



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán

EFEECTO DEL CLORHIDRATO DE NALOXONA SOBRE
LA FUNCIÓN TESTICULAR DEL PERRO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

P R E S E N T A N

LUISA ELVIRA SÁNCHEZ FLORES

SONIA LUNA CHIMAL

Asesor: M. en C. Ismael Hernández Ávalos

Coasesores: Dr. José Gabriel Ruiz Cervantes

Dr. Armando Enrique Esperón Sumano



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Índice	Páginas
1. Resumen.....	2
2. Introducción.....	3
3. Revisión de la Literatura.....	6
3.1. Embriología y anatomía del aparato reproductor del canino macho.....	6
3.2. Péptidos opioides endógenos (POE) y su control sobre la reproducción.....	22
3.3. Efectos neuroendócrinos de los POE en el perro.....	33
3.4. Características farmacológicas de la Naloxona (Nx).....	36
4. Objetivo general	43
5. Objetivos particulares.....	43
6. Hipótesis.....	43
7. Materiales y métodos.....	44
8. Resultados	48
9. Discusión.....	54
10. Conclusiones.....	57
11. Literatura citada.....	58

1. Resumen.

Con el propósito de evaluar el efecto del clorhidrato de Naloxona (Nx), sobre los niveles séricos de testosterona en perros, se utilizaron 6 caninos machos mestizos con una edad promedio de 2.4 ± 0.66 años y un peso promedio de $7.67 \text{ kg} \pm 2.25 \text{ kg}$ al inicio del experimento, los cuales fueron seleccionados de forma aleatoria. El estudio fue desarrollado en dos fases, en la primera se obtuvieron 4 muestras de 2.5 ml de sangre cada tercer día de la vena cefálica, previa sujeción del perro, los días (-9), (-6) y (-3) del experimento. Estas muestras fueron centrifugadas a 800 gravedades de presión (1500 rpm) durante 5 minutos para separar el suero de la sangre. Una vez centrifugadas las muestras, se obtuvo 1 ml de suero plasmático, mismo que fue congelado a (-20 °C). Posteriormente, los niveles séricos de testosterona fueron medidos en base a la prueba de Enzimoimmuno Análisis con una dilución del conjugado de 1: 15000 y una dilución del anticuerpo de 1: 10000 desarrollada en el laboratorio de reproducción de la FMVZ de la UNAM. En la segunda fase se procedió a la administración de Naloxona (Nx) vía intramuscular (IM) a una dosis de 0.04 mg/ kg cada 24 horas durante 15 días. Las muestras de sangre se obtuvieron cada tercer día durante dos semanas que duró la administración de Nx, esto es los días 3, 6, 9, 12, 15, 18 y 21 de experimentación con el opioide. Los niveles séricos de testosterona fueron medidos de la misma forma. El análisis estadístico fue mediante análisis de varianza. Los niveles séricos de testosterona obtenidos antes del tratamiento fueron de $0.33 \pm 0.26 \text{ ng/ml}$ vs $1.79 \pm 1.51 \text{ ng/ml}$, con una diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$). Se concluye que la Nx incrementa los niveles séricos de testosterona en los caninos estudiados, por lo que se puede sugerir utilizarla en programas reproductivos en esta especie.

2. Introducción.

El sistema nervioso central (SNC) y el sistema endócrino se unen a través del sistema porta-hipotalámico-hipofisiario para coordinar las funciones gonadales (Hafez, 2002).

El sistema endócrino y el sistema nervioso funcionan para iniciar, coordinar o regular las funciones del sistema reproductor (Hafez, 2002).

En cuanto a su embriología el aparato reproductor del macho se origina del mesodermo. Este se encuentra formado por un par de gónadas llamadas testículos, los cuales tienen una función tanto exócrina como endócrina, ya que contribuyen en la formación de gametos masculinos (espermatozoides) y de hormonas (Frandsen, 2003; Dyce *et al*, 2007).

Los testículos como ya se mencionó tienen dos funciones, por una parte la producción de espermatozoides, mientras que la función endócrina del testículo se realiza mediante los endocrinocitos intersticiales (células de Leydig) responsables de la producción de testosterona y los endocrinocitos sustentaculares (células de Sertoli), éstas últimas responsables de la producción de inhibina (Frandsen, 2003; Dyce *et al*, 2007).

El aparato reproductor del perro también está formado por genitales internos, entre los cuales destacan los conductos deferentes, glándula accesoria (próstata) y uretra pélvica. Por otra parte, entre los genitales externos además de los testículos se encuentran el pene y prepucio (Galina, 2006).

El hipotálamo está formado por núcleos que a su vez están constituidos por grupos de neuronas especializadas. Así en el área preóptica y ventromedial del hipotálamo, se localizan las neuronas productoras de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH). (Galina, 2006; Hill, 2004).

La GnRH proviene de las células neuroendócrinas del hipotálamo controlando la liberación de las dos gonadotropinas hipofisarias: la hormona luteinizante (LH) y la hormona folículo estimulante (FSH), las cuales son necesarias para mantener el adecuado funcionamiento testicular.

La GnRH se une a receptores específicos en la membrana plasmática de las células gonadotropas de la hipófisis y estimula la liberación de LH y FSH (Simpson, 2000)

Los acontecimientos que siguen a la unión de la hormona y el receptor depende del tipo de hormona ya sean proteica, esteroidea o peptídica. Las hormonas proteicas como en el caso de la GnRH requieren de un intermediario ya que no son capaces de atravesar la membrana citoplasmática de la célula diana. El intermediario se conoce como segundo mensajero. El segundo mensajero es el AMPc, que se produce por la activación de una enzima, la adenilciclase, mediante la formación del complejo hormonal receptor en la membrana plasmática. La activación de la adenilciclase y la producción de AMPc producen la fosforilación de proteínas cinasas, que son las responsables de la respuesta biológica. (Cunningham, 2003)

Posteriormente, son los niveles de Testosterona circulante y de Inhibina los que mediante bucles de retroalimentación negativa controlan la liberación de ambas hormonas, de esta forma la concentración sanguínea de testosterona se mantiene prácticamente constante (Hill, 2004).

Entre los neurotransmisores que se han destacado en la expresión de la conducta reproductiva, se encuentran las endorfinas u opioides endógenos (Rosano, 1991).

