenían acceso a la hembra receptiva. Los machos que copularon vocalizaron menos

cuando se aplicaban los choques durante o inmediatamente antes de la eyaculación; mientras que los animales control vocalizaron con mayor frecuencia a lo largo de toda la prueba. En otro grupo de animales se midió el retiro de la pata después de la tercera eyaculación o dos intromisiones después de esta ya comparación con animales control (sin acceso a hembra). Los resultados demuestran que en las ratas que copularon fue necesario aplicar mayor fuerza en la pata para producir el retiro que en los animales control.

La segunda línea de investigación se deriva también de los estudios de Szechtman y col. (1981) en los cuales se examinaron los niveles de opéáceos en el cerebro medio, el caudado y el hipotálamo en ratas que habían tenido actividad sexual por 30 y 120 minutos. No encontraron diferencias en el contenido de opéáceos en animales con 30 minutos de actividad sexual comparados con el control. Sin embargo, el contenido de opéáceos estaba disminuido significativamente en el cerebro medio en animales con 120 minutos de copulación, comparados con el control, indicando una posible inhibición de la síntesis de opéáceos o bien una disminución por incremento en el recambio o el metabolismo. En base a estos resultados los autores concluyen que la actividad sexual es un estímulo biológico para la liberación de opéáceos endógenos que previene que la estimulación sexual intensa se vuelva aversiva y para aumentar su valor reforzante. De manera similar Murphy y col. (1979) han demostrado que los niveles de E-endorfina en plasma aumentan aproximadamente 80 veces después de la quinta eyaculación comparados con los animales control. También encontraron niveles significativamente más altos de E-endorfina en hamsters después de una intromisión comparados con los controles.

El tercer tipo de evidencias indirectas lo constituyen los estudios realizados por Komisaruk y Wallman (1977) y Steinman y col. (1983) en los que la estimulación cervical de la rata hembra

produce analgesia. En este tipo de estudios se aplica una fuerza (aprox. 800g) sobre el cérvix de la rata con el émbolo de una jeringa y se aplican choques eléctricos en la cola del animal cuantificándose además del retiro de la cola las vocalizaciones asociadas al estímulo eléctrico. Siguiendo este método, estos investigadores han demostrado que la estimulación del cérvix bloquea el retiro de la cola, de la pata, induce inmovilización y disminuye las vocalizaciones del animal cuando se presentan los choques eléctricos. Estudios posteriores llevados a cabo por este mismo grupo de investigadores han demostrado que un proceso similar parece ocurrir en las mujeres cuando se autoestimulan la vagina con un transductor de presión. Así, la tolerancia al dolor aumenta 37% y el umbral para detectar dolor se incrementa en un 53% cuando se aplica una compresión dolorosa en el dedo de las mujeres que se autoestimulan. Aún más, cuando la autoestimulación vaginal es llevada hasta el orgasmo la tolerancia al dolor se incrementa en 106%. Los autores concluyen que en la mujer la autoestimulación vaginal disminuye la sensibilidad al dolor sin afectar las sensaciones táctiles (Whipple y Komisaruk 1985).

III. II Evidencias directas:

Las evidencias directas que involucran a los opáceos en el control de la conducta sexual pueden dividirse en tres tipos de estudios. Los primeros constituyen aquellos donde se administra morfina; los segundos se refieren a los estudios en que se administran análogos de los opáceos endógenos y los terceros están constituidos por la administración de antagonistas a opáceos.

Morfina: La administración intraperitoneal (ip) de 5 mg/kg de morfina 30 minutos antes de la observación disminuye la frecuencia de montas e intromisiones y aumenta la latencia de ambas en ratas con experiencia sexual sin retardar la actividad motora (Hetta 1977). De manera similar la administración de 5, 10

y 20 mg/kg de morfina 2.5 hrs. antes produce una reducción en la frecuencia de montas de manera dosis-dependiente. También se reducen las interacciones sociales y sexuales y el tiempo que el macho interactúa con hembras receptivas. Resultados similares se observaron al administrar 100 mg/kg de morfina durante 5 semanas (Numford y Kumar 1979). McIntosh y col. (1980) administraron intraperitonealmente (ip) diferentes dosis de morfina 30 min antes de la prueba. Aunque una dosis de 3 mg/kg no tuvo efectos en ratas con experiencia sexual, cuando la dosis fue duplicada (6 mg/kg) se produjo una inhibición completa que prácticamente eliminó todas las respuestas sexuales. Los animales tratados con morfina no mostraron dificultades locomotoras pero fueron incapaces de realizar montas. Esta inhibición se revierte al aplicar 30 mg/kg de naloxona 30 min antes de la morfina. Resultados similares han sido descritos por Efaus y Gonzalez (1987) al administrar 6 mg/kg de morfina 45 min antes de la prueba; sin embargo, la inhibición de la conducta no fue completa ni en todos los parámetros. Aún más, la latencia de eyaculación en los animales tratados con morfina fue significativamente más corta que la de los animales control. Estos efectos se revirtieron con una dosis de 10 mg/kg de naloxona 30 min antes de la morfina.

Los efectos de la administración intracerebroventricular de morfina sobre las interacciones sociales y sexuales en ratas con experiencia sexual fueron estudiados por Meyerson (1981). La frecuencia de interacciones sociales disminuyó significativamente 10 min después de la administración de morfina (2.5 y 5 ug). A los 20 min la frecuencia de montas disminuyó con una dosis de 1 ug, mientras que con 2.5 o 5 ug tanto las montas como las intromisiones disminuyeron significativamente de la misma manera que las interacciones sociales.

Por otro lado, Lieblich y col (1985) estudiaron el efecto de morfina en ratas castradas en comparación con animales intactos.

La administración de morfina tanto de 1 como de 5 mg/kg redujo la conducta sexual en animales castrados 5 min después de la inyección, mientras que estas dosis no tuvieron efecto en animales intactos.

Los operaciones espinales parecen influir también en la conducta sexual. Inyecciones intratecales de 5 μ g de morfina en la rata macho aumentan el número de intromisiones para la eyaculación comparados con el control. Ningún otro parámetro se ve afectado por las inyecciones intratecales y los efectos inhibitorios se revierten con 50 μ g de naloxona intratecal 10 min antes de la prueba (Wiesenfeld-Hallin y Sodersten 1984).

Los resultados anteriores permiten suponer que la administración de morfina inhibe la conducta sexual en la rata macho de manera dosis-dependiente sin alterar funciones motoras generales. Dosis bajas de morfina aumentan la latencia de montas e intromisiones pero disminuyen su frecuencia. Conforme la dosis aumenta se inhiben las montas, las intromisiones y las eyaculaciones. Sin embargo, tanto en los estudios de McIntosh y col (1979) como en el de Pfaus y Gorzalka (1987) la latencia de eyaculación en los animales tratados con morfina disminuye significativamente, sugiriendo a su vez una posible facilitación de esta conducta. Esta posibilidad se pretende investigar en el presente trabajo.

Por otro lado, es bien conocido que la administración de morfina tiene un efecto bifásico en conductas espontáneas como la actividad locomotora, produciendo inicialmente una inhibición seguida por una estimulación (Oka y Hosoya 1977; Schnur y col 1983; Smee y Overstreet 1976). Este efecto es particularmente evidente en dosis altas. Además la duración del efecto inhibitorio depende de la dosis y si esta es muy baja el efecto inhibitorio inicial puede estar ausente. Para dosis altas (10 mg/kg) la estimulación aparece aproximadamente a los 60 min (Harston y col. 1980). Un efecto similar de la morfina se ha

descrito para la temperatura corporal produciendo primero hipotermia y despues hipertermia (Martin y Bacino 1979; Tseng y col. 1980). En los estudios descritos con anterioridad sobre morfina y copulación los efectos inhibitorios se observaron entre los 5 y los 30 min posteriores a la aplicación de la morfina. Además, los efectos facilitatorios sobre la latencia de eyaculación se observaron cuando la morfina se aplicaba 45 min antes de la observación. Por lo tanto; en el presente trabajo se pretende investigar el efecto de morfina cubriendo la fase inicial, usualmente inhibitoria, y la fase tardía, usualmente estimuladora, administrándola a diferentes intervalos.

Opiáceos Endógenos: Los primeros estudios donde se aplicó B-endorfina intracerebroventricularmente fueron realizados por Meyerson y Terenius (1977). Demostraron que la actividad exploratoria de la rata macho disminuye despues de la infusión de una dosis de 3 ug de B-endorfina. Con una dosis de 1 ug disminuye la proporción y la frecuencia de montas y aumenta la latencia de de las mismas comparados con el control. Estos efectos se evitaban con una inyección subcutánea de naloxona 30 min antes de la infusión del péptido. Posteriormente McIntosh y col. (1980) confirmaron estos resultados al inyectar 6 ug de B-endorfina y observar una completa inhibición de la conducta copulateria. Aunque los animales mostraron conducta investigatoria anorgénital no ocurrieron montas. Al igual que en el estudio de Meyerson y Terenius (1977) los efectos de B-endorfina se revertían con un pretratamiento de naloxona (30 mg/kg). De manera similar se ha demostrado que una dosis de 5 ug de B-endorfina disminuye las actividades exploratorias y las interacciones sociosexuales. Además, en una dosis que no influye estas conductas sociales (.5 ug) se observa una inhibición en el porcentaje de montas (Meyerson 1981).

Por otro lado, Pellegrini Quarantotti y col (1978) inyectaron

DALA en el ventrículo lateral de ratas con experiencia sexual detectando un aumento significativo en la latencia de montas e intromisiones con una dosis de 3 ug. Cuando la dosis se aumenta a 6 ug se suprime completamente la conducta copulatoria sin afectar la actividad motora espontánea. Los efectos de DALA fueron revertidos por naloxona (4 mg/kg).

Estos estudios con B-endorfina y DALA han demostrado que la conducta sexual puede reducirse o abolirse con estos péptidos en dosis moderadas. La conclusión obvia fue que los opéáceos están involucrados en los procesos inhibitorios relacionados con la conducta sexual. Sin embargo, el hecho de que una droga inhiba esta conducta no significa necesariamente que actúa sobre los mecanismos que la controlan. Por ejemplo, recientemente se ha demostrado que las drogas GABAérgicas pueden inhibir la conducta sexual independientemente de sus efectos en la actividad locomotora (Agno y Paredes 1985), pero no se ha encontrado evidencia de una participación de GABA en la expresión de la conducta sexual normal (Agno y col. 1987). Lo mismo podría suceder con los péptidos opéáceos.

Los resultados anteriormente descritos (al igual que los de la morfina) se refieren a observaciones realizadas entre los 5 y los 30 min posteriores a la infusión del péptido. Puesto que los péptidos tienen el mismo efecto bifásico que la morfina (Herston y col. 1980; Havemann y Kushinski 1985; Kalivas y col. 1983) independientemente que la infusión sea en los ventrículos laterales o en estructuras cerebrales específicas, se decidió administrar DALA a diferentes intervalos antes de la observación. Además, se consideró importante administrar DALA a los animales una vez iniciada la copulación. Si los opéáceos endógenos participan en el control de la conducta sexual, es posible que se liberen durante el curso de esta. Así, una infusión intraventricular de DALA una vez iniciada la conducta reforzaría los efectos de los opéáceos liberados endógenamente.

Antagonistas: Los estudios realizados con naloxona han arrojado resultados contradictorios. Algunos autores han descrito reducciones en el número de intromisiones necesarias para eyacular al igual que en la latencia de eyacuación (McIntosh y col. 1980; Myers y Baum 1979; Pellegrini Quarantotti y col. 1979). Otros han encontrado que naloxona incrementa el intervalo posteyaculatorio sin afectar otros aspectos de la conducta sexual (Sachs y col. 1981; Szechtman y col. 1981). En estos experimentos se utilizaron ratas intactas. Tomando en cuenta el efecto estimulador de naloxona en la secreción de gonadotropina (Cicero y col. 1980), es posible que algunos de los efectos observados después de la administración de esta droga se deban a sus acciones endocrinas o a un incremento en la liberación de LH-RH. De hecho, se ha demostrado que la administración subcutánea de LH-RH reduce la latencia de eyacuación (Myers y Baum 1980). En el mismo estudio se demostró que naloxona carece de efecto en la conducta sexual en animales castrados con implantes de testosterona. Los autores concluyen que una liberación de LH-RH inducida por la droga, es cuando menos parcialmente responsable de los efectos de naloxona sobre la conducta sexual. En un estudio posterior estos efectos no pudieron ser replicados; el único efecto observado tanto en animales castrados con implantes de testosterona como en animales intactos fue un aumento en el intervalo posteyaculatorio. Este efecto aparentemente no estaba relacionado a una estimulación de la liberación de LH inducida por naloxona (McConnel y col. 1981).

Un artículo reciente (Lieblisch y col. 1983) aumenta la confusión en este campo. Se demostró que tanto naloxona como morfina administradas en bajas dosis inhiben la conducta sexual en ratas castradas, mientras que ambas drogas carecen de efecto en animales intactos. Aún más, el hecho de que agonistas y antagonistas tengan el mismo efecto es difícil de interpretar.

Resultados similares se han descrito para otro antagonista de los opéáceos, naltrexona, lo que sugiere que estos efectos no son específicos de la naloxona (Murphy 1991). En este estudio, al mismo tiempo que se reduce la frecuencia de intrusiones y eyaculaciones, disminuye la latencia para las mismas, obteniendo con un antagonista, resultados similares a la aplicación de un agonista.

En el presente trabajo se pretende reinvestigar el efecto de naloxona en la conducta sexual de ratas castradas con implantes de testosterona. Esto parece necesario por las contradicciones encontradas en la literatura con respecto a animales intactos y por la dificultad de interpretar los resultados obtenidos con drogas con fuerte efecto endocrino, como naloxona, cuando se carece de controles adecuados. Aunque los implantes de testosterona posteriores a la castración no eliminan los efectos endocrinos de una droga, por lo menos deben reducirse sustancialmente. Aún más, puesto que el único efecto descrito con naloxona que no ha sido cuestionado (probablemente por que no se ha intentado replicar) es la inducción de conducta sexual en ratas inactivas (Gosá y col. 1979) se incluye en esta investigación un grupo de animales con baja actividad sexual.

Capítulo IV. Trabajo de investigación

IV.1 Planteamiento del problema:

En capítulos anteriores se demostró que existen evidencias indirectas y directas que permiten suponer que los opéacos están involucrados en el control de la conducta sexual tanto en la rata como en el hombre. Sin embargo, la existencia de datos contradictorios no permite obtener un panorama claro sobre el papel de los opéacos en esta conducta. Por lo tanto, en el presente trabajo se pretende reinvestigar el efecto de naloxona en la conducta sexual; así como de morfina y DALA tomando en cuenta que investigaciones previas no han considerado el efecto bifásico característico de estos péptidos.

Por otro lado, se ha postulado que los opéacos actúan evitando que la estimulación genital se vuelva aversiva permitiendo que predominen sus efectos reforzantes (Szochman y col. 1981). Si esto se debe a liberación de opéacos durante la conducta sexual, una infusión de DALA una vez iniciada esta, reforzaría los efectos de estos péptidos facilitando la expresión de la conducta sexual subsecuente.

IV. II Metodo General:

Sujetos: Se utilizaron 297 ratas macho de la cepa Wistar cuyos pesos fluctuaban entre 300 y 400 gms. Los animales fueron mantenidos por pares teniendo libre acceso a comida y agua bajo un ritmo luz-obscuridad controlado (12:12 hrs).

IV. II. I Conducta Sexual:

Los animales que eyacularon cuando menos una vez en tres sesiones de 30 min con hembras receptoras fueron utilizados en los experimentos. Posteriormente fueron castrados bajo Brevital (40 mg/kg) e implantados con una cápsula de silicon de 20 mm de longitud (0.062 d. i; 0.125 d. e; Corporación Dow-Corning) conteniendo Testosterona (SIGMA). Se ha demostrado que este implante mantiene niveles de conducta sexual similar a los de ratas intactas (Damassa y col. 1977). Posterior a la castración los animales fueron observados con hembras receptoras para confirmar que regresaran a niveles de conducta previos a la castración.

Las hembras (Wistar 200-300 gm) utilizadas en las pruebas de conducta sexual fueron ovariectomizadas dos semanas antes de la observación. Fueron inyectadas con 25 ug de benzoato de estradiol (SIGMA) 53-55 horas antes de la prueba, y 4-6 hrs antes con 1 mg de progesterona (Aldrich). Los esteroides fueron disueltos en aceite de oliva e inyectados subcutáneamente en un volumen de 0.2ml.

Procedimiento:

Todas las pruebas se realizaron entre la tercera y la séptima hora de la fase oscura bajo luz blanca tenue. Los animales fueron observados en cajas de madera rectangulares (40x60x40), con un frente de acrílico transparente de 27 cm. de altura y con tapa de malla de alambre. A diferencia de otros estudios, no se permitió que los machos se adaptaran a la caja de observación. Un

animal adaptado usualmente tiene latencias de montas e intromisiones muy cortas, lo que hace difícil observar los posibles efectos estimuladores de una droga en estos parámetros. Por lo tanto, en esta investigación el macho fue introducido en la caja de observación 5 min después de la hembra registrando: Latencia de montas, intromisiones y eyaculaciones, así como el número de montas, de intromisiones y eyaculaciones, y la frecuencia de montas e intromisiones.