En este sentido, los péptidos opioides endógenos (POE) son sustancias localizadas en el cerebro y otros órganos que inhiben tónicamente la liberación de gonadotropinas LH y FSH. (Hernandez *et al*, 2006). Lo anterior permite explicar que los opioides (principalmente la β -endorfina), sean capaces de bloquear la secreción de LH y FSH, por el contrario la administración de Naloxona (Nx) ejerce un bloqueo de receptores opiáceos incrementando de esta forma la liberación de ambas gonadotropinas (Franco, 1996).

En forma particular, las β -endorfinas modulan la secreción del GnRH e inhiben la liberación de la LH, sin embargo, también puede interferir con el efecto estimulador gonadotrópico sobre las gónadas para la producción de esteroides sexuales (Ciarica, 1994).

Al respecto, diversos investigadores concluyen en sus trabajos que los antagonistas de opiáceos como la Nx, al bloquear los receptores en el cerebro estimulan la liberación del GnRH tanto en hembras como en machos (Fuentes, 1991), así como las hormonas producidas en sus órganos blanco y en el caso particular de los machos, las hormonas esteroides como la testosterona (Ciarica, 1994).

3. Revisión de Literatura.

3.1 Embriología y anatomía del aparato reproductor del canino macho.

Desde el punto de vista embriológico, el aparato reproductor está íntimamente relacionado al urinario, de hecho con frecuencia se les engloba con el título común de aparato urogenital, donde incluso la uretra se utiliza para el paso de la orina y del líquido seminal (Frandsen, 2003; Dyce *et al*, 2007)

El sexo gonadal y el desarrollo de los genitales internos, dependen de la presencia o ausencia del cromosoma Y. Así por ejemplo, en embriones con un cromosoma Y completo se produce la diferenciación testicular de la gónada primitiva, tanto si el cariotipo es normal (46XY) como si es anormal por presencia de dos o más cromosomas X (47XXY y 48XXXXY, entre otros). En cambio, en ausencia de cromosoma Y (46XX o 45X0) se produce de forma pasiva la diferenciación de la gónada primitiva en ovario. (Keafer *et al.*, 1997)

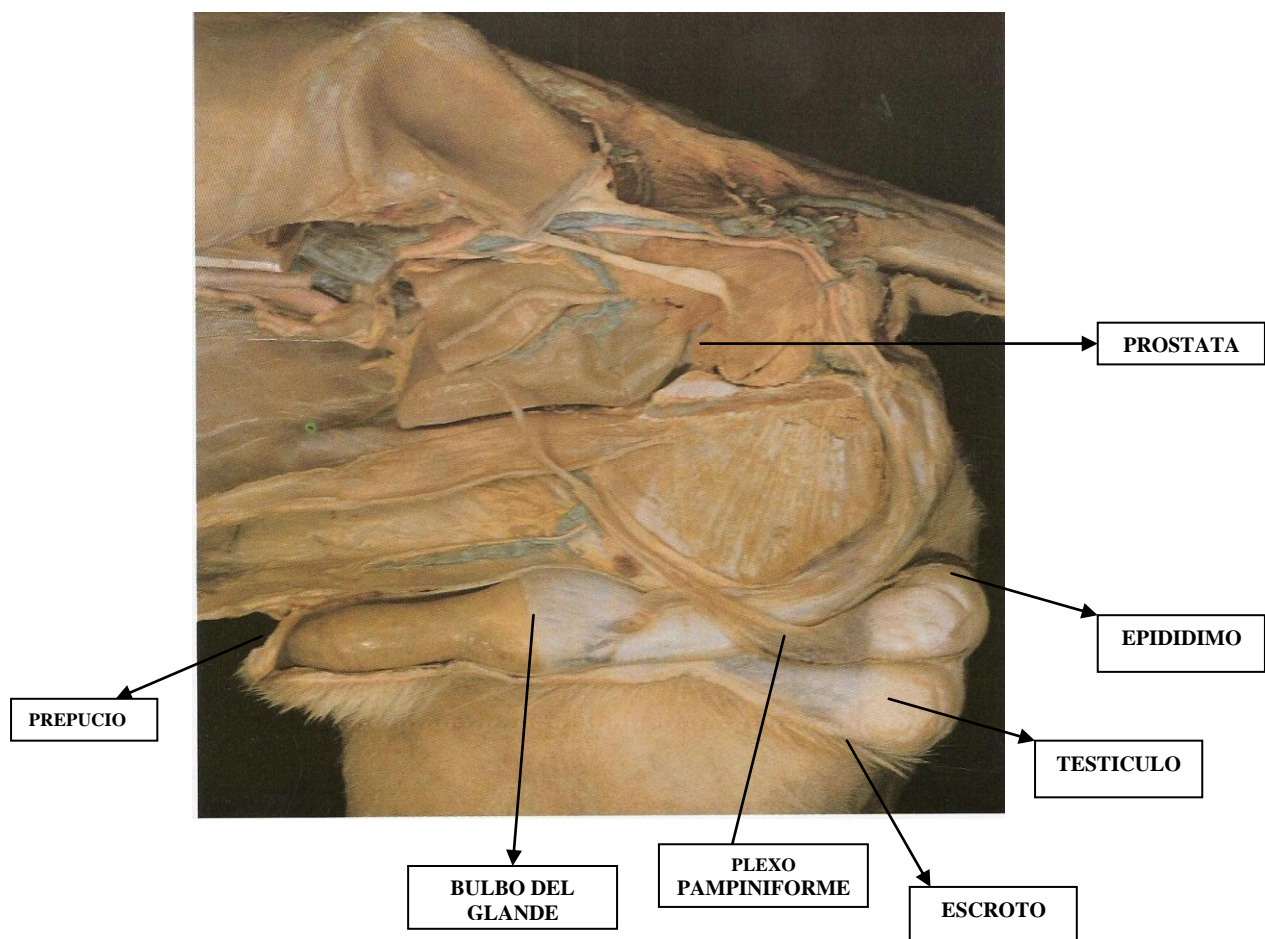
Posteriormente las gonadotropinas (placentarias y de la pituitaria fetal) estimulan la síntesis testicular de testosterona y MIS (*Müllerian Inhibiting Substance*, también conocida como *Antimüllerian Hormone* o AMH). De esta manera, la testosterona producida en las células de Leydig estimulará localmente la diferenciación del conducto de Wolff homolateral en deferente, vesícula seminal, epidídimo y conductos eyaculadores. Por otro lado, paralelamente la MIS de las células de Sertoli actúa también localmente inhibiendo el desarrollo de las estructuras müllerianas (trompa de Falopio, oviducto, útero y tercio superior de la vagina) (Olsina, 2001).

Así, el desarrollo de los genitales externos en el macho depende de la presencia sistémica de dihidrotestosterona (DHT) que estimula la elongación del tubérculo genital, conformando entonces el falo y traccionando los pliegues uretrales hasta formar la placa uretral en la parte ventral. Ante ello, a partir del tercer mes de vida fetal los pliegues uretrales se fusionan desde la

parte proximal a la distal formando la uretra hasta llegar al glande donde la misma se forma por crecimiento interior desde la punta (Kaefer *et al*, 1997).

El aparato reproductor del canino macho consta de un par de gónadas (testículos) contenidos en el escroto, órganos accesorios y el pene (órgano genital externo) (Figura 1). Los testículos elaboran los espermatozoides (células reproductoras) y la testosterona, que es la hormona sexual masculina. El escroto a la vez, que recubre los testículos, los mantiene a baja temperatura para que la producción de espermatozoides sea favorable (Frandsen, 2003; Dyce *et al*, 2007).

Figura 1 Anatomía del aparato reproductor del perro.



Tomado de color Atlas of Veterinary Anatomy the dog and cat (Done *et al*, 2009).

La edad en que ocurre normalmente el descenso testicular no ha sido bien definida tanto en caninos como en felinos, pero de forma particular, en los gatos el descenso testicular parece ser un fenómeno prenatal, mientras que en los perros es un evento postnatal, cuyo momento puede variar con la raza. Sin embargo, como regla general los testículos deberían de ser palpables dentro del escroto hacia las 6 – 7 semanas de edad en el perro, por lo que el criptorquidismo debería sospecharse si los testículos no son palpables dentro del escroto hacia las 8 – 10 semanas de edad (Sisson y Grossman 2003).

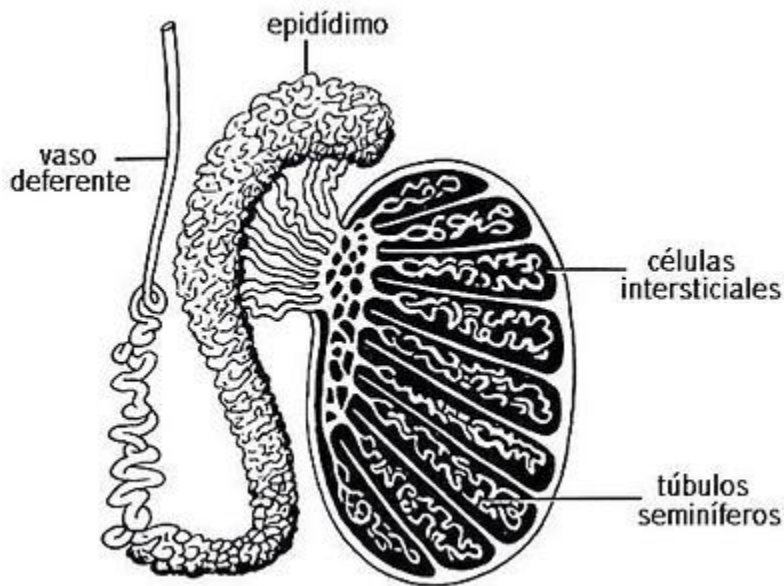
La cavidad escrotal posee una ubicación extraabdominal que es fundamental para el desarrollo espermático al brindar una diferencia de temperatura de ($- 2^{\circ}\text{C}$) con respecto a la corporal (Hill, 2004).

a) Testículos

Estas estructuras combinan componentes endócrinos y exócrinos. Al respecto, en el primer caso las funciones son realizadas por las células intersticiales o de Leydig (Orsola Y Faratti, 2001; Dyce *et al*, 2007) responsables de la producción de andrógenos y las células sustentaculares o de Sertoli, responsables de la producción de Inhibina (Frandsen, 2003; Dyce *et al*, 2007).

Los testículos son relativamente pequeños y tienen forma oval o redondeada cuyo volumen no guarda una proporción fija con el tamaño del cuerpo (Dyce *et al*, 2007). En este sentido, el eje mayor del testículo es oblicuo y está dirigido dorso – caudalmente. El mediastino testicular está en posición central y bien desarrollado; este da origen a un tabique de tejido conectivo que divide los testículos en lóbulos incompletos, quienes contienen túbulos seminíferos (figura 2), que a su vez tienen las células de Sertoli y las células germinales que están relacionados con la producción de espermatozoides, es decir con la función exócrina (Hafez, 2002).

Figura 2. Conformación del testículo.



Tomada de Frandson *et al*, 2003.

Los túbulos seminíferos, están rodeados de una recia cápsula fibrosa llamada túnica albugínea. A partir de esta última y hacia el interior se encuentran varios tabiques fibrosos o trabéculas, cuyo conjunto forma una red o estroma, la cual se encarga del soporte de los túbulos (Frandson, 2003; Dyce *et al*, 2007).

b) Epidídimo

Este órgano es largo y envuelto sobre sí mismo, por lo que se encuentra íntimamente unido a lo largo de la parte dorsal de la superficie lateral del testículo (Hafez, 2002). Anatómicamente se divide en tres partes denominadas cabeza, cuerpo y cola además de que se considera la conexión entre los vasos eferentes y conductos deferentes, favoreciendo el paso de los espermatozoides (Dyce *et al*, 2007).