Definición de las medidas usadas:

- Monta: El macho monta sobre la parte posterior de la hembra realizando movimientos pélvicos, después de los cuales desmonta lentamente.
- Intromisión: Una monta en la cual el macho penetra a la hembra y desmonta vigorosamente e inmediatamente después se lame el pene.
- Eyaculación: Intromisión en la cual el macho permanece sobre la hembra un tiempo superior al de una simple intromisión; la eyaculación se verifica observando el tapón vaginal de la hembra que fue montada.
- Latencia de Monta: Tiempo desde la introducción del macho hasta la primera monta.
- Latencia de Intromisión: Tiempo desde la introducción del macho hasta la primera intromisión.
- Latencia de Eyaculación: Tiempo entre la primera intromisión y la eyaculación.
- Frecuencia de Montas: El número de montas dividido entre el tiempo desde la primera monta hasta el final de la observación o hasta la eyaculación si se presenta.
- Frecuencia de Intromisiones: El número de intromisiones dividido entre el tiempo desde la primera intromisión hasta el final de la observación o hasta la eyaculación si se presenta.

Las pruebas finalizaron cuando se cumplía uno de los siguientes criterios: 30 min sin intromisión; que no haya ocurrido una eyaculación en los 30 min posteriores a la primera intromisión; final del segundo intervalo posteyaculatorio.

Las diferencias en la metodología para cada sustancia se especifica en el experimento correspondiente.

IV.11.11 Ejecución Motora:

Sujetos: Las condiciones fueron las mismas que para la conducta sexual, solo que los animales utilizados estaban intactos.

Procedimiento:

Se utilizó un cilindro tipo "rotarod" de 16 cm. de diámetro que gira a una velocidad de 11 rpm. Cada vez que el animal se caía, se depositaba de nuevo sobre el cilindro aproximadamente 5 seg. después, contabilizándose el número de caídas en 5 min como medida de ejecución motora. Previo al experimento los animales fueron entrenados en el cilindro durante 15 min. En los primeros 5 min el cilindro giraba a 5 rpm; los siguientes 5 min a 6 rpm y en los últimos 5 min giraba a 11 rpm, la velocidad usada en los experimentos. Los animales que caían más de 5 veces en los últimos 5 min eran eliminados del experimento.

Esta técnica ha sido de gran utilidad para diferenciar efectos sobre la conducta sexual de aquellos que alteran la ejecución motora y que se manifiestan en inhibición de la conducta sexual. Así, se ha demostrado que las drogas GABAérgicas inhiben la conducta sexual por alteraciones motoras detectadas por esta técnica y no por afectar los mecanismos copulatorios por se (Agno y col 1987). Además, estudios piloto han demostrado que no existen diferencias en la ejecución motora entre animales intactos, castrados y castrados con cápsula de testosterona.

IV. II. III Drogas:

Morfina HCl (Secretaría de Salud) agonista de opáceos que actúa preferentemente sobre los receptores Mo.

Naloxona HCl (Du Pont) antagonista de opáceos (Sawynock y col. 1979).

D-ala-2-met-5-encefalinaida, sal de acetato, (DALA) (SIGMA) derivado sintético de met-encefalina, resistente a la degradación enzimática (Fellegrini Quarantotti y col 1978).

Morfina y naloxona fueron disueltas en agua destilada e inyectadas intraperitonealmente (ip) en un volumen de 1 ml/kg. DALA fue disuelta en solución salina fisiológica e inyectada en el ventrículo cerebral izquierdo en un volumen de 5 ul durante dos minutos. La cánula de inyección (27 gauge) sobresalía 0.5cm de la cánula guía y fue dejada 1 min después de terminada la infusión, antes de ser remplazada por un tapón.

En todos los experimentos los animales fueron tratados con la droga o el control en un diseño contrabalanceado, de tal manera que cada animal fue su propio control. Ningún animal fue tratado con más de una droga.

Dosis:	Naloxona	4 mg/kg y 16 mg/kg
	Morfina	2.5 mg/kg, 5 mg/kg y 10 mg/kg
	DALA	5 ug y 10 ug

Las dosis fueron inyectadas en los siguientes tiempos antes de la observación:

Naloxona	15 min antes
Morfina	5 y 60 min antes
DALA	5 y 60 min antes; después la intromisión

IV.III Tratamiento Estadístico

Cada serie copulatoria fue analizada primeramente de la siguiente manera: La proporción de animales con montas, intromisiones y eyaculaciones fue evaluada con la prueba de McNemar para los cambios de significancia o la prueba binomial según fuese apropiado. La latencia de montas e intromisiones así como el intervalo posteyaculatorio fueron evaluados con la prueba χ^2 para muestras independientes. Aunque se usaron los mismos animales tanto en el tratamiento control como en el experimental fue necesario utilizar una prueba para grupos independientes, puesto que no siempre se registraron estos parámetros para todos los animales. El número de montas e intromisiones fue analizado con la prueba χ^2 para medidas repetidas. En este análisis fueron incluidos todos los animales. Las probabilidades son de dos colas.

Posteriormente se realizó un análisis de varianza 2x2 en aquellos animales que eyacularon dos veces tanto en el tratamiento control como en el experimental; siendo los factores tratamiento (control vs droga) y eyaculación (1A vs 2A). Fueron analizados los efectos simples en lugar de los principales tratando de evitar la confusión por interacciones. De esta manera fueron evaluados el número de montas e intromisiones, la latencia de eyaculación y el intervalo posteyaculatorio.

Los datos de la ejecución motora fueron analizados con la prueba de Wilcoxon para grupos apareados.

TRABAJO DE INVESTIGACION

EXPERIMENTO 1.

NALOXONA

BAJA ACTIVIDAD 4 y 16 mg/kg
ACTIVIDAD NORMAL 4 y 16 mg/kg

EXPERIMENTO 2.

MORFINA

5 MIN ANTES (2.5, 5 y 10 mg/kg)
60 MIN ANTES (2.5, 5 y 10 mg/kg)

EXPERIMENTO 3.

D A L A

5 MIN ANTES (5 ug)
60 MIN ANTES (5 ug)
DESPUES 1A INTRO. (5 y 10 ug)

IV. IV EXPERIMENTO 1

Debido a que naloxona alcanza su máxima concentración cerebral unos cuantos minutos después de su administración (Tepperman y col. 1983) y tiene una vida media relativamente corta (0.4 hrs; Micra y col. 1976) solamente se observó una serie eyaculatoria en este experimento.

Metodo:

Los animales fueron sujetos al procedimiento de selección habitual y tres semanas después de castrados se inyectaron semanalmente con 0.4 mg/kg de propionato de testosterona (PT; SIGMA) en 1 ml/kg de aceite de oliva. Dos días después de la inyección se realizaron pruebas semanales. El tratamiento se inició tres semanas después de la primera prueba postcastración de tal manera que la conducta sexual alcanzó un nivel bajo pero estable.

Las pruebas terminaban 15 min después de la introducción del macho. En caso de que ocurriera una eyaculación durante este tiempo la prueba terminaba al final del intervalo posteyaculatorio.

IV. IV. I Resultados y Discusión

Naloxona en dosis de 4 o 16 mg/kg, no tuvo ningún efecto en la ejecución motora. En lo que a la conducta sexual se refiere, naloxona tampoco tuvo ningún efecto en ninguna de las dosis usadas, ni en animales implantados con cápsula de testosterona (Tabla 1) ni en los tratados con inyecciones de PT (Tabla 2). Esto confirma las observaciones de Myers y Baum (1980). La falta de efecto en los animales con baja actividad sexual (solo la mitad de los animales tratados con PT mostraron montas) sugiere que la habilidad de naloxona para inducir conducta sexual en animales inactivos (Gessa y col. 1979) se debe a sus acciones endocrinas. Un argumento similar podría sugerirse para explicar los efectos de naloxona en animales intactos con actividad sexual

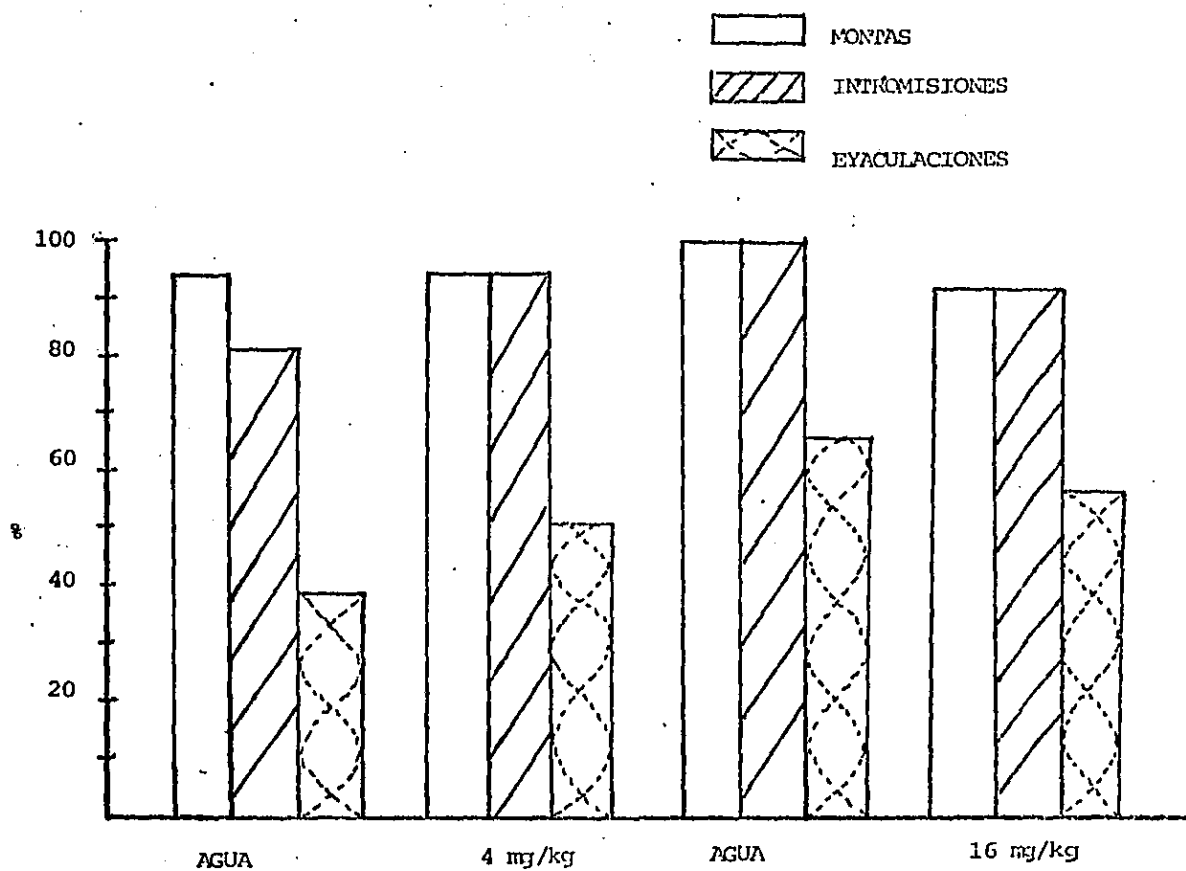
Tabla 1

Media (\pm EE) en los parámetros de la conducta sexual en ratas macho tratadas con naloxona. N=16 en ambos grupos.

Parámetro conductual	Agua	Naloxona 4 mg/kg	Agua	Naloxona 16 mg/kg
Porcentaje montas	94	94	100	91
Porcentaje intromisiones	81	94	100	91
Porcentaje eyaculaciones	38	50	64	55
Número de montas	6.9 \pm 1.41	7.1 \pm 1.43	5.6 \pm 1.33	8.7 \pm 2.31
Número de intromisiones	7.0 \pm 1.09	6.1 \pm .92	8.4 \pm 1.04	5.9 \pm 1.04
Latencia ^{a,b} montas	1.3 \pm .36	1.3 \pm .39	2.2 \pm 1.16	.9 \pm .27
Latencia ^{a,b} intromisiones	1.7 \pm .42	2.5 \pm .74	3.0 \pm 1.26	1.9 \pm .83
Latencia ^{a,b} eyaculaciones	6.4 \pm .81	6.9 \pm 1.12	7.6 \pm .76	6.8 \pm 1.85
Intervalo ^{a,b} posteyaculatorio	7.1 \pm .72	6.6 \pm .66	5.9 \pm .27	5.9 \pm .39

^a Se incluyen únicamente los animales en los cuales estos parámetros fueron registrados.

^b min



Porcentaje de montas, intromisiones y eyaculaciones en animales tratados con naloxona 15 min. antes de la observación (N = 16).

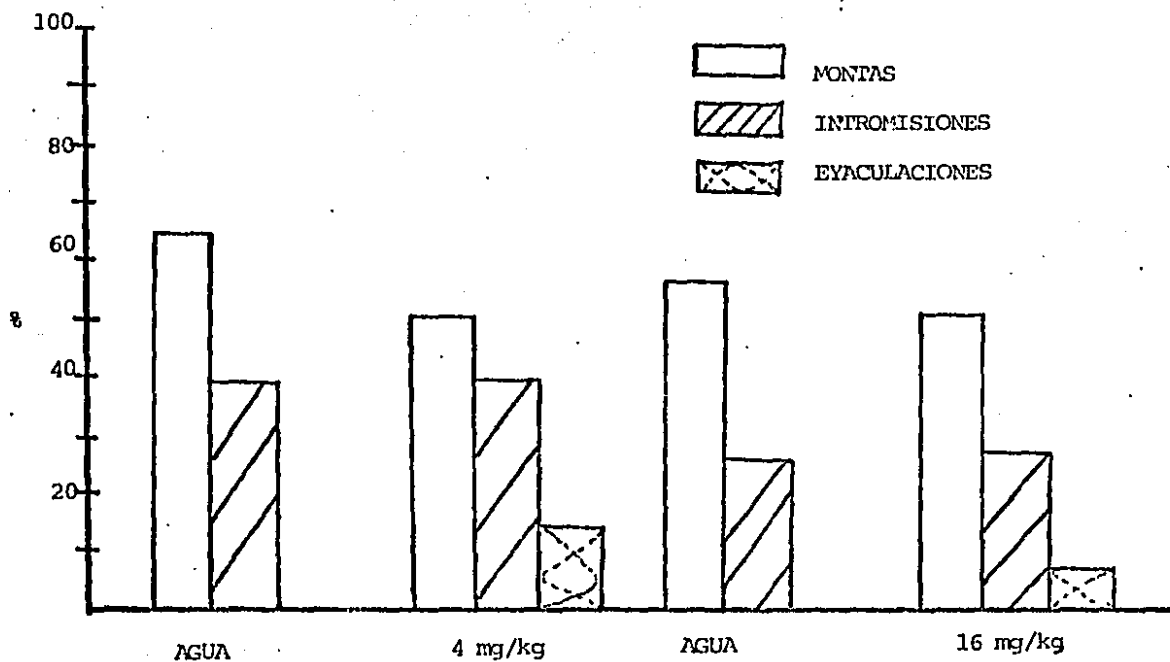
Tabla 2

Media (±EE) en los parámetros de la conducta sexual en animales con baja actividad tratados con naloxona. N=16 en ambos grupos.

Parámetro conductual	Agua	Naloxona 4 mg/kg	Agua	Naloxona 16 mg/kg
Porcentaje montas	63	50	56	50
Porcentaje intromisiones	38	38	25	31
Porcentaje eyaculaciones	0	13	0	6
Número de montas	5.3±1.5	2.8±.74	3.4±1.08	2.0±.83
Número de intromisiones	1.7±.70	2.4±1.32	2.5±1.30	1.4±.62
Latencia ^{a,b} montas	5.6±.97	3.4±.90	5.5±1.40	5.4±1.40
Latencia ^{a,b} intromisiones	7.2±1.12	6.25±1.95	4.5±2.36	6.1±1.65

^a Se incluyen únicamente los animales en los cuales estos parámetros fueron registrados.

^b min



Porcentaje de montas, intromisiones y eyaculaciones en animales con baja actividad sexual tratados con naloxona 15 min. antes de la observación--
(N = 16).

normal.