La cabeza del epidídimo está orientada al mismo polo del testículo por donde penetran nervios y vasos (Dyce *et al*, 2007). Por otro lado, el cuerpo se localiza paralelamente al eje mayor del testículo y en ese caso se crea un espacio intermedio llamado bolsa testicular (*bursa*

testicularis), en tanto que la cola del epidídimo se continúa con el conducto deferente, el cual regresa por el cuerpo del epidídimo hasta la región de la cabeza donde entra en el cordón espermático. La función principal de este órgano llamado epidídimo es la maduración de los espermatozoides, ya que es aquí donde adquieren la capacidad de fecundar al óvulo, antes de que lleguen al momento de ser impulsados al exterior (Frandsen, 2003).

c) Conducto deferente

Es un tubo muscular que en el momento de la eyaculación, impulsa los espermatozoides desde el epidídimo hacia el conducto eyaculador de la uretra prostática. El conducto deferente sale de la cola del epidídimo, atraviesa el conducto inguinal como parte del cordón espermático y en el anillo inguinal interno se dirige bruscamente en dirección caudal, separándose de los vasos y nervios del cordón (Dyce *et al*, 2007).

El cordón espermático comienza en el anillo inguinal profundo, donde sus partes constituyentes se juntan, se extiende de forma oblicua y ventralmente a través del canal inguinal, pasa junto al pene para terminar en el borde de inserción del testículo. Este cordón se forma por las siguientes estructuras: (Hafez, 2002).

- Arteria testicular
- Venas testiculares, que forman el plexo pampiniforme alrededor de la arteria
- Vasos linfáticos que acompañan a las venas
- Plexo testicular de nervios autónomos, que van junto a la arteria
- Conductos deferentes arteria y vena
- Haces de tejido muscular liso alrededor de los vasos (antes considerado como músculo cremáster interno)
- Capa visceral de la túnica vaginal (Hafez, 2002).

El cordón espermático y la túnica vaginal son largos, cruzan al lado del pene muy oblicuamente. El extremo superior de la túnica se encuentra algunas veces cerrado, de modo que no existe anillo vaginal (Hafez, 2002). Al acercarse a la uretra, de cada lado convergen y siguen

en dirección posterior en posición dorsal con respecto a la vejiga, envueltos en un pliegue del peritoneo denominado pliegue urogenital o genital (Dyce *et al*, 2007).

d) Escroto

Está situado cerca de la mitad entre la región inguinal y el ano. Es un saco cutáneo que en tamaño, forma y situación se adapta a los testículos que contiene. La piel del escroto es fina, plegable y relativamente sin pelo, no obstante es un saco muscular y cutáneo con poco tejido graso (Dyce *et al*, 2007).

Está bien suplido por glándulas sudoríparas, es bastante contráctil y su función es mantener los testículos a una temperatura menor que la de la cavidad abdominal, en ello interviene también el plexo pampiniforme y la posibilidad de acercar los testículos a la cavidad por medio del músculo cremaster (Cervantes,1994).

Inmediatamente por debajo de la capa externa cutánea se encuentra otra de tejido fibroelástico llamada túnica dartos; quien también contribuye con la termorregulación de los testículos (Dyce *et al*, 2007).

La túnica dartos pasa entre los dos testículos, de modo que el saco escrotal queda dividido en dos espacios, uno para cada glándula. Entre la túnica dartos y la fascia profunda mas interna hay una leve capa de tejido conectivo areolar, conocida por fascia superficial (Frandsen, 2003; Dyce *et al*, 2007).

Por otra parte, en el escroto se encuentran tres capas de fascia profunda y que son difíciles de separar por disección, posiblemente derivadas de la aponeurosis de los tres músculos abdominales (oblicuo externo, oblicuo interno y transversal abdominal) (Dyce *et al*, 2007).

La capa externa del peritoneo que cubre al testículo es la túnica vaginal común o parietal, que en la parte interna de la fascia profunda del escroto se confunde con ella. Por otro lado, el ligamento escrotal derivado del *gubernaculum testis*, es una lámina del tejido conectivo extendida desde la cola del epidídimo hacia el escroto (Frandsen, 2003; Dyce *et al*, 2007).

Debido a que el *gubernaculum testi* siempre queda fuera de la cavidad peritoneal, es decir, es un elemento retroperitoneal, la túnica *vaginalis communis* y la túnica *vaginalis* propia (*visceralis*) se refleja alrededor del ligamento. En los fetos masculinos y femeninos, las gónadas se originan en la región sublumbar inmediatamente caudales con respecto al riñón. En el momento en que el testículo entra en el escroto, queda envuelto en la expansión de la túnica vaginal que previamente también pasó desde el abdomen al escroto (Dyce *et al*, 2007).

La capa superficial (lámina *parietalis*) del peritoneo que tapiza el escroto, se llama túnica vaginal común y corresponde al peritoneo parietal de la cavidad abdominal. De esta manera, la capa profunda del peritoneo llamada túnica vaginal propia, cubre íntimamente a la albugínea del testículo y epidídimo, así como al contenido del cordón espermático. Por otra parte, el mesorquio es una fina capa doble de peritoneo que reúne las capas visceral y parietal de la túnica vaginal, del mismo modo que el mesenterio reúne las capas visceral y parietal del peritoneo abdominal (Dyce *et al*, 2007).

La doble capa del peritoneo que se une con el conducto deferente se llama mesoducto deferente. Al descender el testículo desde su origen en la región próxima al polo posterior del riñón, se lleva vasos y nervios que le eran propios en el embrión. Estos elementos anatómicos, vasos y nervios espermáticos, forman parte activa muy importante del cordón espermático, donde por supuesto, está también contenido el conducto deferente que conecta la cola epididimaria con la uretra prostática (porción de la uretra rodeada de la glándula prostática). Algunas fibras de músculo liso, distribuidas a lo largo del cordón espermático, forman lo que se llama músculo cremáster interno, el cual mantiene unidos todos los órganos del cordón (Frandsen, 2003).

e) Pene

El pene es el órgano masculino de la cópula y se divide en tres secciones distintas; glante, que es la extremidad libre, cuerpo intermedio, y las dos raíces, insertadas en el arco isquiático de la pelvis (Frandson, 2003; Dyce *et al*, 2007).

La estructura interna del pene la conforma el tejido cavernoso (tejido eréctil), el cual consiste en sinuosidades vasculares separadas por tabiques de tejido conectivo (septos), derivados de la túnica albugínea (Dyce *et al*, 2007).

Las dos raíces peneanas se insertan en la superficie caudal del arco isquiático a cada lado de la sínfisis, mismas que convergen formando el *corpus penis* (cuerpo del pene). Ventral al cuerpo se encuentra la uretra rodeada del *corpus spongiosum penis (cavernosum urethrae)*. Al respecto, el *corpus spongiosum penis* es una continuación del tejido eréctil del *bulbus penis* (bulbo uretral) situado entre las raíces del pene (Frandson 2003; Sisson, 2003; Dyce *et al*, 2007).

El glante del perro consta de dos partes. La *pars longa y el bulbos*, ambas rodeadas de un hueso acanalado, el hueso peneano, (*os penis*) (Hafez 2002; Dyce *et al* 2007). Su parte craneal, llamada *pars longa glandis (glans)* (Dyce *et al*, 2007) es cilíndrica con un extremo libre puntiagudo y caudalmente existe un alargamiento redondeado, llamado bulbo del glante (Hafez 2002). La parte caudal del pene del perro (bulbo) generalmente se dilata desde el principio de la cópula, lo que explica las dificultades de separación hasta que la erección ha cedido (Dyce *et al*, 2007).

f) Prepucio

Este es un pliegue invaginado de piel que rodea la extremidad libre del pene y que tiene la función de protegerlo del medio externo. Sin embargo, es una estructura que puede retraerse fácilmente durante la erección y el coito (Dyce *et al*, 2007).

El prepucio forma una vaina completa alrededor del pene. La capa más externa es ordinariamente tegumento. Las capas internas son delgadas, de color rojizo y aglandulares. La capa peneal esta muy unida al glante y menos al bulbo del glante. En estas capas hay muchos nódulos linfáticos que son especialmente grandes y a menudo prominentes en el fondo de la

cavidad prepucial. Los musculos protectores emergen de la región xifoidea y bajan caudalmente alrededor de la extremidad del prepucio (Sisson *et al*, 2001; Frandson; 2003).

g) Glándula accesoria.

En este sentido, cabe destacar que en el caso del perro la única glándula accesoria documentada es la próstata y que ha sido descrita como una estructura impar que rodea más o menos la uretra pélvica. (Frandson 2003, Sisson, 2003; Dyce *et al*, 2007).

Esta glándula secreta una buena parte del líquido seminal, indispensable para transportar los espermatozoides o como medio de su nutrición y amortiguador contra el exceso de acidez del conducto genital femenino (Dyce *et al*, 2007).

La próstata es relativamente grande, de color amarillento y con una estructura densa; que se localiza a la altura del borde craneal del pubis o cerca de él, a diferencia de lo observado en el gato donde la pared ventral queda libre rodeando el cuello de la vejiga y la uretra durante su unión (Sisson, 2003; Dyce *et al*, 2007). En ambos casos, tanto en perros como en gatos existe un surco medio que indica una división en dos lóbulos laterales. La cápsula y estroma contienen gran cantidad de músculo liso, por lo que los conductos son numerosos (Sisson, 2003; Dyce *et al*, 2007). Los lóbulos de tejido prostático se encuentran también en la pared de la uretra a corta distancia, en sentido más bien caudal. La glándula está sujeta a muchas variaciones en tamaño y a menudo esta alargada; especialmente en los animales viejos. La posición de la próstata varía, cuando la vejiga está vacía y contraída, la glándula está totalmente en la cavidad pelviana y puede tener 2.5 cm o más, caudal al borde del pubis. Por otro lado, cuando está llena, la próstata se ubica en posición casi totalmente prepúbica (Hafez, 2002).

h) Músculos de los genitales masculinos

El músculo cremáster externo está formado por las fibras caudales del músculo oblicuo interno. Pasa por el conducto inguinal junto con la expansión vaginal y se inserta en la túnica vaginal común (Sisson, 2003; Dyce *et al*, 2007).

Por otro lado, el músculo cremáster interno es un conjunto de fibras lisas diseminadas entre los conductos del cordón espermático (Dyce *et al*, 2007).

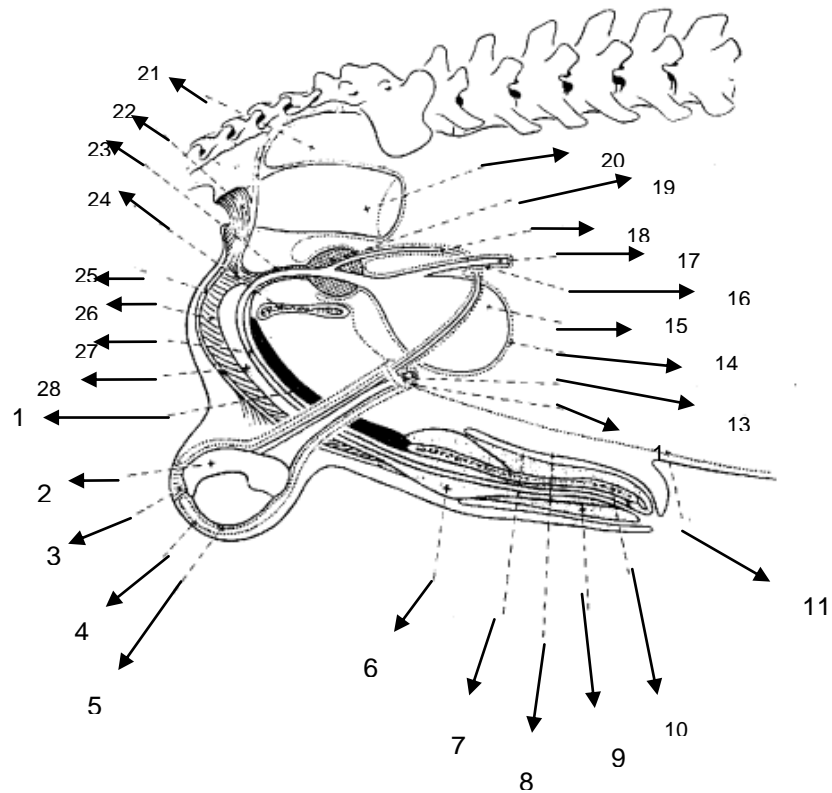
Otra estructura importante es el músculo uretral, que es la continuación en la pelvis de las fibras lisas parietales de la vejiga y que anatómicamente rodea la porción pélvica de la uretra, cuya función es hacer avanzar la orina o el líquido seminal por sus contracciones peristálticas (Sisson, 2003; Dyce *et al*, 2007).