La falta de efecto de naloxona no implica necesariamente que los opéáceos no están involucrados en el control de la conducta sexual. Según estudios bioquímicos, la naloxona se une preferentemente al receptor morfina (μ), mientras que los opéáceos endógenos como la leu-Enkefalina y la met-Enkefalina se unen preferentemente al receptor delta (Rothman y Reiffel, 1983). Es posible entonces que la administración de naloxona no sea una vía adecuada para bloquear los efectos fisiológicos de los opéáceos endógenos. Por ejemplo recientemente se ha demostrado que el antagonista del receptor δ opéáceo, ICI 154,129, altera la conducta sexual en el ratón mientras la naloxona carece de efecto (Benton y col. 1984). Además, ICI 154,129 estimula la actividad de escalada vertical en ratones, mientras que naloxona carece de efecto (Dua y Pinaky, 1985). Estas observaciones sugieren que los antagonistas δ y μ pueden tener efectos conductuales distintos y que naloxona no bloquea todas las acciones de los opéáceos endógenos. Aún más, naloxona puede actuar como un agonista cuando se administra en dosis altas (Sawynock y col. 1979). En los estudios en los que naloxona redujo el número de intromisiones y la latencia de eyaculación, las dosis (10 - 45 mg/kg) se encuentran en el intervalo en el que su actividad como agonista puede hacerse evidente.

Por otro lado la acción de los opéáceos en la liberación de LH parece estar mediada por los receptores μ (Cicero y col. 1983). Esto apoya aun más la hipótesis de que los efectos de naloxona sobre la conducta sexual se debe a acciones sobre el sistema endocrino. Sin embargo, también es posible que los efectos de naloxona se deban a su acción como agonista, especialmente por las dosis usadas en estudios anteriores. En la presente investigación las dosis usadas fueron mas bajas por lo que su actividad como agonista debio ser menos evidente o estar

ausente. Si este argumento es correcto la administración de morfina debe tener efectos similares a la de una dosis alta de naloxona. En el siguiente experimento esta posibilidad fue investigada.

IV.V EXPERIMENTO 2

Para cubrir la fase inicial, usualmente inhibitoria, así como la fase tardía, usualmente estimuladora, se administro morfina (ip) 5 min y 60 min antes de la observación conductual en dosis de 2.5, 5 y 10 mg/kg.

IV.V.1 Resultados y Discusión

La morfina administrada 60 min antes de la observación en dosis de 2.5 o 5 mg/kg no tuvo ningún efecto sobre la conducta sexual. Por otro lado una dosis de 10 mg/kg redujo el número de montas e intromisiones así como el porcentaje de montas, intromisiones y eyaculaciones en ambas series copulatorias (Tabla 3). Sin embargo, la latencia de eyaculación se redujo en los animales que eyacularon con esta dosis.

Cuando los datos se analizaron para los animales que eyacularon tanto en la condición experimental como en la control, los resultados fueron diferentes. Una dosis de morfina de 2.5 mg/kg aumentó significativamente el número de montas antes de la primera eyaculación ($F(1,8)=33.57$, $p<.001$) y la latencia de eyaculación para la segunda eyaculación se redujo ($F(1,8)=11.36$, $p=.009$) (Fig. 1). Morfina 5 mg/kg también redujo la latencia de eyaculación para la segunda eyaculación ($F(1,8)=7.09$, $p=.02$) al igual que el intervalo posteyaculatorio ($F(1,8)=6.95$, $p=.02$) (Fig. 2). Los datos de los animales tratados con 10 mg/kg de morfina 60 min antes no fueron analizados de este modo debido a que únicamente cuatro animales eyacularon en ambas condiciones. Los efectos de morfina cuando se aplicó 60 min antes se bloquearon al administrar naloxona 15 min antes de la observación

Medio (±SE) en los parámetros de la conducta sexual en ratos tratados con morfina 60 minutos antes de la observación conductual. N=72 (salina); 18 (morfina 2.5 y 5 mg/kg); 36 (morfina 10 mg/kg)

Parámetro conductual	1ª serie copulatoria				2ª serie copulatoria			
	Agua*	Morfina 2.5 mg/kg	Morfina 5 mg/kg	Morfina 10 mg/kg	Agua*	Morfina 2.5 mg/kg	Morfina 5 mg/kg	Morfina 10 mg/kg
Porcentaje montas	83	72	67	22 ^a	67	67	67	22 ^a
Porcentaje intromisiones	72	67	67	22 ^a	67	67	67	22 ^a
Porcentaje eyaculaciones	67	67	67	22 ^a	61	67	67	19 ^a
Número de montas	3.8±0.1	4.8±1.27	4.0±1.06	1.2±.33 ^a	1.9±.60	2.2±.59	1.6±.47	.7±.23 ^a
Número de intromisiones	8.4±1.45	8.2±1.53	7.0±1.28	2.1±.69 ^a	4.5±.87	4.7±.67	4.3±.78	1.6±.53 ^a
Latencia ^{a,b,c} montas	5.3±1.97	1.1±0.27	4.0±1.05	8.4±2.36				
Latencia ^{a,b,c} intromisiones	5.6±2.12	3.1±1.08	5.9±1.98	6.5±2.09				
Latencia ^{a,b,c} eyaculaciones	14.9±2.17	15.7±2.05	12.9±1.75	7.2±.94 ^a	10.9±1.01	8.0±1.67	6.8±1.14	6.5±2.35
Intervalo ^{a,b,c} posteyaculatorio	8.5±.73	9.3±1.13	7.2±.44	8.9±1.55	9.2±.80	11.9±1.47	9.1±.50	13.9±2.65

^a Puesto que ninguno de los tres grupos controles difiere significativamente en ningún parámetro, se procedieron para su presentación. Sin embargo, el análisis estadístico se realizó siempre entre el tratamiento experimental y su respectivo control.

^b Se incluyen únicamente los animales en los cuales estos parámetros fueron registrados.

^c Sin

^d p < .05

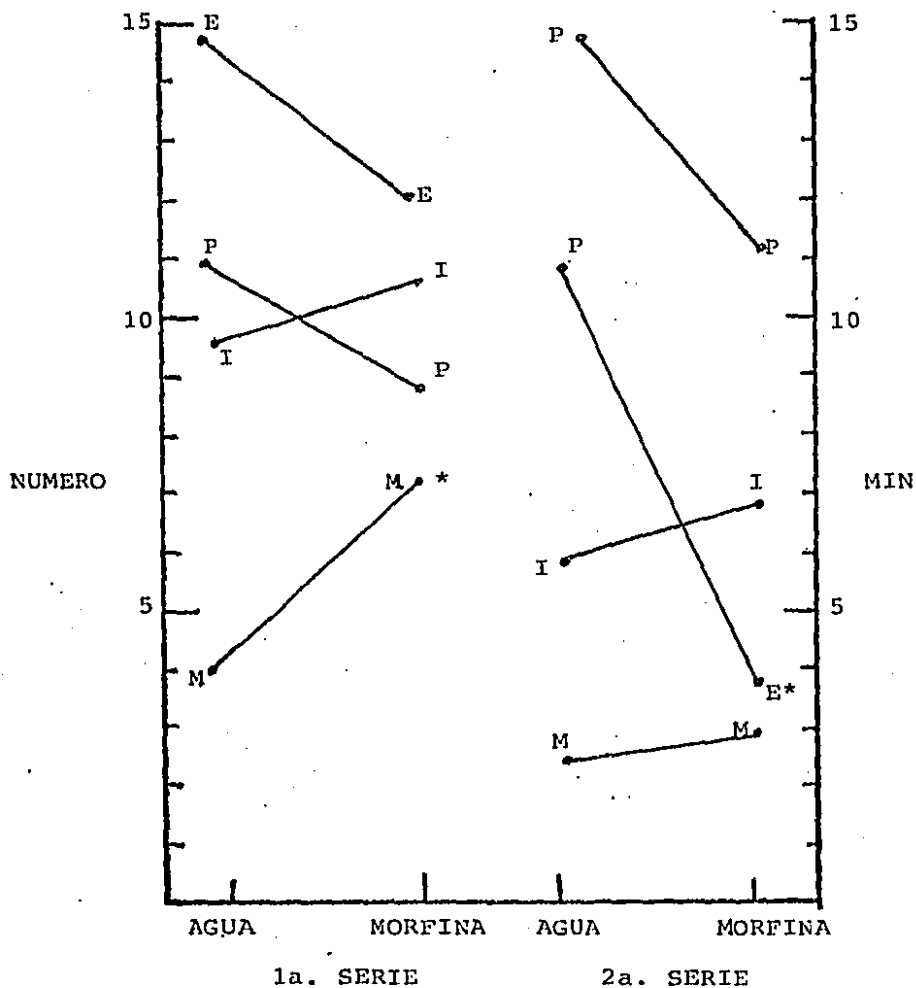


FIG. 1. Número de montas (M) e intromisiones (I), latencia de eyaculaciones (E) e intervalo posteyaculatorio (P) en animales tratados con agua o morfina 2.5 mg/kg 60 min. antes de la observación (sólo se incluyen animales que eyacularon en las dos condiciones, N = 9). * $P < 0.05$ diferente de salina en la misma serie eyaculatoria.

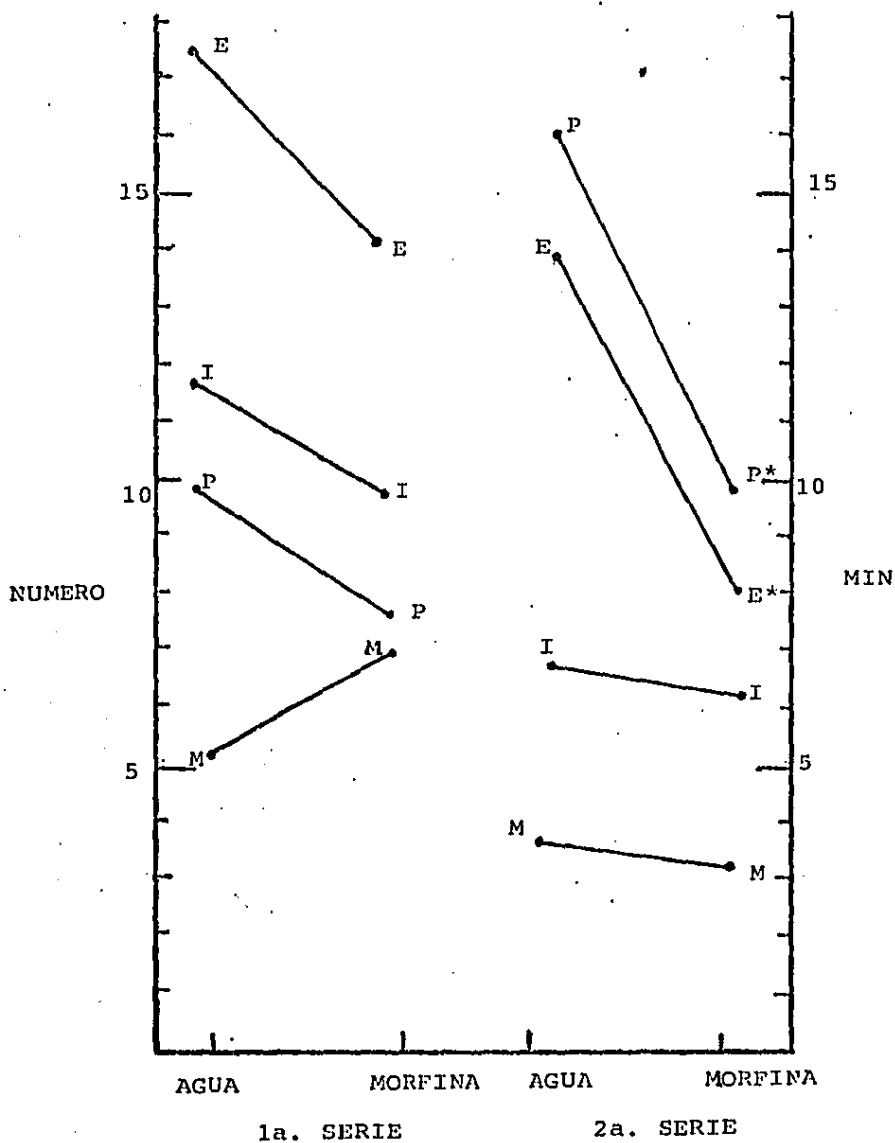


FIG. 2. Número de montas (M) e intromisiones (I), latencia de eyaculaciones (E) e intervalo postejaculatorio (P) en animales tratados con agua o morfina 5 mg/kg 60 min. antes de la observación (sólo se incluyen animales que eyacularon en las dos condiciones, N=9). * $P < 0.05$ diferente de agua en la misma serie eyaculatoria.

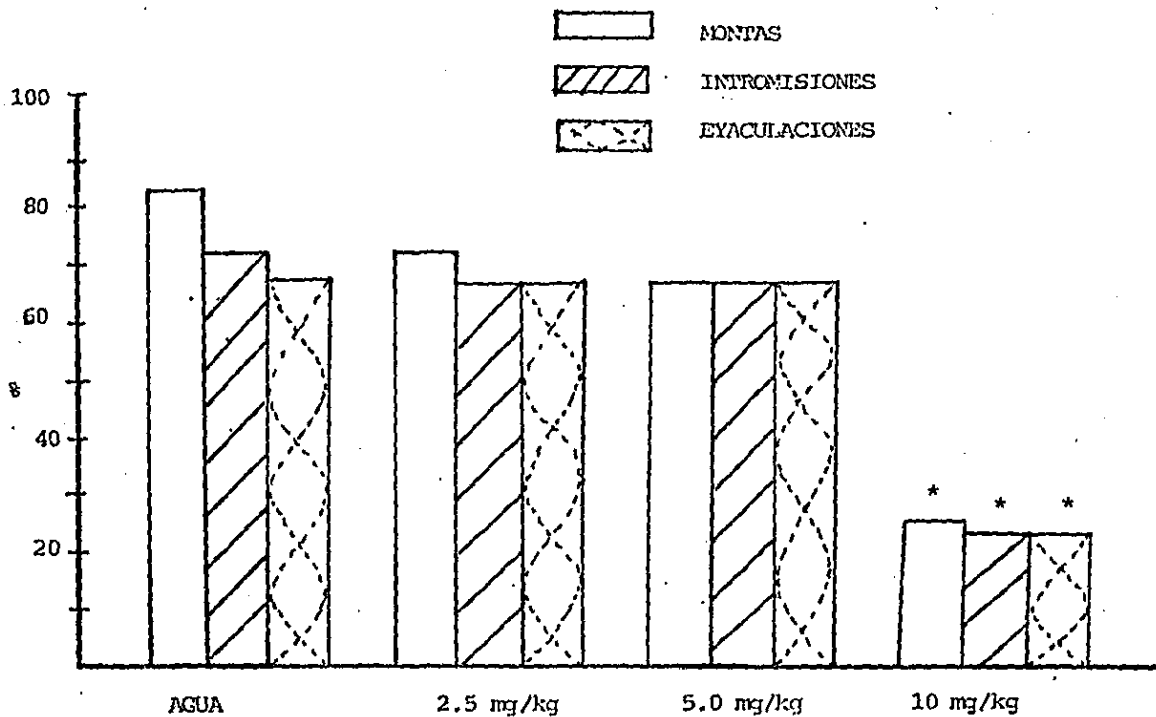
Tabla 4

Media (\pm EE) en los parámetros de la conducta sexual en ratas macho tratadas con morfina 60 min antes y con naloxona 15 min antes. N=16

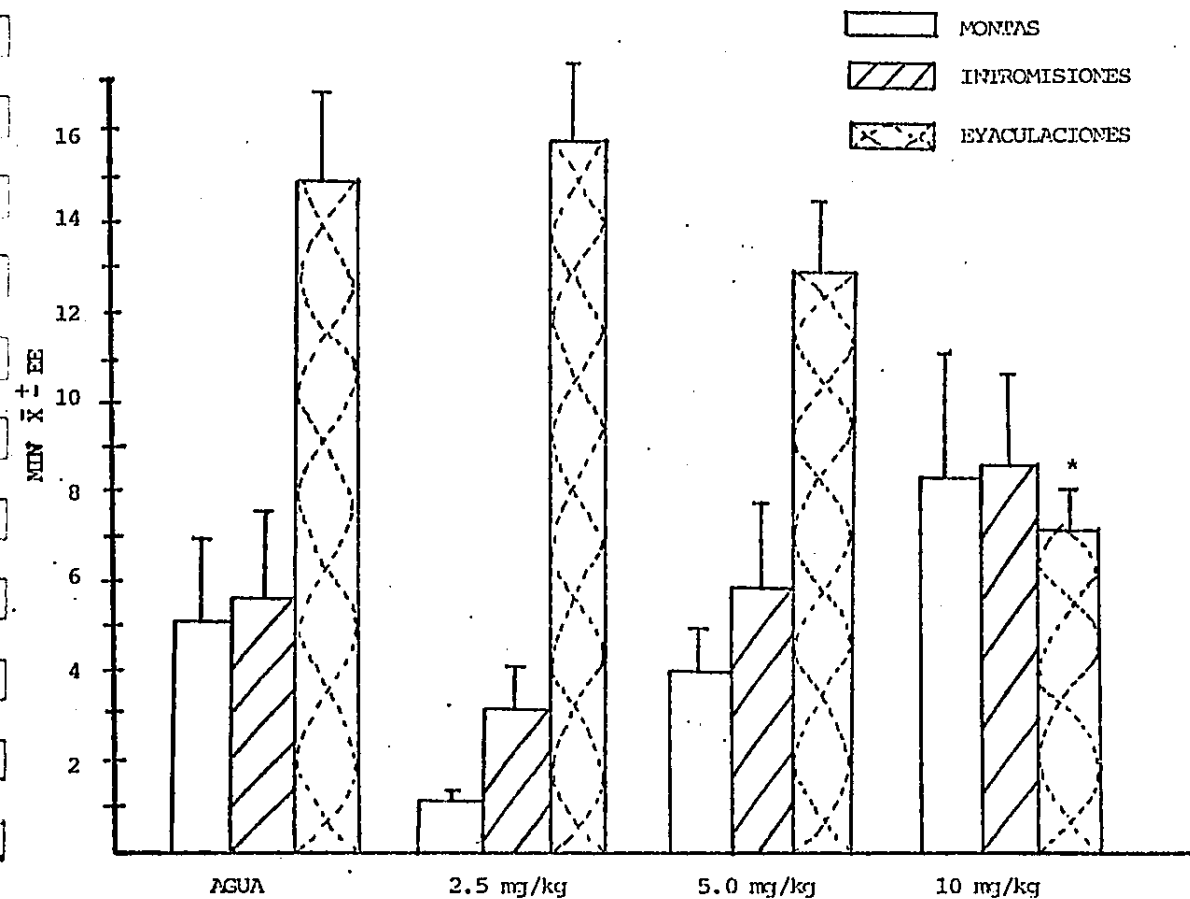
Parámetro conductual	1ª serie copulatoria		2ª serie copulatoria	
	Agua	Mor 10 mg/kg Na 16 mg/kg	Agua	Mor 10 mg/kg Na 16 mg/kg
Porcentaje montas	94	84	52	52
Porcentaje intromisiones	89	84	52	52
Porcentaje eyaculaciones	52	52	47	47
Número de montas	3.1 \pm .75	2.6 \pm .69	0.8 \pm .27	1.3 \pm .51
Número de intromisiones	10.8 \pm 1.4	9.4 \pm 1.5	4.2 \pm 1.0	3.5 \pm .93
Latencia ^{a,b} montas	1.8 \pm .55	0.9 \pm .19		
Latencia ^{a,b} intromisiones	2.0 \pm .56	.92 \pm .18		
Latencia ^{a,b} eyaculaciones	10.4 \pm 1.0	11.0 \pm 1.4	6.1 \pm .93	10.5 \pm 2.0
Intervalo ^{a,b} posteyaculatorio	7.58 \pm .50	8.03 \pm .59	8.73 \pm .52	8.89 \pm 1.33

^a Se incluyen únicamente los animales en los cuales estos parámetros fueron registrados.