La continuación extra pélvica del músculo uretral es el músculo bulbocavernoso. Sus fibras se disponen transversalmente sobre el cuerpo cavernoso uretral, para insertarse en la albugínea peneana de cada lado. El músculo bulbocavernoso prosigue la acción peristáltica del músculo uretral (Dyce *et al*, 2007)

Por otra parte, los músculos isquiocavernosos son estructuras estriadas y que cubren a cada lado la cara superficial de las raíces respectivas. Ambos convergen desde su punto de origen a los lados del arco isquiático, en dirección al cuerpo del pene. En este sentido, la contracción de estos músculos atrae al pene contra la pelvis en dirección dorso – craneal, lo que ayuda a la erección, pues así se comprime parte del drenaje venoso del mismo (Dyce *et al*, 2007).

Los músculos retractores del pene son de fibras lisas y son estructuras pares que derivan de los ligamentos suspensorios del ano; a cada lado del mismo siguen ventralmente, para converger detrás del cuerpo del pene. Los dos músculos avanzan en relación ventral con la uretra, hasta el mismo glande, donde se insertan en la albugínea (Figura 3). Después de la erección, los retractores hacen regresar al pene cuando esta flácido hacia dentro del prepucio (Dyce *et al*, 2007).

Figura 3. Aparato genital del perro (vista lateral)



Tomado de elblogdeperros.com

- | | |
|---------------------------------------|---------------------------------------|
| 1. Cuerpo cavernoso | 2. Epidídimo |
| 3. Ligamento de la cola del Epidídimo | 4. Túnica vaginal parietal |
| 5. Túnica vaginal visceral | 6. Bulbo del glande |
| 7. Capa visceral del prepucio | 8. Capa parietal del prepucio |
| 9. Porción larga del glande | 10. Hueso peniano |
| 11. Peritoneo parietal | 12. Anillo vaginal |
| 13. Arteria, vena y nervio testicular | 14. Peritoneo visceral |
| 15. Vejiga | 16. Ligamento lateral de la vejiga |
| 17. Uréter | 18. Conducto deferente |
| 19. Próstata | 20. Recto |
| 21. Fascia pararrectal | 22. Músculo del esfínter anal externo |
| 23. Músculo uretral | 24. Sínfisis pelviana |

25. Músculo retractor del pene

26. Músculo bulboesponjoso

27. Uretra

28. Cuerpo esponjoso

i) Irrigación e inervación de los genitales masculinos

Los testículos están irrigados por la arteria espermática interna que es una rama directa de la arteria aorta y que emerge de ella poco después de la arteria renal. Esta se prolonga de igual manera que el descenso testicular en el escroto. Del mismo modo, la vena espermática interna sigue el trayecto de la arteria, excepto porque al llegar a la proximidad del testículo es más tortuosa. Todas estas venas serpentinadas forman una masa inmediatamente encima del testículo que se denomina plexo pampiniforme, remanente de la circulación porta renal, propia del riñón de animales inferiores como anfibios y reptiles (Dyce *et al*, 2007).

La arteria pudenda interna se distribuye principalmente por el pene, vejiga, uretra y glándulas accesorias. Las ramas terminales de este tronco generalmente comprende la arteria del bulbo uretral, la profunda peneana y la dorsal del pene, la cual corre por esta región junto con la vena y el nervio del mismo nombre. La porción craneal de la arteria dorsal del pene deriva de la pudenda externa, después de haber pasado por el conducto inguinal (Frandsen, 2003; Sisson, 2003; Dyce *et al*, 2007).

La inervación del testículo es principalmente de carácter autónomo, derivada de los plexos renal y mesentérico caudal. Al igual que las arterias y venas, las fibras nerviosas acompañan a la arteria espermática interna (Dyce *et al*, 2007).

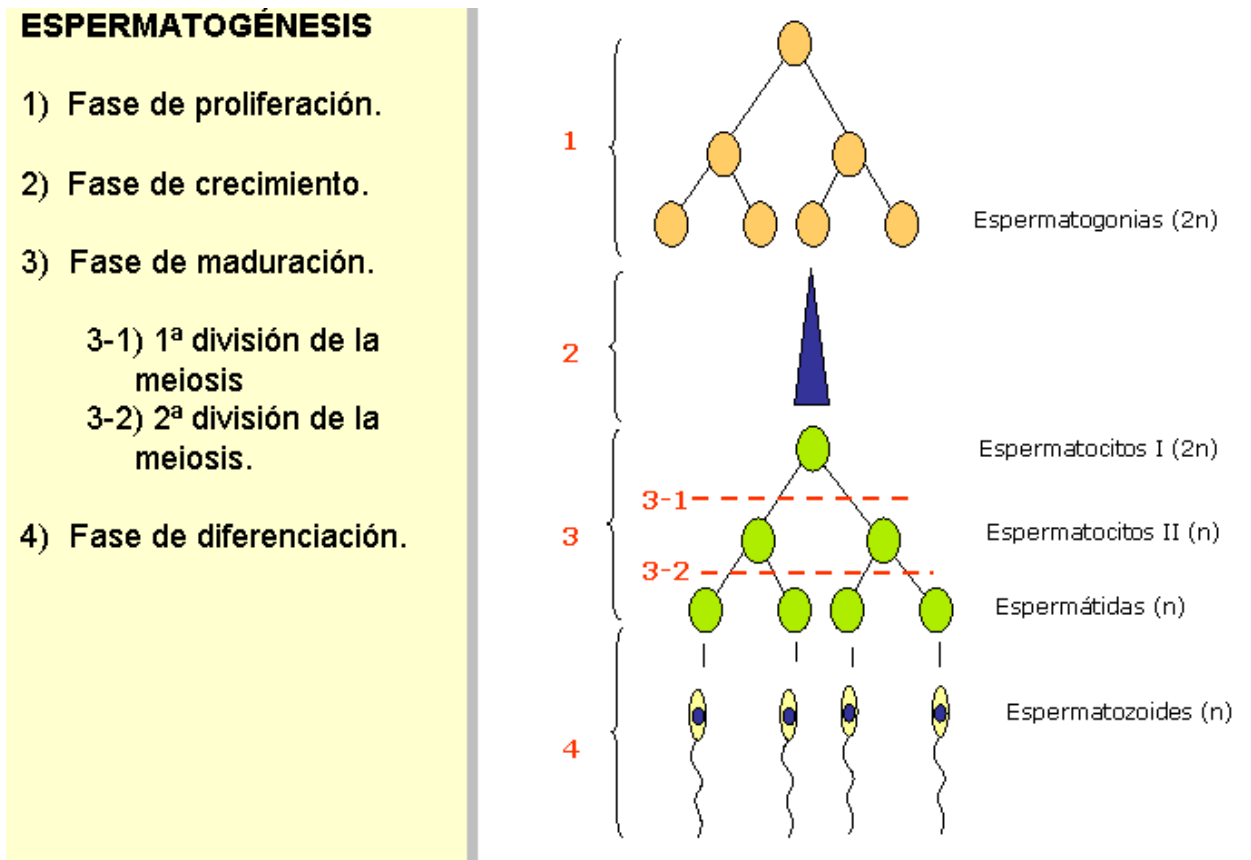
El nervio dorsal del pene es continuación del nervio pudendo, derivado de las ramas ventrales de los nervios sacros. Cruza el arco isquiático y transita por la región dorsal peneana hasta terminar arborizándose en el glande. Las fibras sensitivas de esta última región forman la rama aferente de los reflejos para la erección y eyaculación, cuyos centros están situados en la porción lumbar de la médula (Frandsen, 2003; Dyce *et al*, 2007).