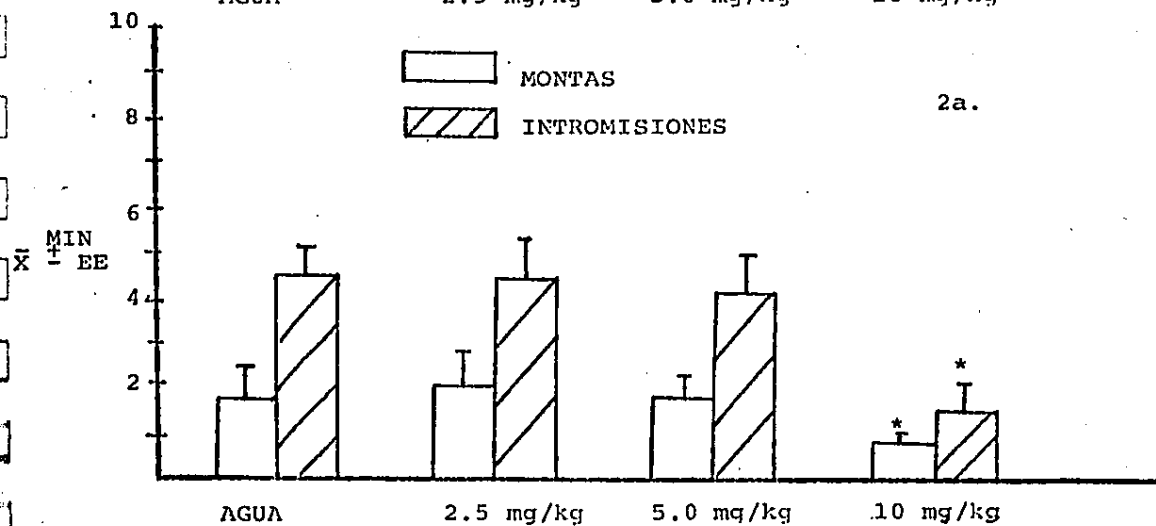
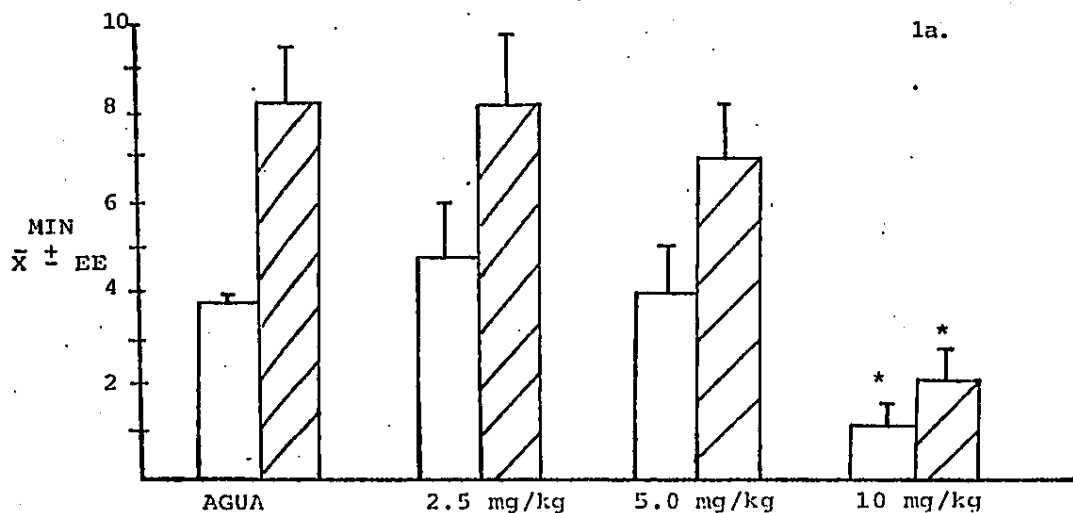
^b min



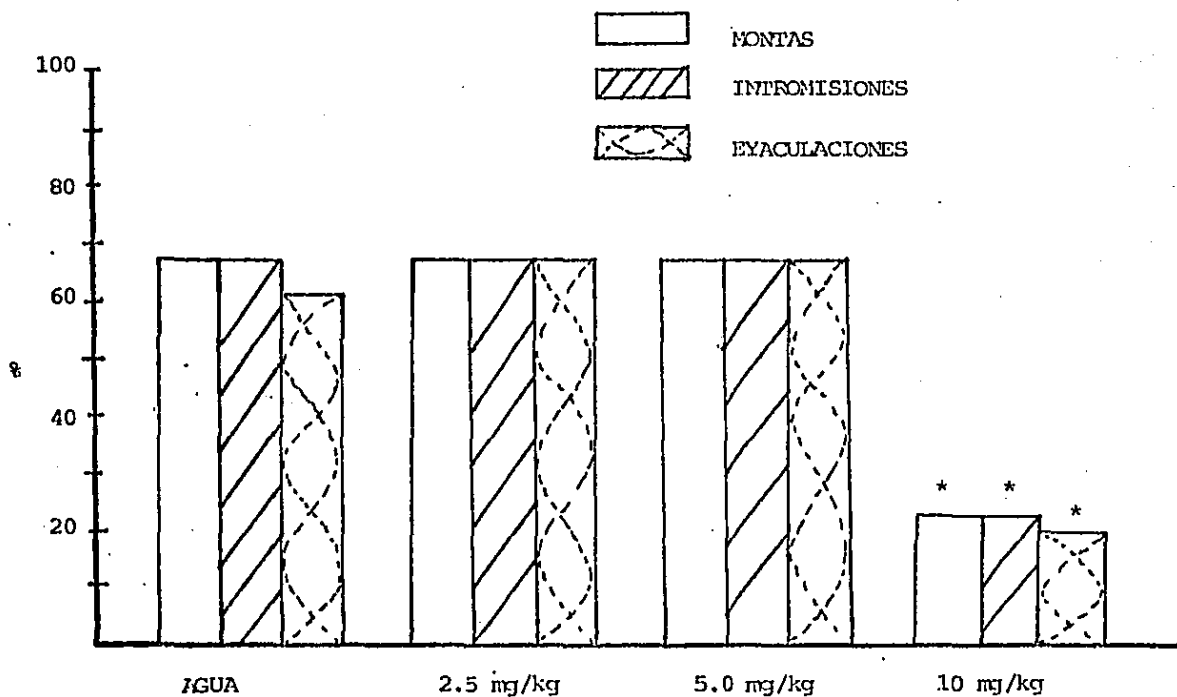
Porcentaje de montas, intromisiones y eyaculaciones en animales tratados con morfina 60 min. antes de la observación en la primera serie eyaculatoria (N = 72). * $P < 0.05$



Latencia de montas, intromisiones y eyaculaciones en animales tratados con morfina 60 min. antes de la observación (N = 72). * $P < 0.05$



Número de montas e intromisiones en animales tratados con morfina 60 min. antes de la observación (N = 72). * $P < 0.05$



Porcentaje de montas, intromisiones y eyaculaciones en animales tratados con morfina 60 min. antes de la observación en la segunda serie eyaculatoria --- (N = 72). * $p < 0.05$

(tabla 4). Esta dosis de naloxona no tuvo efecto por sí sola en la conducta sexual (tabla 1).

Cuando la morfina se administró 5 min antes de la observación el porcentaje de eyacuación se redujo en la primera serie copulatoria en las tres dosis usadas, mientras que el porcentaje de intromisiones y eyacuaciones se redujeron en la segunda serie copulatoria (Tabla 5). Cuando los datos fueron analizados únicamente en aquellos animales que eyacularon en ambas condiciones no se encontró ninguna diferencia significativa entre el grupo control y el tratado con morfina.

En lo que a la ejecución motora se refiere la administración de morfina no tiene efecto sobre esta, independientemente de la dosis utilizada y del intervalo entre su administración y la prueba. Esto permite concluir que los efectos observados en el presente trabajo no se deben a alteraciones motoras (ver tabla 10).

Parece ser que independientemente de que morfina se administre 5 o 60 min antes de la observación tiene un efecto inhibitorio general sobre la conducta sexual. Esta inhibición consiste en la reducción de la probabilidad de que el animal desarrolle la conducta sexual (se reduce el porcentaje de montas, intromisiones y eyacuaciones). Sin embargo, los animales que copularon con morfina 5 min antes mostraron un patrón conductual normal mientras que aquellos que copularon con morfina administrada 60 min antes mostraron una facilitación de la conducta copulatoria. Se observó una reducción en la latencia para la primera eyacuación sin afectar el número de intromisiones que la preceden con 10 mg/kg de morfina (control $11.14 \pm .79$; morfina 8.5 ± 1.05 , $t = 1.02$, $p > .07$). Una dosis de 5mg/kg redujo tanto la latencia de eyacuación para la segunda serie como el intervalo posteyaculatorio que le sigue, mientras que morfina 2.5 mg/kg redujo la latencia de eyacuación sin afectar el intervalo posteyaculatorio. Así estos datos sugieren

Media (\pm SE) en los parámetros de la conducta sexual de ratas macho tratadas con morfina 5 días antes de la observación conductual. N=54 (salina); 18 (todos los grupos restantes).

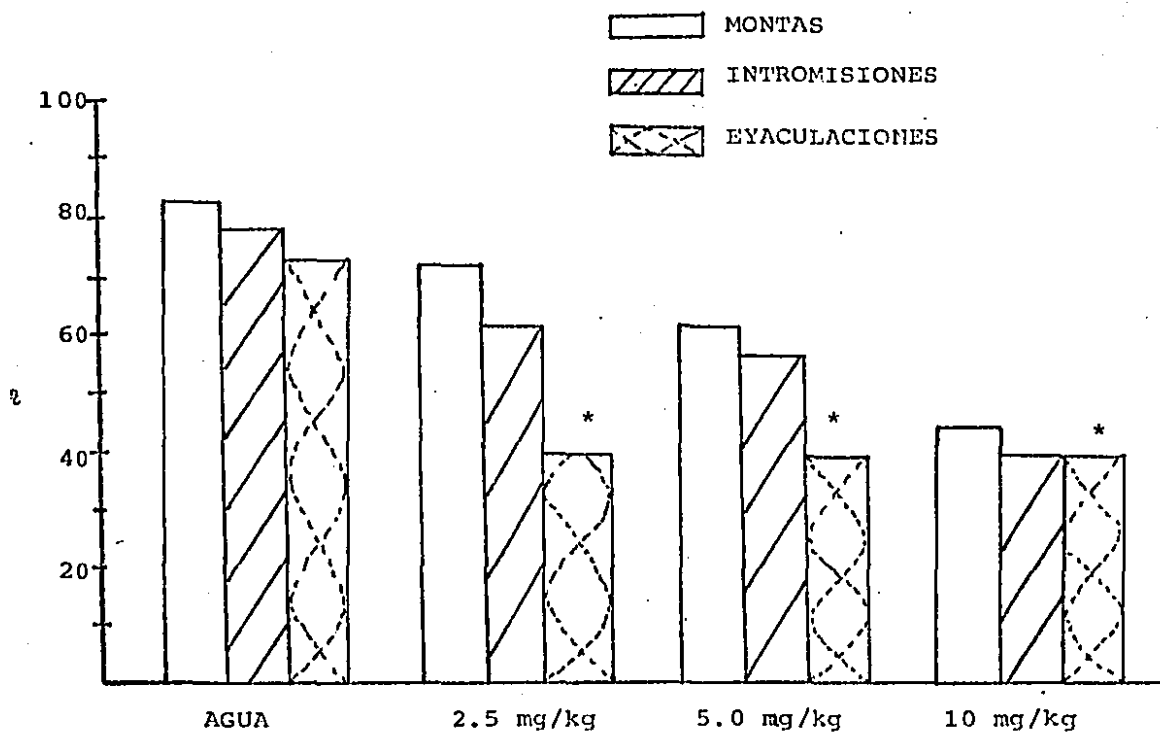
Parámetro conductual	1ª serie eyaculatoria				2ª serie eyaculatoria			
	Agua ^a	Morfina 2.5 mg/kg	Morfina 5 mg/kg	Morfina 10 mg/kg	Agua ^a	Morfina 2.5 mg/kg	Morfina 5 mg/kg	Morfina 10 mg/kg
Porcentaje montas	63	72	61	44	72	33	39	33
Porcentaje intrusiones	78	61	56	39	72	33*	39*	26*
Porcentaje eyaculaciones	72	39*	39*	39*	72	26*	39*	22*
Número de montas	3.6 \pm -.96	4.5 \pm -1.37	4.1 \pm -1.49	1.3 \pm -.56	1.2 \pm -.30	.7 \pm -.31	.6 \pm -.26	.5 \pm -.23
Número de intrusiones	6.4 \pm -.91	5.1 \pm -1.10	4.6 \pm -1.14	3.0 \pm -.95	3.6 \pm -.58	2.1 \pm -.71	2.4 \pm -.93	1.9 \pm -.79
Latencia ^{a,b,c} montas	2.9 \pm -.75	2.8 \pm -.77	4.0 \pm -1.30	2.0 \pm -.74				
Latencia ^{a,b,c} intrusiones	4.9 \pm -1.27	6.1 \pm -1.37	7.1 \pm -2.21	4.4 \pm -1.76				
Latencia ^{a,b,c} eyaculaciones	11.5 \pm -2.15	12.9 \pm -2.39	15.1 \pm -3.93	11.5 \pm -3.68	6.5 \pm -.63	8.5 \pm -1.63	7.2 \pm -1.46	9.8 \pm -6.39
Intervalo ^{a,b,c} posteyaculatorio	7.6 \pm -.41	8.1 \pm -.65	8.4 \pm -.78	10.5 \pm -3.61	8.7 \pm -.78	8.6 \pm -.83	11.7 \pm -2.01	9.7 \pm -.60

^a Fuese que ninguno de los tres grupos controles difiere significativamente en ningún parámetro, se proporcionaron para su presentación. Sin embargo, el análisis estadístico se realizó siempre entre el tratamiento experimental y su respectivo control.