3.2 Espermatogénesis en el perro.

La gametogénesis es un proceso que conduce a la formación de espermatozoides al cual se le conoce como espermatogénesis. La espermatogénesis es la suma de transformaciones que finalizan con la formación de espermatozoides a partir de espermatogonias (Simpson 2000).

La espermatogénesis comienza inducida por la FSH (hormona folículo estimulante), producida en el lóbulo anterior de la hipófisis, no obstante, no es la única hormona que participa en este proceso fisiológico, ya que se hace necesaria la presencia de testosterona para cumplir la espermatogénesis (figura. 4). Las gonadotropinas de la hipófisis regulan directamente la mitosis y la meiosis de las células germinativas e indirectamente la maduración de las espermátides. En tanto, las células de Leydig están estimuladas por un control pulsátil de la gonadotropina LH (hormona luteinizante que en los machos se puede llegar a nombrar ICSH u hormona estimulante de las células intersticiales) para producir testosterona (Dyce *et al*, 2007). Esta última actúa por medio de un mecanismo de compensación para evitar que se produzca más ICSH. El testículo produce mínimas cantidades de estrógenos (hormona sexual femenina), sin embargo, su función en el organismo masculino es desconocida, aunque se sugiere que puede actuar como inhibidor de la producción de FSH (Dyce *et al*, 2007).

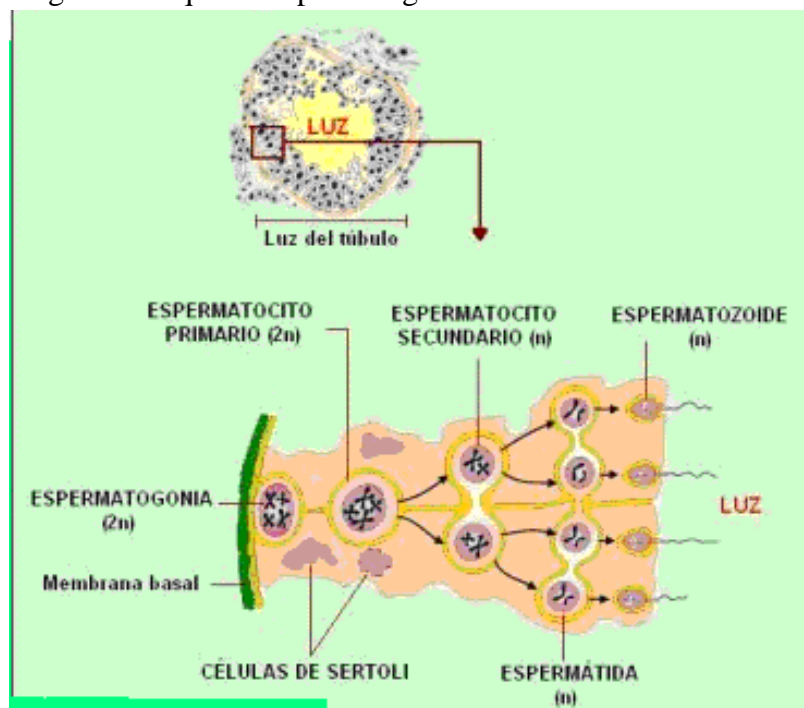
Figura. 4. Fases Espermatogénesis.



Tomado de <http://s3.amazonaws.com/lcp/biologia-cb/myfiles>

Los túbulos seminíferos contienen dos clases de células, en primera instancia las de Sertoli, que sostienen y nutren a las células germinales y por otro lado, las del epitelio germinal que contiene las espermatogonias. Estas últimas se dividen constantemente y al formarse nuevas células, migran hacia la luz de los túbulos, donde adquieren colas y se convierten en espermatozoides (Figura. 5) (Dyce *et al*, 2007).

Figura. 5 Esquema espermatogénesis en túbulos seminíferos.



Tomado de <http://hnnncbiol.blogspot.com>

La cantidad total de cromosomas se divide durante el proceso de meiosis. En esencia, la meiosis implica dos divisiones celulares con una sola replicación de DNA, en los testículos en vías de desarrollo. Los cromosomas son la estructura del núcleo de cada célula que se componen básicamente de genes, quienes son los determinadores hereditarios y que son transmitidos de una generación a la siguiente (Dyce *et al*, 2007).

Las espermatogonias son células especializadas situadas en la periferia de los túbulos seminíferos y que aumenta con el número de mitosis. Por otra parte, los espermatocitos primarios son producidos a partir de las espermatogonias, quienes migran hacia el centro del tubo y experimentan división meiótica, durante su migración los cromosomas se unen en pares y luego un cromosoma de cada par se dirige hacia cada uno de los dos espermatocitos secundarios. Así, el número de cromosomas se reduce a la mitad en los espermatocitos secundarios. Finalmente, estos últimos se dividen por mitosis, formando entonces cuatro espermatídes (Frandsen, 2003; Dyce *et al*, 2007).