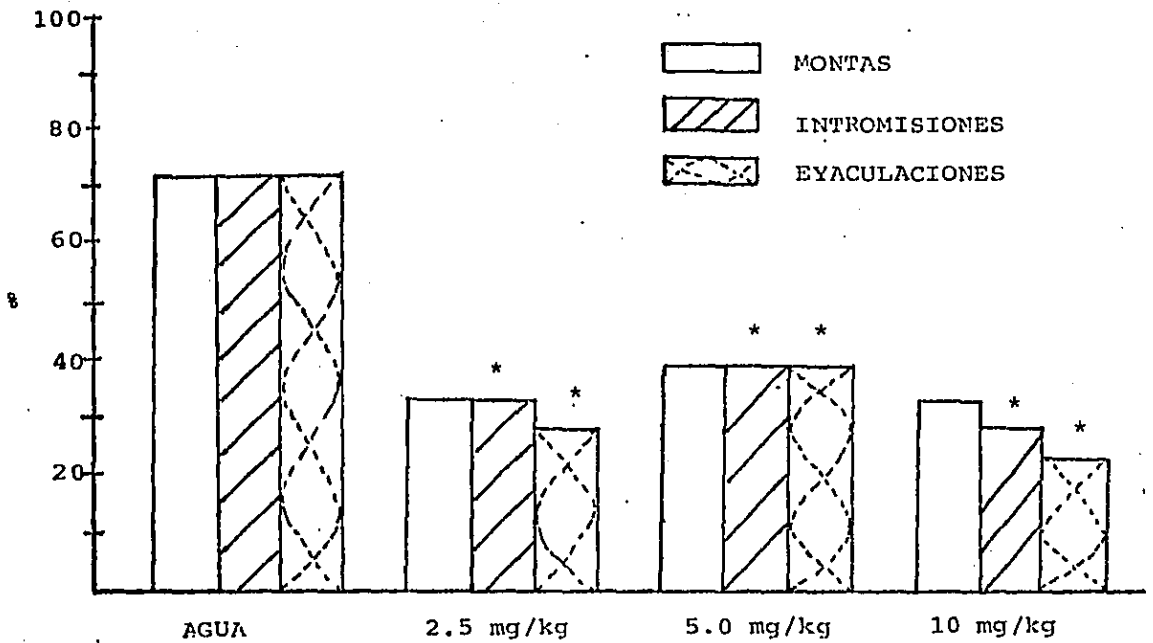
^b Se incluyen únicamente los animales en los cuales estos parámetros fueron registrados.

^c min

* $p < .05$



Porcentaje de montas, intromisiones y eyaculaciones en animales tratados con morfina 5 min. antes de la observación en la primera serie eyaculatoria (N = 54). *P < 0.05.



Porcentaje de montas, intromisiones y eyaculaciones en animales tratados con morfina 5 min. antes de la observación en la segunda serie eyaculatoria (N = 54). *P < 0.05

la facilitación de la conducta sexual.

El hecho de que muchos animales hayan dejado de copular después de la administración de morfina puede explicarse considerando los efectos reforzantes que produce la estimulación de receptores μ opéacos (Glincher y col. 1984; Goeder y col. 1984). Este estado reforzante puede reducir la pulsión del animal haciendo menos probable el inicio de la conducta copulatoria. Un argumento similar se ha tratado de utilizar para explicar la inhibición de la ingestión de comida y agua en animales privados cuando se administran bajas dosis de morfina (Frenk y Rogers, 1979).

Los efectos de morfina en la conducta sexual parecen ser similares a sus efectos en otras conductas, produciendo inhibición poco tiempo después de haber sido administrada y estimulando después de un intervalo mayor entre su administración y la observación. En el presente experimento los efectos inhibitorios se observaron cuando se administró la morfina 5 min antes, mientras que cuando se administró 60 min antes se observaron efectos tanto inhibitorios como estimulatorios. Debe hacerse notar sin embargo que los efectos estimulatorios se limitan a los pocos animales que mostraron conducta sexual.

Los efectos estimulatorios de la morfina encontrados en el presente estudio son similares a los descritos cuando se administra naloxona (ver inciso III.11). Además, se demostró que una dosis de naloxona que por si sola no afecta la conducta sexual, bloquea los efectos de morfina; por lo que se confirma la hipótesis presentada en el experimento uno en el sentido de que las dosis de naloxona utilizadas en experimentos previos facilitan su acción agonista. Aún más, no se ha demostrado que naloxona inhiba la conducta sexual, aún en dosis muy altas, tampoco que este antagonista tenga propiedades reforzantes. Esto puede apoyar la hipótesis presentada con anterioridad de que los efectos inhibitorios de la morfina se deban a una reducción en la

pulsión por sus propiedades reforzantes. Esto a su vez puede indicar que los efectos de los opéáceos en la conducta sexual son facilitatorios pero que se ven enmascarados por una reducción en la pulsión.

Como se mencionó anteriormente tanto morfina como naloxona actúan preferentemente en el receptor mu, mientras que algunos opéáceos endógenos, como las encefalinas, actúan preferentemente en el receptor delta. También se ha mencionado que los antagonistas específicos del receptor delta pueden tener efectos conductuales diferentes a la naloxona indicando que los receptores mu y delta pueden tener funciones conductuales distintas. Por lo tanto, se consideró interesante estudiar el efecto de una encefalina sobre la conducta sexual.

IV.VI EXPERIMENTO 3

Después del procedimiento habitual para la obtención de activos, los animales utilizados en este experimento fueron implantados en el ventrículo cerebral izquierdo con una cánula calibre 21 utilizando técnicas estereotáxicas convencionales (coordenadas 0.1 mm anterior a Bregma, 1.5 mm lateral a la línea media y 4.0 mm por abajo de la dura madre. La cabeza estaba fija de tal modo que lambda estaba 1 mm mas bajo que bregma) anestesiados con Erevital sódico (40 mg/kg). Posteriormente los animales fueron sometidos a dos pruebas semanales comenzando los experimentos una semana después de la segunda prueba.

DALA fue administrado en una dosis de 5 ug 5 o 60 min antes de la observación conductual o bien 30 seg después de la primera intromisión de la primera serie eyaculatoria. En este último caso el animal era retirado de la caja de observación inmediatamente después de la primera intromisión y puesto en una mesa contigua donde se realizaba la infusión. Cuatro minutos después de retirado el animal este era reintroducido en la caja.

Además de los parámetros registrados normalmente, se anotaba la latencia de reinicio (tiempo entre la reintroducción a la caja de observación hasta la siguiente intromisión). Los animales control recibían el mismo tratamiento sólo que recibían una infusión de solución salina. La prueba finalizaba si no ocurría ninguna intromisión 30 min después de la reintroducción del macho.

Al final del experimento los animales fueron inyectados con 5 μ l de azul de metileno através de la cánula y sacrificados con una sobredosis de anestesia. Después de extraer el cerebro este se cortó y se examinó en el microscopio de disección para verificar la implantación. De este modo, un número reducido de animales fue desechado y sus datos no se consideraron en el análisis estadístico.

IV.VI.I Resultados y Discusión

La administración de 5 μ g de DALA no tuvo efecto sobre la conducta sexual cuando se administró 5 o 60 min antes de la observación (Tablas 6 y 7). Tampoco se observó ningún efecto cuando se analizaron los datos de las ratas que eyacularon tanto en el grupo control como en el experimental.

Cuando DALA se administró después de la 1ª intromisión, se observó una reducción en el número de intromisiones para la 1ª eyaculación (Tabla 8). Cuando se analizaron los datos de los animales que eyacularon en las dos condiciones el ANOVA mostró una reducción significativa en el número de intromisiones que preceden a la 1ª eyaculación ($F(1,12)=11.96$, $p=.004$), así como de la latencia de eyaculación ($F(1,12)=4.78$, $p=.049$) (Fig. 3). Cuando la dosis de DALA se incrementó a 10 μ g después de la 1ª intromisión, se redujo el número de intromisiones antes de la 1ª y la 2ª eyaculación, así como una reducción en la latencia para la primera de estas (Tabla 9). Cuando se analizaron los datos de los animales que eyacularon tanto en el grupo control como en el experimental, se observó una reducción significativa en el número

Tabla 6

Media (\pm EE) en los parámetros de la conducta sexual en ratas macho tratadas con DOLA 5 ug 60 min antes de la observación. N=15

Parámetro conductual	1ª serie eyaculatoria		2ª serie eyaculatoria	
	Salina	DOLA	Salina	DOLA
Porcentaje montas	80	80	47	40
Porcentaje intromisiones	67	73	47	40
Porcentaje eyaculaciones	47	40	40	40
Número de montas	9.9 \pm 3.93	8.9 \pm 2.21	3.6 \pm 1.68	1.9 \pm 1.88
Número de intromisiones	7.1 \pm 1.53	7.0 \pm 1.28	3.4 \pm 1.09	2.7 \pm 1.91
Latencia ^a ,b montas	1.4 \pm 1.40	5.6 \pm 2.4		
Latencia ^a ,b intromisiones	3.1 \pm 1.12	7.7 \pm 3.00		
Latencia ^a ,b eyaculaciones	14.0 \pm 2.22	15.1 \pm 1.64	8.7 \pm 2.76	10.2 \pm 2.54
Intervalo ^a ,b posteyaculatorio	9.3 \pm 1.62	11.6 \pm 2.45	9.9 \pm 1.26	9.2 \pm 1.80

^a Se incluyen únicamente los animales en los cuales estos parámetros fueron registrados.

^b min

Tabla 7

Media (\pm EE) en los parámetros de la conducta sexual en ratas macho tratadas con DOLA 5 ug 5 min antes de la observación. N=20

Parámetro conductual	1ª serie eyaculatoria		2ª serie eyaculatoria	
	Salina	DOLA	Salina	DOLA
Porcentaje montas	55	65	40	30
Porcentaje intromisiones	55	60	45	30
Porcentaje eyaculaciones	45	35	45	30
Número de montas	6.6 \pm 1.18	8.3 \pm 3.06	2.4 \pm 1.07	1.8 \pm 1.66
Número de intromisiones	5.0 \pm 1.78	5.1 \pm 1.26	3.2 \pm 1.91	1.7 \pm 1.64
Latencia ^{a,b} montas	3.5 \pm 1.47	4.4 \pm 1.65		
Latencia ^{a,b} intromisiones	8.4 \pm 3.49	2.8 \pm 1.69		
Latencia ^{a,b} eyaculaciones	10.8 \pm 2.22	12.4 \pm 2.71	10.0 \pm 2.15	12.7 \pm 3.81
Intervalo ^{a,b} posteyaculatorio	8.7 \pm 1.75	11.1 \pm 3.55	10.6 \pm 1.49	10.5 \pm 1.01

^a Se incluyen únicamente los animales en los cuales estos parámetros fueron registrados.

^b min

Tabla 8

Media (±mEE) en los parámetros de la conducta sexual en ratas macho tratadas con DALA 5 ug 30 sec después de la 1ª intromisión. N=32

Parámetro conductual	1ª serie eyaculatoria		2ª serie eyaculatoria	
	Salina	DALA	Salina	DALA
Porcentaje montas	91	72	69	69
Porcentaje intromisiones	91	72	69	63
Porcentaje eyaculaciones	69	69	63	63
Número de montas	6.0±1.20	4.2±.86	2.2±.49	3.2±.65
Número de intromisiones	10.3±1.05	6.8±.98*	5.2±.94	4.8±.64
Latencia ^{a,b} montas	2.7±.67	2.3±.62		
Latencia ^{a,b} reinicio	3.5±.83	3.7±1.10		
Latencia ^{a,b} eyaculaciones	13.4±1.94	10.5±1.91	5.7±.78	8.1±1.26
Intervalo ^{a,b} posteyaculatorio	7.1±.39	7.6±.96	7.6±.77	8.8±.80

^a Se incluyen únicamente los animales en los cuales estos parámetros fueron registrados.

^b min

* $p < .05$

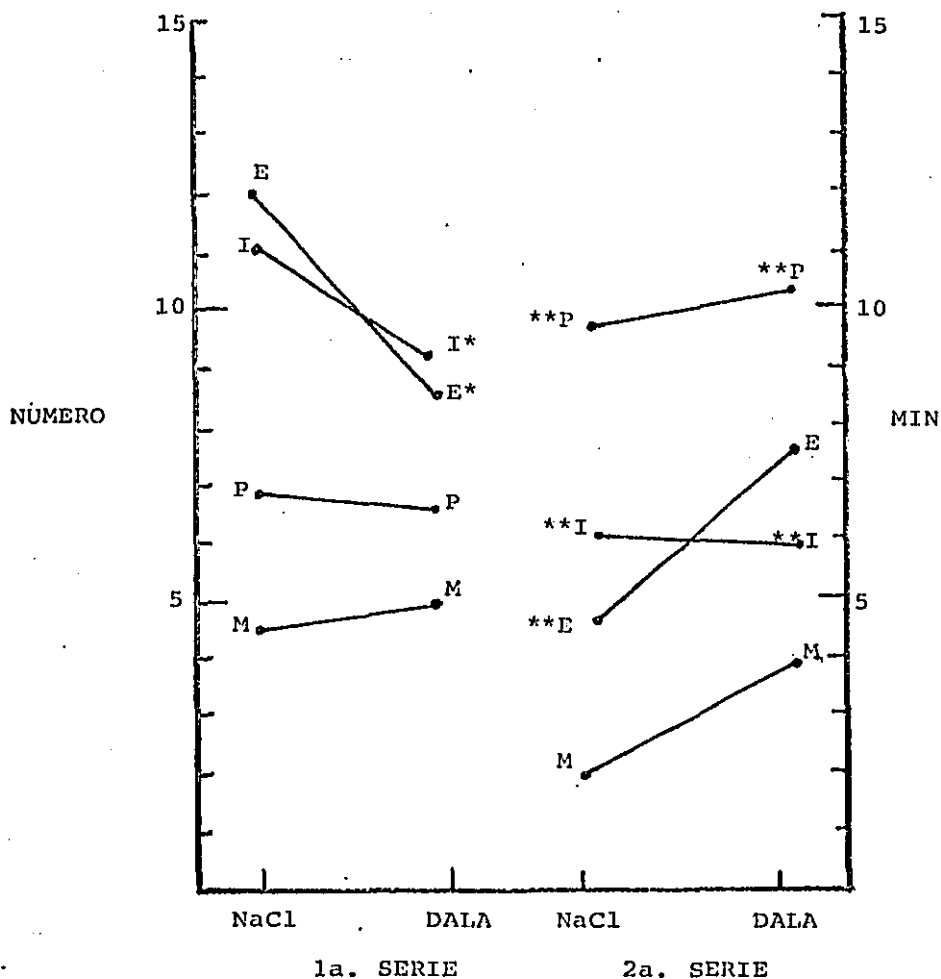
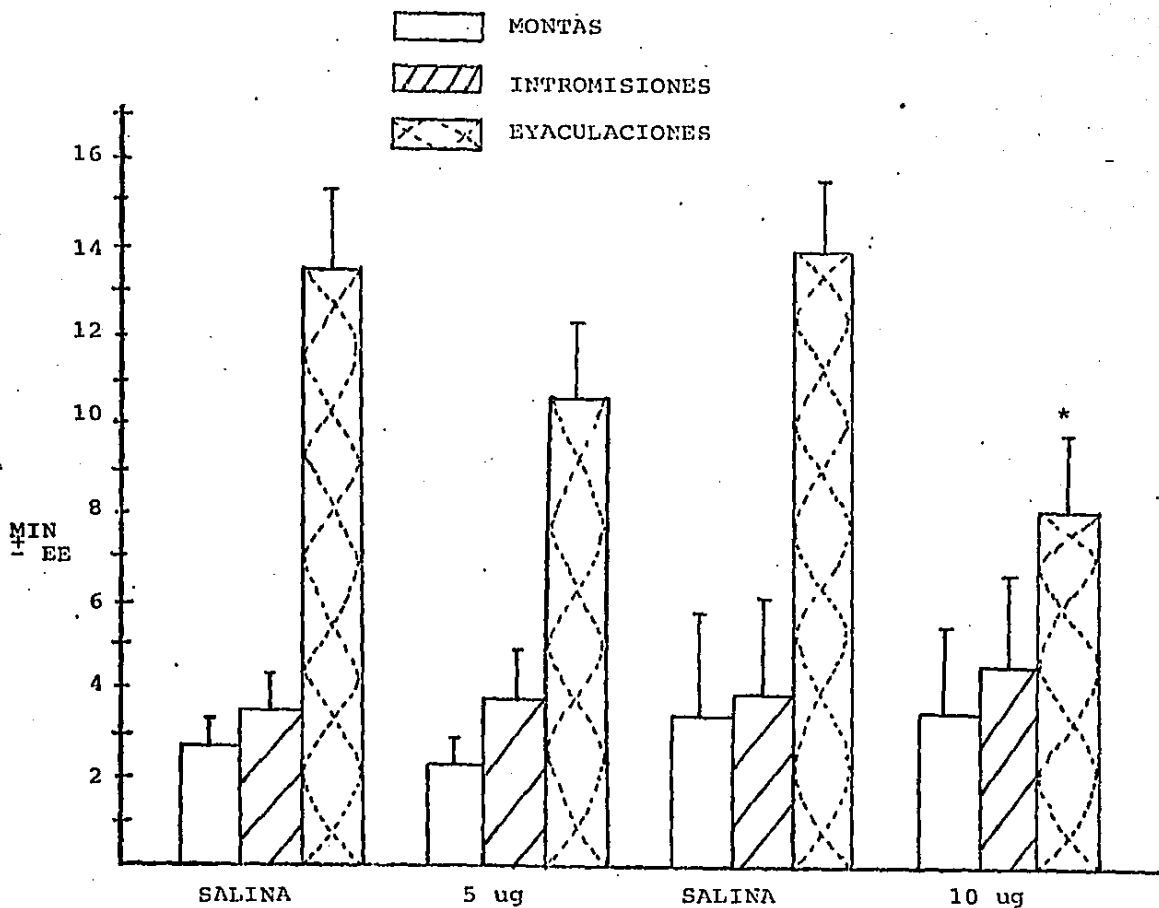
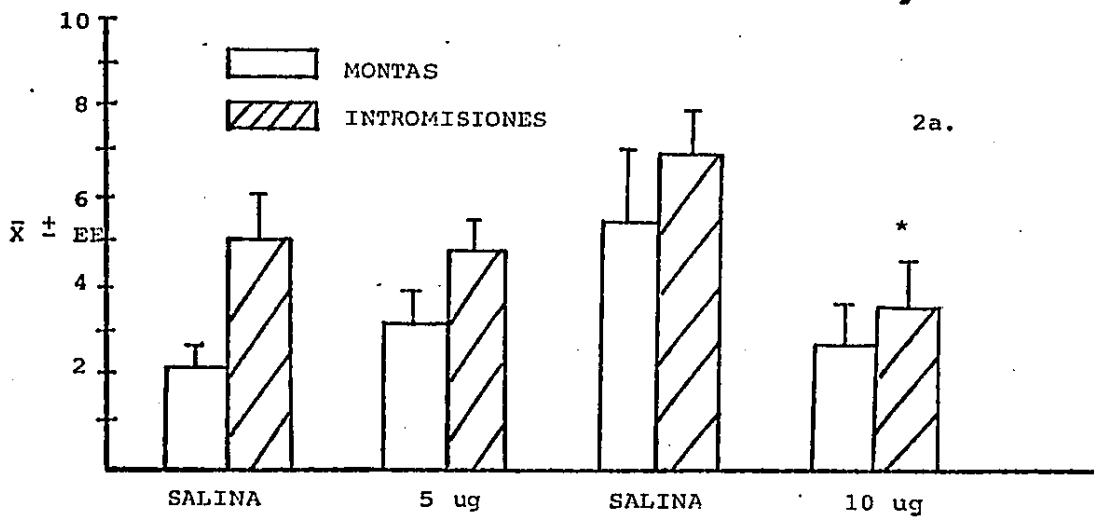
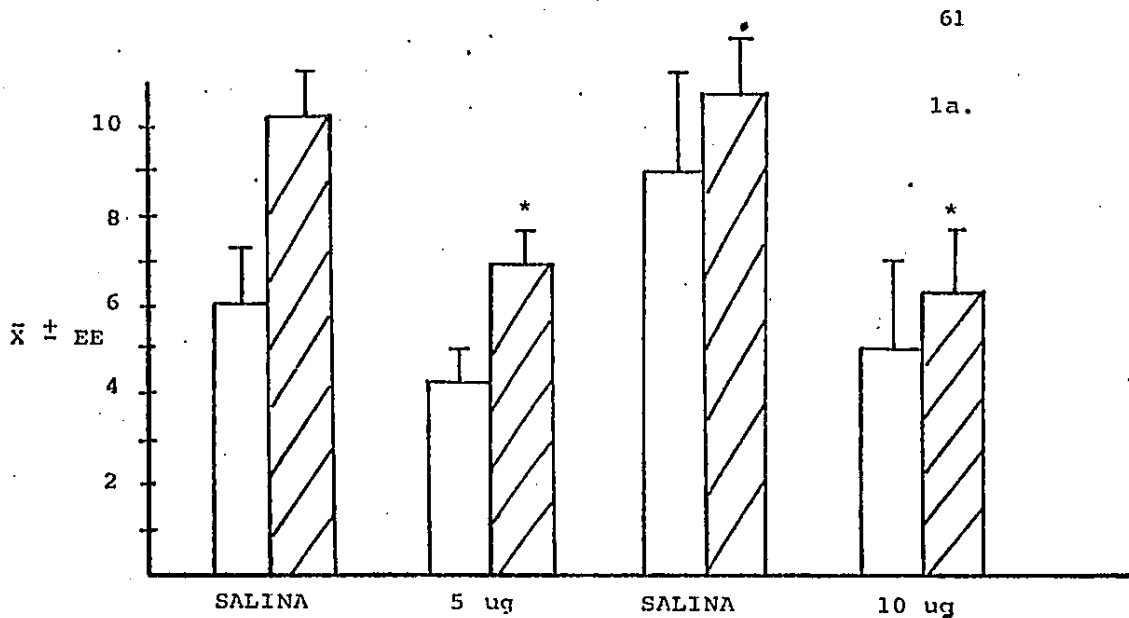


FIG. 3. Número de montas (M) e intromisiones (I); latencia de eyacuación (E) e intervalo postejaculatorio (P) en animales - tratados con salina o DALA 5 ug 30 segs. después de la primera intromisión (sólo se incluyen animales que eyacularon en las - dos condiciones, N=13). *P<0.05 diferente de salina en la -- misma serie eyaculatoria. **P<0.05 diferente del mismo trata- miento en la primera serie.



Latencia de montas, reinicio y eyaculaciones en animales tratados con DALA 5ug (N = 32) y 10 ug (N = 10) 30 seg. despues de la primera intromisión. * $P < 0.05$



Número de montas e intromisiones en animales tratados con DALA 5 ug (N = 32) y 10 ug (N = 10) 30 segs. después de la primera intromisión. * $P < 0.05$

Tabla 9

Medio (\pm EE) en los parámetros de la conducta sexual en ratas machos tratadas con DALA 10 uo 30 ses después 10 intromisión. N=10

Parámetro conductual	1A serie eyaculatoria		2A serie eyaculatoria	
	Salina	DALA	Salina	DALA
Porcentaje montas	90	80	90	60
Porcentaje intromisiones	90	70	90	60
Porcentaje eyaculaciones	90	60	70	60
Número de montas	8.9 \pm 2.36	5.1 \pm 2.17	5.5 \pm 1.79	2.7 \pm .99
Número de intromisiones	10.7 \pm 1.50	6.2 \pm 1.48 ^{^*}	6.9 \pm 1.12	3.5 \pm 1.15 ^{^*}
Latencia ^{^a,b} montas	3.5 \pm 2.20	3.6 \pm 1.84		
Latencia ^{^a,b} reinicio	3.9 \pm 2.17	4.6 \pm 2.07		
Latencia ^{^a,b} eyaculaciones	13.8 \pm 1.56	8.0 \pm 1.97 ^{^*}	4.9 \pm 1.47	7.8 \pm 2.10
Intervalo ^{^a,b} posteyaculatorio	8.9 \pm .79	10.9 \pm 3.45	10.0 \pm 1.37	11.6 \pm 1.55

^{^a} Se incluyen únicamente los animales en los cuales estos parámetros fueron registrados.

^{^b} min

^{^*} p < .05

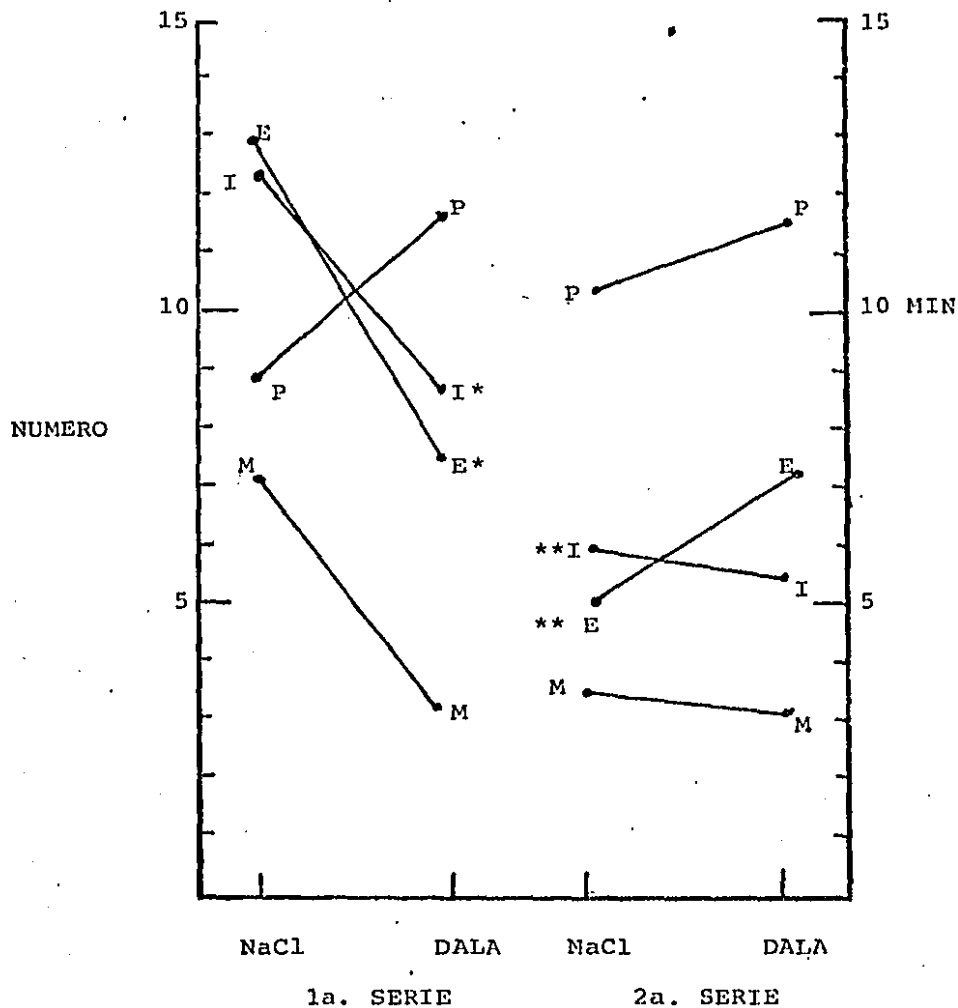


FIG. 4. Número de montas (M), e intromisiones (I); latencia de eyacuación (E) e intervalo posteyaculatorio (P) en animales - tratados con salina o DALA 10 ug 30 segs. después de la primera intromisión (sólo se incluyen animales que eyacularon en -- las dos condiciones, N=5). * $P < 0.05$ diferente de salina en la misma serie eyaculatoria. ** $P < 0.05$ diferente del mismo tratamiento en la primera serie.

de intromisiones para la 1ª eyaculación ($E(1,4)=8.25$, $p=.006$), así como para la latencia de la misma ($E(1,4)=7.76$, $p=.036$) (Fig. 4).

Al administrar 10 ug de DALA 5 o 60 min antes de la prueba, no se detectaron alteraciones motoras en comparación del grupo control (tabla 19). Los resultados de la administración de DALA en la ejecución motora, al igual que la morfina, demuestran que los efectos observados en la conducta sexual son independientes de alteraciones motoras.

Los resultados obtenidos con la administración de DALA 5 min antes de la observación, son diferentes a los descritos en estudios anteriores (Gessa y col. 1979; Pellegrini Quarantotti y col. 1978). En donde una dosis de 6 ug inhibe completamente la conducta sexual, mientras que con 3 ug se prolongan las latencias de montas e intromisiones. Aunque no puede ofrecerse una explicación convincente para esta discrepancia; debe hacerse notar que cuando se utilizan péptidos opioides, son comunes los resultados contradictorios. Por ejemplo, algunos autores describen una estimulación de la actividad locomotora después de una inyección intracerebroventricular de 3-100 ug de DALA (Brady y Holtzman, 1981; Harston y col. 1980); mientras que otros han descrito carencia de efecto utilizando estas mismas dosis (Agudo y de Avila, 1985; Kalivas y col. 1983). Así mismo, algunos autores han descrito que DALA induce sacudidas de perro de manera dosis dependiente, siendo la dosis óptima 5 ug (Druet y Connor, 1983), mientras que otros han estimado la dosis óptima en 20 ug (Cowan y Tortella, 1982).

También ha sido descrito que B-endorfina inhibe la conducta sexual en dosis que van de 1 ug (Heyerson y Torenus, 1977) a 6 ug (McIntosh y col. 1980). Sin embargo, debe hacerse notar que las encefalinas y B-endorfina son diferentes en cuanto a su distribución, sus precursores y a su afinidad por receptores (ver capítulo 1).

El hecho de que DALA no tuviera efecto cuando se administró antes de la observación sugiere que los péptidos opioides no participan en los mecanismos de inicio de la conducta sexual. Estos mecanismos, pueden ser llamados "motivación sexual" (Boach 1986). Aunque han sido poco estudiados los efectos de los opioides en procesos motivacionales, se ha descrito que los agonistas aumentan la ingestión de alimento, mientras que naloxona tiene el efecto opuesto (Harley y col. 1983; Sanger y col. 1983). Resultados similares se han descrito para la ingestión de agua (Carey y col. 1981). Puesto que la latencia para iniciar la ingestión de agua y de comida no se ve afectada por agonistas ni antagonistas de opioides, se ha sugerido que actúan sobre los mecanismos de recompensa determinando la terminación o el mantenimiento de una conducta (Reid y Siviy, 1983).

Aunque la conducta sexual es cualitativamente diferente de las conductas de ingestión y los resultados no pueden generalizarse por completo, puede suponerse que los mecanismos de recompensa en la conducta sexual son afectados por los opioides preferentemente. Se sabe que la conducta sexual es reforzante (Whalen, 1961); esto puede deberse a liberación de péptidos opioides en el transcurso de la conducta sexual. Así, las propiedades reforzantes de los opioides exógenos se sumaría a las producidas por la liberación de opioides endógenos. Si la eyaculación ocurre cuando se alcanza un "umbral reforzante", puede entenderse que se reduzcan el número de intromisiones y la latencia de eyaculación cuando se administra DALA. Aunque los procesos involucrados en la eyaculación no son del todo conocidos, se ha demostrado que la autoestimulación de las fibras del haz del cerebro medio anterior, donde se sabe que la estimulación eléctrica es altamente reforzante, produce emisiones seminales (Herberg, 1963). Esto puede indicar la activación de un mecanismo central eyaculatorio por medio de procesos reforzantes, y que las propiedades reforzantes de la eyaculación no son una

característica secundaria, sino parte de los mecanismos eyaculatorios. Es necesario hacer notar que la eyaculación puede ser de origen espinal, puesto que es posible provocarla tanto en animales como en el hombre con lesiones espinales (Beach y col. 1966; Zeitlin y col. 1957). Aún más, la eyaculación espontánea en la rata, probablemente de origen espinal, persiste después de lesionar el área preóptica y desaparecer la conducta sexual (Agmo y col. 1977). Esto sugiere que la eyaculación de origen espinal es independiente de la que se induce en la conducta sexual, siendo en esta última de vital importancia los mecanismos de recompensa.

Si la administración de DóLA produce un estado reforzante que facilita los mecanismos de eyaculación, es difícil explicar por que la administración del péptido 5 min antes de la observación careció de efecto. Sin embargo estudios de condicionamiento de lugar, han demostrado que la dosis mínima efectiva cuando se administra DóLA en el área ventral tegmental varía entre 100 ug (Phillips y col. 1983) y 6 ug (Elincher y col. 1984). De tal manera, la administración intracerebroventricular requiera probablemente de una mayor dosis para ser efectiva. Por lo que es posible que la dosis usada en el presente estudio (5 ug) fue incapaz de inducir un estado reforzante por sí misma. Cuando el péptido se administró después de la 1ª intromisión, donde pudo ocurrir liberación endógena, la dosis pudo entonces hacerse efectiva. La falta de efecto del péptido cuando se administró 5 o 60 min antes de la observación, en contraste con los claros efectos observados cuando se administró durante la observación, pueden apoyar la hipótesis de que los opéáceos endógenos se liberan durante la conducta sexual.

Una observación interesante en la presente investigación, es que el número de intromisiones y la latencia de eyaculación fueron similares para la 1ª y para la 2ª eyaculación en animales tratados con DóLA. Es bien conocido desde hace varios años que el

número de intromisiones necesaria para eyacular, así como la latencia de eyaculación se reducen para la 2ª eyaculación (Karen y Barfield, 1975; Larsson, 1956; Soullairac, 1963; Stone y Ferguson, 1940). Esto se observó regularmente en los animales tratados con solución salina (controles para DALA 5 ug: intromisiones para la 1ª y 2ª eyaculación ($F(1,12)=9.81$, $p=.0008$); latencia de eyaculación ($F(1,12)=9.81$, $p=.0008$). Controles para DALA 10 ug: intromisiones ($F(1,4)=29.77$, $p=.006$); latencia de eyaculación ($F(1,4)=278.68$, $p=.0003$). Sin embargo, los animales tratados con 10 ug de DALA después de la 1ª intromisión necesitaron del mismo número de intromisiones tanto para la 1ª como para la 2ª eyaculación ($F(1,4)=6.93$, NS), y tuvieron la misma latencia de eyaculación ($F(1,4)=.78$, NS). Los animales tratados con 5 ug de DALA después de la 1ª intromisión necesitaron menos intromisiones para lograr la 2ª eyaculación que para la primera ($F(1,12)=6.64$, $p=.02$), pero tuvieron la misma latencia de eyaculación ($F(1,12)=1.13$, NS). Por lo tanto, es posible que los cambios conductuales producidos por la eyaculación, facilitación de la conducta sexual subsecuente, se deban a una liberación de opáceos endógenos.

Otra consecuencia de la eyaculación es un aumento en el intervalo posteyaculatorio. Este incremento es pequeño entre la 1ª y la 2ª eyaculación (Karen y Barfield, 1975; Soullairac, 1963) y no siempre fue evidente en los experimentos realizados en este trabajo. Sin embargo, se encontró que el incremento en el intervalo posteyaculatorio entre la 1ª y la 2ª serie fue significativo en los animales tratados con 5 ug de DALA después de la 1ª intromisión ($F(1,12)=11.75$, $p=.005$), al igual que para sus controles respectivos ($F(1,12)=12.13$, $p=.004$). Parece entonces, que el incremento en el intervalo posteyaculatorio no se vio afectado por DALA. Se ha propuesto que existe un mecanismo común que controla tanto la disminución en el número de intromisiones como la reducción en la latencia de eyaculación;

mientras que el incremento en el intervalo posteyaculatorio depende de un mecanismo diferente (Maren y Darfield, 1975). Los presentes resultados coinciden con esta hipótesis.

Tabla 10. Ejecución rotora en ratas macho tratadas con naloxona, morfina y DALA. N=10 para cada dosis

Tratamiento			Numero de caídas/3 min (media±EE)
Agua		15 min	0.1±0.10
Naloxona	16 mg/kg	antes	0.2±0.13
Agua		5 min	0.8±0.35
Morfina	10 mg/kg	antes	1.8±0.66
Agua		60 min	1.5±1.17
Morfina	10 mg/kg	antes	2.5±1.65
Salina		5 min	0.4±0.13
DALA	10 ug	antes	0.2±0.30
Salina		60 min	0.7±0.36
DALA	5 ug	antes	0.5±0.29

Capítulo V. Conclusiones

El éxito de la copulación en la rata depende de un proceso constituido por dos etapas. Primero, el inicio del contacto sexual con una hembra (motivación sexual), y segundo el depósito de espermatozoides en la vagina por la eyaculación (capacidad sexual). Este proceso originalmente descrito por Beach (1956), ha sido de gran utilidad para los investigadores en este campo. Los datos de la presente investigación indican que la motivación sexual, reflejada como la latencia para iniciar la actividad sexual y el intervalo posteyaculatorio (Beach 1956), no se afecta por los opáceos. En ningún caso se registró un aumento en la latencia de montas o del intervalo posteyaculatorio, lo que concuerda con otros estudios (ver capítulo III.). Sin embargo, la administración de morfina redujo la proporción de animales que copularon, tanto en el presente trabajo como en estudios anteriores. Si se excluyen alteraciones motoras y perceptuales, la reducción se debe lógicamente a una disminución de la motivación sexual. Alteraciones motoras, como catalepsia, son descritas frecuentemente después de la administración de morfina. Sin embargo, en el presente trabajo, ninguna de las drogas utilizadas produjo alteraciones motoras que en otras investigaciones han demostrado que se correlacionan con una inhibición de la conducta sexual, (Agmo y col. 1987) como se describió en el capítulo IV. Por lo tanto, puede concluirse que la reducción en la proporción de animales que copularon después del tratamiento con morfina no se debe a alteraciones motoras. Tampoco parece posible que alteraciones perceptuales fuesen lo suficientemente severas para impedir la copulación. Como se mencionó anteriormente, la explicación más factible para estos efectos con morfina, es una reducción en la pulsión sexual producida por un estado reforzante inducido por el opáceo. Las

dosis usadas en el presente trabajo, se encuentran entre las que son reforzantes en el condicionamiento de preferencia de lugar (Mackey y van der Kooy 1985; Mucha y Iversen 1984). La reducción de la conducta sexual como consecuencia de una disminución en el nivel de la pulsión es un efecto motivacional. Sin embargo, si la motivación estuviese realmente disminuida, se esperaría encontrar un incremento en la latencia de montas así como del intervalo posteyaculatorio. En ninguno de los estudios con morfina, donde se han descrito datos conductuales completos, se ha observado este incremento (McIntosh y col. 1980; Meyerson 1981). Lo que se describe es que en una dosis morfina no tiene efecto, cuando esta se duplica, todos los animales dejan de copular. Dicho efecto de todo o nada no concuerda con un papel regulador de los opéáceos en la motivación sexual. Más bien, puede sugerir efectos inespecíficos, y el probable efecto inespecífico que pueda inducir la morfina es un estado reforzante. Por otro lado, DALA no tuvo efectos inhibitorios, y las dosis empleadas no producen un estado reforzante (Glimcher y col. 1984). En conclusión, es poco probable que los opéáceos estén involucrados en la motivación sexual, aunque son capaces de inhibir la conducta sexual.

Se han encontrado efectos inhibitorios similares a los de la morfina con diferentes drogas GABAérgicas, y un análisis cuidadoso de sus acciones conductuales llevó a la conclusión de que sus efectos inhibitorios sobre la conducta sexual son independientes de la conducta en sí (Ágao y Paredes 1985; Ágao y col. 1987). Aún más, se ha sugerido que cualquier droga puede inhibir cualquier conducta, si la dosis es suficientemente alta (Kelleher y Morse 1968). Las dosis de morfina usadas en la presente investigación y en otros estudios pueden considerarse altas. La ED50 para la administración subcutánea de morfina en la prueba "tail-flick" de analgesia es de 2.5 mg/kg. En contraste, la ED50 para DALA cuando se inyecta en los ventrículos cerebrales

es de 0.7 ug en la misma prueba (Brady y Holtzman 1982); este es, por arriba de la dosis mínima usada en la presente investigación.

La capacidad sexual se vio afectada tanto por morfina como por DALA. Los efectos de la morfina se limitaron a los experimentos en los que la morfina se administró 60 min antes de la observación, y con la dosis baja, a la segunda serie copulatoria. DALA tuvo que administrarse después de la primera intromisión para ser efectiva, afectando principalmente la primera serie copulatoria. Independientemente de esto los efectos fueron consistentes. Morfina redujo la latencia de eyaculación, mientras que DALA redujo tanto la latencia de eyaculación como el número de intromisiones. Aún más, DALA hizo la primera eyaculación indistinguible de la segunda con respecto al número de intromisiones y la latencia de eyaculación, mientras que morfina no produjo estos efectos. Parece razonable suponer que morfina fue mucho menos efectivo que DALA. Esto puede deberse al hecho de que morfina actúa preferentemente en los receptores μ , o que el tiempo de administración es crítico. La falta de efectos de naloxona apoyaría la primera posibilidad.

Resumiendo, la presente investigación ha demostrado que los opéáceos pueden facilitar la capacidad sexual sin afectar la motivación sexual. Se propone que la eyaculación se logra cuando se alcanza un umbral de recompensa y que los péptidos opéoides pueden contribuir para alcanzar este nivel. La facilitación de la capacidad sexual parece deberse a una facilitación de los mecanismos eyaculatorios lo que puede indicar que los péptidos opéoides se liberan durante la actividad sexual, como se sugirió por Saechtman y col. (1981). Esta facilitación se refleja en una latencia de eyaculación más corta y un menor número de intromisiones en la segunda serie copulatoria. Para confirmar esta hipótesis, es necesario administrar inhibidores de la encefalinasa antes del inicio de la conducta sexual, para ver si es posible replicar los efectos de DALA. También sería de

utilidad administrar antagonistas específicos del receptor delta, esperando un incremento en la latencia de eyaculación y en el número de intromisiones antes de esta.

Referencias

- Adler, M., Lin, C., Keinath, S., Braverman, S. & Saller, E. (1976). Anticonvulsant action of acute morphine administration in rats. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 198, 658-670.
- Agmo, A. & de Avila, N. (1985). Interactions between enkephalin and dopamine in the control of locomotor activity in the rat: A new hypothesis. Pharmacology Biochemistry & Behavior, 22, 599-603.
- Agmo, A. & Parades, R. (1985). GABAergic drugs and sexual behavior in the male rat. European Journal of Pharmacology, 112, 371-378.
- Agmo, A., Parades, R. & Fernandez, H. (1987). Differential effects of GABA transaminase inhibitors on sexual behavior, locomotor activity and motor execution in the male rat. Pharmacology Biochemistry & Behavior, 29, 47-53.
- Agmo, A., Sculairac, H.L. & Sculairac, A. (1977). Preoptic lesions, sexual behavior and spontaneous ejaculation in the rat. Scandinavian Journal of Psychology, 19, 345-347.
- Akil, H., Watson, S.J., Young, E., Lewis, H.E., Khachaturian, H. & Walker, J.M. (1994). Endogenous opioids: Biology and function. Annual Review of Neuroscience, 7, 223-255.
- Babbini, M. & Davis, M. M. (1972). Time-dose relationships for locomotor activity effects of morphine after acute or repeated treatment. British Journal of Pharmacology, 26, 213-224.
- Beach, F.A. (1956). Characteristics of masculine "sex drive". In M.R. Jones (Ed.), Nebraska Symposium on Motivation: (pp. 1-32). Lincoln: University of Nebraska Press.
- Beach, F.A., Westbrook, W.H. & Clemans, L.G. (1963). Comparison of the ejaculatory response in men and animals. Psychosomatic Medicine, 25, 749-767.

- Becker, P. (1903) Notiz über die Bedeutung des heroins als anaphrodesiacus; Citado em: Pfau, J.G., & Borzalka, B.B., (1987) Opioids and sexual behavior. Neuroscience and Biobehavioral Reviews, 11, 1-24.
- Bellinger, L. L., & Williams, F.F. (1983). Suppressive effects of naloxone on food and water intake in vagotomized rats. Physiology and Behavior, 29, 273-276.
- Denton, D., Drain, G. & Brain, P.F. (1984). Comparison of the influence of the opiate delta receptor antagonist ICI 154,129 and naloxone on social interaction and behavior in an open field. Neuropharmacology, 23, 13-17.
- Blake, M.J., Stein, E.G. & Vowachik A.J. (1983). The effects of exercise training on brain endogenous opioid systems. Society of Neuroscience Abstracts, 9, 620
- Bloom, F., Bayon, A., French, E., Roob, G., Lemoal, H., Rossier, S., Shoemaker, W. & Guillemin, R. (1977). Endorphins: Developmental, endocrinological and behavioral actions. En: R. MacIntyre & D. Szolke (edit.), Molecular Endocrinology (pp.39-53).Elsevier/North-Holland: Biomedical Press.
- Brady, L.S. & Holtzman, S.G. (1981). Effects of intraventricular morphine and enkephalins on locomotor activity in nondependent, morphine-dependent and postdependent rats. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 216, 613-620.
- Brady, L.S. & Holtzman, S.G. (1982). Analgesic effects of intraventricular morphine and enkephalins in nondependent and morphine-dependent rats. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 222, 190-197.
- Brantl, V., Gramsch, CH., Lottspeich, F., Henschén, G., Jaeger, K.H. & Herz, G. (1985). Novel opioid peptides derived from mitochondrial cytochrome b: cytochromophins. European Journal of Pharmacology, 111, 293-294.
- Brantl, V., Gramsch, CH., Lottspeich, F., Herz, G., Jaeger, K.H.

- & Herz, A. (1985). Novel opioid peptides derived from hemoglobin: hemorhins. *European Journal of Pharmacology*, **125**, 309-310.
- Byrd, L.D. (1983). Cardiovascular effects of naloxone, naltrexone and morphine in the squirrel monkey. *Life Science*, **32**, 391-398.
- Carey, M.P., Ross, J.A. & Ems, M.P. (1981). Naloxone suppresses feeding and drinking but not wheel running in rats. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, **17**, 569-571.
- Castellano, C. & Puglisi-Allegra, S. (1982). Effects of naloxone and naltrexone on locomotor activity in C57BL/6 and DBA/2 mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **16**, 119-124.
- Cicero, T.J., Owens, D.P., Schaefer, P.F. & Meyer, E.R. (1983). Opiate-induced enhancement of the effects of naloxone on serum luteinizing hormone levels in the male rat: Specificity of μ agonists. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **225**, 770-775.
- Cicero, T.J., Wilcox, D.E., Bell, R.D. & Meyer, E.R. (1980). Naloxone-induced increases in serum luteinizing hormone in the male: mechanisms of action. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **212**, 573-578.
- Coderre, T.S. & Rollman, G.B. (1983). Naloxone hyperalgesia and stress-induced analgesia in rats. *Life Science*, **32**, 2139-2146.
- Cowan, A. & Tortella, F.C. (1982). A quantitative analysis of the shaking behavior induced in rats by bremorphin and [d-alal²-met⁵] enkephalinamide. *Life Science*, **30**, 171-176.
- Cherubini, E. & North, R.A. (1985). μ and κ opioids inhibit transmitter release by different mechanisms. *Proceedings National Academy of Science USA*, **82**, 1860-1863.
- Danassa, D.A., Smith, E.R., Tennent, B. & Davidson, J.H. (1977). The relationship between circulating testosterone levels and male sexual behavior in rats. *Hormones and Behavior*, **8**.

275-286.

- DeWied, D., Rohus, B., VanRae, J.N. & Urban, J. (1970). Behavioral and electrophysiological effects of peptides related to lipotropin (B-LPH). Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 204, 570-580.
- Drust, E.G. & Connor, J.D. (1983). Pharmacological analysis of shaking behavior induced by enkephalins, thyrotropin-releasing hormone or serotonin in rats: Evidence for different mechanisms. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 234, 148-154.
- Dua, A.K. & Pinsky, L. (1985). delta-Opioid modulation of striatal dopaminergic activity in mice. Canadian Journal of Neural Sciences, 12, 60-64.
- Faden, A.I. & Feuerstein, G. (1983). Hypothalamic regulation of the cardiovascular and respiratory systems: Role of specific opiate receptors. British Journal of Pharmacology, 29, 997-1002.
- Farrell, P.A., Gustafson, A.E., Garthwaite, T.L., Malinoff, R.L., Cowley, A.W. & Morgan, W.P. (1986). Influence of endogenous opioids on the response of selected hormones to exercise in humans. Journal of Applied Physiology, 61, 1051-1057.
- Fields, H.L., Eason, P.C., Leigh, B.R., Gilbert, R.F. & Iverson, L.L. (1980) Multiple opiate receptor sites on primary afferent fibers. Nature, 281, 351-352.
- Foote, F. & Gale, K. (1983). Morphine potentiates seizures induced by GABA antagonists and attenuates seizures induced by electroshock in the rat. European Journal of Pharmacology, 25, 257-264.
- Frenk, H. (1983). Pro- and anticonvulsant actions of morphine and the endogenous opioids: Involvement and interactions of multiple opiate and non-opiate systems. Brain Research Reviews, 9, 197-210.
- Frenk, H. & Rogers, G.H. (1979). The suppressant effects of

- naloxone on food and water intake in the rat. Behavioral and Neural Biology, 20, 23-40.
- Fry, J.P., Ziegler-Schaberger & Herz, A. (1977). Specific versus non-specific actions of opioids on hippocampal neurons in the rat brain. Brain Research, 160, 295-305.
- Geller, E.B., Hawk, G., Keinath, G.H., Tallarida, R.J. & Adler, M.W. (1983). Subclasses of opioids based on body temperature change in rats: acute subcutaneous administration. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 229, 391-398.
- Gessa, G.L., Paglietti, E. & Pellegrini Guarantelli, B. (1977). Induction of copulatory behavior in sexually inactive rats by naloxone. Science, 201, 203-205.
- Glimcher, P.W., Giovino, A., Margolin, D.H. & Hoebel, E.G. (1984). Endogenous opiate reward induced by an enkephalinase inhibitor, thiorphan, injected into the ventral midbrain. Behavioral Neuroscience, 59, 262-268.
- Goddard, G.V., McIntyre, D.C. & Leech, C.K. (1969). A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. Experimental Neurology, 25, 293-330.
- Gosder, M.E., Lane, J.D. & Smith, J.F. (1984). Self administration of methionine enkephalin into the nucleus accumbens. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 22, 451-455.
- Goodman, R.E., Snyder, S.H., Kuhar, H.J. & Young, W.S. (1980). Differentiation of delta and mu opiate receptor localizations by light microscopic autoradiography. Proceedings National Academy of Science USA, 77, 6237-6241.
- Gosnell, B. A., Levine, A.S. & Morley, J.E. (1982a). The stimulation of food intake by selective agonists of mu, kappa and delta opioid receptors. Life Sciences, 32, 1031-1038.
- Gosnell, B. A., Morley, J. E. & Levine, A.S. (1982b). Opioid-induced feeding: Localization of sensitive brain sites. Brain Research, 242, 177-184.
- Graber, B., Blake, C., Gartner, J. & Wilson, J. (1984). The

effects of opiate Receptor-blockage on male sexual responses: En: R. Seagraves & E. Haerberle (Edit.), Emerging Dimensions of Sexology, (pp.233-260) New York: Praeger Scientific.

Grandison, L. & Guidotti, A. (1977). Stimulation of food intake by muscinol and beta endorphin. Neuropharmacology, 16, 533-536.

Hardy, G., Fanksepp, J., Rossi, J. & Zolovick, A.J. (1980). Naloxone facilitates amygdaloid kindling in rats. Brain Research, 122, 293-297.

Harston, C.T., Spirtes, M.A., Dunlap, W.P. & Coy, D.H. (1980). Naloxone-reversible effects of d-alal²-met⁵-enkephalinamide induced behavioral activity in rats. Behavioral and Neural Biology, 30, 1-19.

Havemann, U. & Ruscinsky, K. (1985). Locomotor activity of rats after injection of various opioids into the nucleus accumbens and the septum mediale. Neuro-Schwarzsberg's Archives of Pharmacology, 331, 175-180.

Herberg, L.J. (1963). Seminal ejaculation following positively reinforcing electrical stimulation of the rat hypothalamus. Journal of Comparative and Physiological Psychology, 56, 679-685.

Hetta, J. (1977). Effects of morphine and naltrexone on sexual behavior of the male rat. Acta Pharmacologica Toxicologica (Copenh), Suppl 4, 53-60.

Hollister, L. (1975). The mystique of social drugs and sex: En H. Sandler & G. Cassa (Edit.), Sexual Behavior Pharmacology and Biochemistry, (pp. 85-92). New York: Raven Press.

Holtmann, S.G. (1974). Behavioral effects of separate and combined administration of naloxone and d-amphetamine. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 189, 51-60.

Hughes, J. (1975). Isolation of an endogenous compound from the brain with properties similar to morphine. Brain Research,

88, 295-308.

- Hughes, J., Smith, T.W., Kosterlitz, H.W., Fothergill, L.A., Morgan, B.A. & Morris, H.R. (1975). Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity. *Nature*, **258**, 577-579.
- Iyengar, S., Kim, H.S. & Wood, P.L. (1986). Effects of Kappa opiate agonists on neurochemical and neuroendocrine indicators: Evidence for Kappa receptor subtypes. *Life Sciences*, **32**, 637-644.
- Kaan, H. (1891). Moralische deprivation in ethischer und sexueller sphaere bei chronischem morphinismus. *Zeitschrift für Ethnologie und Pfunde*, **1**, 1-34.
- J.G., & Gorska, B.B. (1987) Opioids and sexual behavior. *Neuroscience and Biobehavioral Sciences*, **11**, 1-34.
- Kalivas, P.W., Widerlow, E., Stanley, D., Broese, G. & Frange, A.J. (1983). Enkephalin action on the mesolimbic system: A dopamine-dependent and a dopamine-independent increase in locomotor activity. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **227**, 229-237.
- Karen, L.M. & Barfield, R.J. (1975). Differential rates of exhaustion and recovery of several parameters of male rat sexual behavior. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, **88**, 693-703.
- Kastin, A., Scollan, E., King, M., Schally, A. & Coy, D. (1976). Enkephalin and a potent analog facilitate maze performance after intraperitoneal administration in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **5**, 691-695.
- Kelleher, R.T. & Morse, W.H. (1963). Determinants of the specificity of behavioral effects of drugs. *Ergebnisse der Physiologie, Biologische Chemie und Experimentelle Pharmakologie*, **60**, 1-34.
- Khachaturian, H., Lewis, M.E., Martin, K., Schafer, H. & Watson, S.J. (1985). Anatomy of the CNS opioid systems. *Trends in Neurosciences*, **8**, 111-117.

- Kirkham, T.C. & Blundell, S.E. (1987). Effects of naloxone and naltrexone on meal patterns of freely feeding rats. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 26, 515-520.
- Konisaruk, R.R. & Wallman, J. (1977). Antinociceptive effects of vaginal stimulation in rats: Neurophysiological and behavioral studies. Brain Research, 127, 85-107.
- Larsson, K. (1956). Conditioning and sexual behavior in the male albino rat. Stockholm: Almqvist & Wiksell.
- Lee, R.J., Bajorek, J.G. & Lomas, P. (1983). Opioid peptides and seizures in the spontaneously epileptic mongolian gerbil. Life Science, 33, 567-570.
- Lewis, M.E., Pert, A., Pert, C.B. & Herkenham, H. (1983). Opiate receptor localization in rat cerebral cortex. Journal of Comparative Neurology, 216, 357-368.
- Lieblisch, I., Baum, M.J., Diamond, P., Goldblum, N., Iser, C., Pick, G. (1985). Inhibition of mating by naloxone or morphine in recently castrated, but not intact, male rats. Pharmacology Biochemistry & Behavior, 22, 361-364.
- Lord, J.A., Waterfield, A.A., Hughes, J. & Kosterlitz, H.W. (1977). Endogenous opioid peptides: Multiple agonists and receptors. Nature, 267, 495-499.
- Hackey, W.B. & van der Kooy, D. (1985). Neuroleptics block the positive reinforcing effects of amphetamine but not of morphine as measured by place conditioning. Pharmacology Biochemistry & Behavior, 22, 101-105.
- Maier, S.F., Sherman, J.E., Lewis, J.W., Terman, G.W. & Liebeskind, J.C. (1983). The opioid/nonopioid nature of stress-induced analgesia and learned helplessness. Journal of Experimental Psychology, 9, 80-90.
- Martin, G.E. & Racine, C.D. (1979). Action of intracerebrally injected beta-endorphin on the rat's core temperature. European Journal of Pharmacology, 52, 227-236.
- McConnell, S.K., Baum, H.J. & Badger, T.M. (1981). Lack of

- correlation between naloxone-induced changes in sexual behavior and serum LH levels in male rats. Hormones and Behavior, 15, 14-35.
- McIntosh, T.K., Vallano, H.L. & Barfield, R.J. (1980). Effects of morphine, b-endorphin and naloxone on catecholamine levels and sexual behavior in the male rat. Pharmacology Biochemistry & Behavior, 13, 435-441.
- McKnight, A.T., Corbett, A.D., Marcoli, M. & Kostelitz, H.W. (1985.) The opioid receptors in the hamster vas deferens are of the μ type. Neuropharmacology, 24, 1011-1017.
- McLean, S., Rothman, R.B. & Herkenham, M. (1986). Autoradiographic localization of μ - and δ -opioid receptor in the forebrain of the rat. Brain Research, 328, 49-60.
- Mendelson, J., Ellingboe, J., Kuenhle, J. & Mello, N. (1979). Effects of naltrexone on mood and neuroendocrine function in normal adult male. Psychoneuroendocrinology, 3, 231-236.
- Mendelson, J., Ellingboe, J., Kuenhle, J. & Mello, N. (1980). Heroin and naltrexone effects on pituitary-gonadal hormones in man. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 214, 503-506.
- Meyerson, B.J. (1981). Comparison of the effects of b-endorphin and morphine on exploratory and sociosexual behaviour in the male rat. European Journal of Pharmacology, 62, 453-463.
- Meyerson, B.J. & Torenus, L. (1977). b-endorphin and male sexual behavior. European Journal of Pharmacology, 42, 191-192.
- Mirin, S., Meyer, R., Mendelson, J. & Ellingboe, J. (1980). Opiate use and sexual function. American Journal of Psychiatry, 137, 709-715.
- Misra, A.L., Pontani, R.B., Vadlamani, N.L. & Mule, S.J. (1976). Physiological disposition and biotransformation of allyl-1'-3'-¹⁴C naloxone in the rat and some comparative observations on nalorphine. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 196, 257-260.

- Morley, J.E., Levine, A.S., Yin, G.K. & Lowy, M.T. (1983). Opioid modulation of appetite. Neuroscience & Biobehavioral Reviews, 7, 281-305.
- Moskowitz, A.S. & Goodman, R.R. (1985a). Autoradiographic analysis of Mu1, Mu2, and delta opioid binding in the central nervous system of (57BL/6BY and CXDX opioid receptor-deficient) mice. Brain Research, 360, 106-116.
- Moskowitz, A.S. & Goodman, R.R. (1985b). Autoradiographic distribution of Mu1 and Mu2 opioid binding in the mouse central nervous system. Brain Research, 360, 117-127.
- Mucha, R.F. & Iversen, S.D. (1984). Reinforcing properties of morphine and naloxone revealed by conditioned place preference: A procedural examination. Psychopharmacology, 82, 241-247.
- Mumford, L. & Kumar, R. (1979). Sexual behavior of morphine-dependent and abstinent male rats. Psychopharmacology, 65, 179-185.
- Murphy, M.R. (1981). Methadone reduces sexual performance and motivation in the male syrian golden hamster. Pharmacology Biochemistry & Behavior, 14, 561-567.
- Murphy, M.R., Bowie, D. & Pert, C. (1979). Copulation elevates plasma D-endorphin in the hamster. Society of Neuroscience Abstracts, 5, 470.
- Myers, B.M. & Baum, M.J. (1979). Facilitation by opiate antagonists of sexual performance in the male rat. Pharmacology Biochemistry & Behavior, 10, 615-619.
- Myers, B.M. & Baum, M.J. (1980). Facilitation of copulatory performance in male rats by naloxone: Effects of hypophysectomy, 17 α -estradiol, and luteinizing hormone releasing hormone. Pharmacology Biochemistry & Behavior, 12, 365-370.
- Oka, T. & Hosoya, E. (1977). The different effect of humoral modulators on the morphine and central nervous system

- stimulant induced hyperactivity of rats. Neuropharmacology, 16, 115-119.
- Olson, G.A., Olson, R.D. & Kastin, A.J. (1984). Endogenous opiates: 1983. Peptides, 5, 975-992.
- Olson, G.A., Olson, R.D. & Kastin, A.J. (1986). Endogenous opiates: 1985. Peptides, 7, 907-933.
- Olson, G.A., Olson, R.D., Kastin, A.J. & Coy, D.H. (1979). Endogenous opiates: through 1978. Neuroscience and Biobehavioral Reviews, 3, 285-299.
- Olson, G.A., Olson, R.D., Kastin, A.J. & Coy, D.H. (1980). Endogenous opiates: 1979. Peptides, 1, 345-379.
- Pasternak, G.W., Childers, S.R. & Snyder, S.H. (1980). Opiate analgesia: evidence for mediation by a subpopulation of opiate receptors. Science, 209, 514-516.
- Pazos, A. & Florczak, S. (1983) Interaction of naloxone with μ - and δ -opioid agonists on the respiration of rats. European Journal of Pharmacology, 87, 309-314.
- Pellegrini Quarantotti, B., Corda, M.G., Paglietti, E., Biggio, G. & Gessa, G.L. (1978). Inhibition of copulatory behavior by d-alanine-enkephalinamide. Life Sciences, 23, 673-678.
- Pellegrini Quarantotti, B., Paglietti, E., Bonanni, A., Petta, M. & Gessa, G.L. (1979). Naloxone shortens ejaculation latency in male rats. Experientia, 35, 524-525.
- Pfaus, J.G., & Gorzalka, B.B. (1987). Opioids and sexual behavior. Neuroscience and Biobehavioral Reviews, 11, 1-34.
- Phillips, A.G., LePiane, F.G. & Fibiger, H.C. (1983). Dopaminergic mediation of reward produced by direct injection of enkephalin into the ventral tegmental area of the rat. Life Sciences, 33, 2505-2511.
- Reid, L.D. & Sivity, S.M. (1983). Administration of opiate antagonists reveals endorphinergic involvement in reinforcement processes. Neurobiology of Opiate Reward Processes, 2, 257-279.

- Rothman, R.B. & Westfall, T.C. (1983). Interaction of leucine enkephalin with (³H)naloxone binding in rat brain: Evidence for an opioid receptor complex. Neurochemical Research, 8, 913-931.
- Sachs, B.D., Valcourt, R.J. & Flagg, H.C. (1981). Copulatory behavior and sexual reflexes of male rats treated with naloxone. Pharmacology Biochemistry & Behavior, 14, 251-253.
- Sanger, D.J., McCarthy, P.S., Lord, J.A.H. & Smith, C.F.C. (1983). The anorectic properties of opiate antagonists. Drug Development Research, 3, 137-142.
- Sawynock, J., Pinsky, C. & LaBella, F.S. (1979). On the specificity of naloxone as an opiate antagonist. Life Sciences, 25, 1621-1632.
- Schindler, C.W., Lamb, M.R., Gormezano, I. & Harvey, J.A. (1983). Effects of morphine, ethylketocyclazocine and N-allylnormetazocine on acquisition of the classically conditioned nictitating membrane response. Society Neuroscience Abstracts, 9, 382.
- Schnur, F., Bravo, F., Trujillo, M. & Rocha, S. (1983). Biphasic effects of morphine on locomotor activity in hamsters. Pharmacology Biochemistry & Behavior, 18, 357-361.
- Schwark, W.S., Frey, H.H. & Czuczwar, S.J. (1986). Effect of opiates on the parameters of seizures in rats with full amygdaloid-kindled convulsions. Neuropharmacology, 25, 837-844.
- Sforzo, G.A., Seeger, T.F., Pert, C.B., Pert, A. & Dotson, C.D. (1986). In vivo opioid receptor occupation in the rat brain following exercise. Medicine and Science in Sports and Exercise, 18, 380-384.
- Snee, M.L. & Overstreet, D.H. (1976). Alterations in the effects of dopamine agonists and antagonists on general activity of rats following chronic morphine treatment. Psychopharmacology, 42, 125-130.

- Soulairac, M.L. (1963). Etude expérimentale des régulations hormonopercyueuses du comportement sexuel du rat mâle. [Experimental study of the neuroendocrine regulation of sexual behavior in the male rat]. Paris: Masson.
- Steinman, J.L., Komisaruk, B.R., Yaksh, T.L. & Tyce, G.M. (1983). Spinal cord monoamines modulate the antinociceptive effects of vaginal stimulation in rats. Pain, 16, 155-166.
- Stone, C.P. & Ferguson, L.W. (1940). Temporal relationships in the copulatory acts of adult male rats. Journal of Comparative Psychology, 30, 419-433.
- Szechtman, H., Hershtkowitz, M. & Simantov, R. (1981). Sexual behavior decreases pain sensitivity and stimulates endogenous opioids in male rats. European Journal of Pharmacology, 70, 279-285.
- Tepperman, F.S., Hirst, M. & Smith, P. (1983). Brain and serum levels of naloxone following peripheral administration. Life Sciences, 33, 1071-1076.
- Terenius, L. (1978). Endogenous peptides and analgesia. Annual Review of Pharmacology and Toxicology, 18, 129-203.
- Terenius, L. & Wahlestrom, A. (1975). Search for an endogenous ligand for the opiate receptor. Acta Physiologica Scandinavica, 91, 74-81.
- Terman, G.W., Lewis, J.W. & Liebeskind, J.C. (1983). Opioid and non opioid mechanisms of stress analgesia: Lack of cross-tolerance between stressors. Brain Research, 260, 147-150.
- Tseng, L.F., Wei, E.T., Loh, H.H. & Li, C.H. (1980). b-endorphin: Central sites of analgesia, catalepsy and body temperature changes in rats. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 214, 328-332.
- Vindrola, O., Briones, R., Asai, M. & Fernandez-Guardiola, A. (1981). Brain content of leu-5 and met-5 enkephalin changes independently during the development of kindling in the rat.

- Neuroscience Letters, 26, 125-130.
- Walker, J.M., Benntson, G.G., Paulucci, T.S. & Chaapney, T.C. (1981). Blockade of endogenous opiates reduces activity in the rat. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 14, 113-116.
- Watkins, L.R., Cobelli, D.A., Faris, P., Aceto, M.D. & Nayer, D.J. (1982). Opiate vs non-opiate footshock-induced analgesia (FSIA): The body region shocked, is a critical factor. Brain Research, 308, 242-279.
- Whalen, R.E. (1961). Effects of mounting without intromission and intromission without ejaculation on sexual behavior and maze learning. Journal of Comparative and Physiological Psychology, 54, 405-412.
- Whipple, B. & Komisaruk, B.R. (1985). Elevation of pain threshold by vaginal stimulation in women. Pain, 21, 357-367.
- Wiesenfeld-Hallin, Z. & Sodersten, P. (1984). Spinal opiates affect sexual behavior in rats. Nature, 309, 257-258.
- Wuster., H., Schulz, R. & Herz, A. (1979). Specificity of opioids towards the mu, delta and epsilon opiate receptors. Neuroscience Letters, 15, 199-204.
- Zeitlin, A.B., Cottrell, T.L. & Lloyd, F.A. (1957). Sexology of the paraplegic male. Fertility and Sterility, 8, 337-341.
- Zhang, A.Z. & Pasternak, G.W. (1980). Mu and delta opiate receptors: correlation with high and low affinity opiate binding sites. European Journal of Pharmacology, 67, 323-324.