Cada espermátide experimenta una serie de cambios que van desde una célula no móvil hasta una célula móvil (célula con movimiento), ya que desarrollan un flagelo (cola) para finalmente formar un espermatozoide. (Figura 4). Estas células derivan de células germinales que tras madurar en su paso por el epidídimo pueden fecundar un óvulo, sin embargo se convierten en activamente móviles hasta que son expuestos al material secretado por la glándula prostática. (Frandsen, 2003; Dyce *et al*, 2007).

De las cuatro células espermáticas desarrolladas de cada espermatocito primario, dos células contienen el cromosoma Y para producir descendencia masculina (XY) y dos contienen el cromosoma X para producir descendencia femenina (XX) cuando se unen con el óvulo, el cual contiene el cromosoma X (Dyce *et al*, 2007).

Las células de Sertoli (llamadas también células sustentaculares), están esparcidas entre las células sexuales dentro de los túbulos seminíferos, cuya función es nutrir a las espermátides en maduración y posiblemente favorecen la producción de andrógenos y estrógenos (Dyce *et al*, 2007).

Cada espermatozoide consta de cabeza, pieza intermedia y cola. De esta manera, el núcleo que se extiende por un tercio de la longitud de la cabeza, contiene el material genético necesario para la fecundación del óvulo. Por otro lado, la pieza intermedia ha sido descrita como el motor del espermatozoide, pues las mitocondrias se concentran en esta región. Estos organelos contienen los sistemas enzimáticos que llevan a cabo el ciclo de Krebs y por tanto, el transporte de electrones y la fosforilación oxidativa, produciendo la energía en forma de ATP necesaria para la movilidad de los espermatozoides (Dyce *et al*, 2007).

Finalmente, la cola es una estructura casi comparable a los flagelos y que constan de dos centriolos asentados en la parte terminal de la pieza intermedia a partir de las cuales se extienden unas fibrillas que se dirigen a la cola. Hay dos fibrillas centrales, rodeadas de un anillo de nueve pares periféricos que son contráctiles y producen el movimiento de la cola del espermatozoide (Dyce *et al*, 2007).

A su paso por el epidídimo, los espermatozoides inmaduros tienen las siguientes modificaciones: en primer lugar desaparece un elemento citoplasmático denominado como gotas citoplasmáticas; después disminuye el contenido de agua y por lo mismo aumenta su peso específico, ocurriendo con ello algunas alteraciones en su concentración iónica (Dyce *et al*, 2007).

Los movimientos de los espermatozoides en las vías genitales masculinas deben ser enteramente pasivos, debido a que la actividad propia de estas células solo se manifiesta después de mezclarse con las secreciones de la glándula sexual accesoria en el momento de la eyaculación. Al respecto, se ha propuesto la formación de corrientes líquidas aprovechadas por las células reproductivas para trasladarse de los túbulos hasta el epidídimo, a la vez que a esa migración seguramente contribuye también las secreciones de las células de Sertoli y las del músculo liso (Frandsen, 2003;Dyce *et al*, 2007).

De esta forma, en el epidídimo ocurren movimientos peristálticos que hacen avanzar a los espermatozoides. Particularmente en el perro, muchos espermatozoides se acumulan en la cola del epidídimo donde sobreviven un lapso desconocido y en espera inmóvil. No obstante, al igual que en otras especies, los espermatozoides no eyaculados son fagocitados finalmente por el epidídimo, como ocurre en los animales vasectomizados (Dyce *et al*, 2007).

3.2 Los péptidos opioides endógenos (POE) y su control sobre la reproducción

En términos generales, los conceptos de opiáceo y opioide han sido utilizados indistintamente, sin embargo como introducción al estudio de los POE es necesario establecer diferencias entre ambos. Al respecto, los opiáceos son fármacos derivados del opio, por lo que en este grupo se encuentran la morfina, codeína y unos veinte alcaloides más. Por otra parte, el término opioide es más amplio, pues se aplica a todos los agonistas, agonistas parciales y antagonistas con actividad semejante a la morfina, lo mismo que a los péptidos opioides naturales y/o sintéticos (Reisine y Pasternak, 1996; Lorenzana, 1998; Gutstein y Akil, 2003).

En cuanto a su relación con la reproducción, la presencia de sustancias parecidas a la morfina en el seno del SNC está respaldada por suficientes evidencias experimentales. En este sentido, observaciones realizadas en pacientes bajo medicación con metadona o adictos a otros derivados del opio, indican que estos, manifiestan anormalidades en sus funciones reproductivas. Así, en la mujer, el empleo intermitente de heroína altera los ciclos menstruales, mientras que en el varón, no afecta las concentraciones circulantes de LH y testosterona, pero puede afectar la libido (Kania y Domanski, 1996; Reisine y Pasternak, 1996; Fuentes *et al.*, 2004).

Posteriormente, se comenzó a documentar con mayor precisión la existencia de sustancias parecidas a la morfina en el seno del SNC, llamándoles a estos productos naturales en forma genérica como endorfinas y posteriormente debido a su estructura química se les atribuyó el nombre de POE. Inmediatamente después del descubrimiento de estos opioides en el cerebro, se hizo evidente la importancia de estudiar su mecanismo de acción en la modulación del dolor (Gutstein y Akil, 2003), así como su participación en la regulación de la secreción de las hormonas relacionadas con la actividad reproductiva (Reisine y Pasternak, 1996; Fuentes *et al.*, 1997a; Ruiz, 2004).

Al respecto, desde hace aproximadamente tres décadas ha quedado demostrado que los POE producen un extenso efecto sobre los sistemas neuronales del encéfalo y sobre la glándula pituitaria, modificando con ello la actividad secretora de las neuronas hipotalámicas. Una revisión sobre el tema hace referencia al control que ejercen los POE sobre las neuronas secretoras de GnRH e incluso propone un modelo que ayuda a entender cómo se realiza esta actividad en las células de la región preóptica del hipotálamo y la interacción existente entre los POE, la GnRH y las gónadas (Bicknell, 1985).

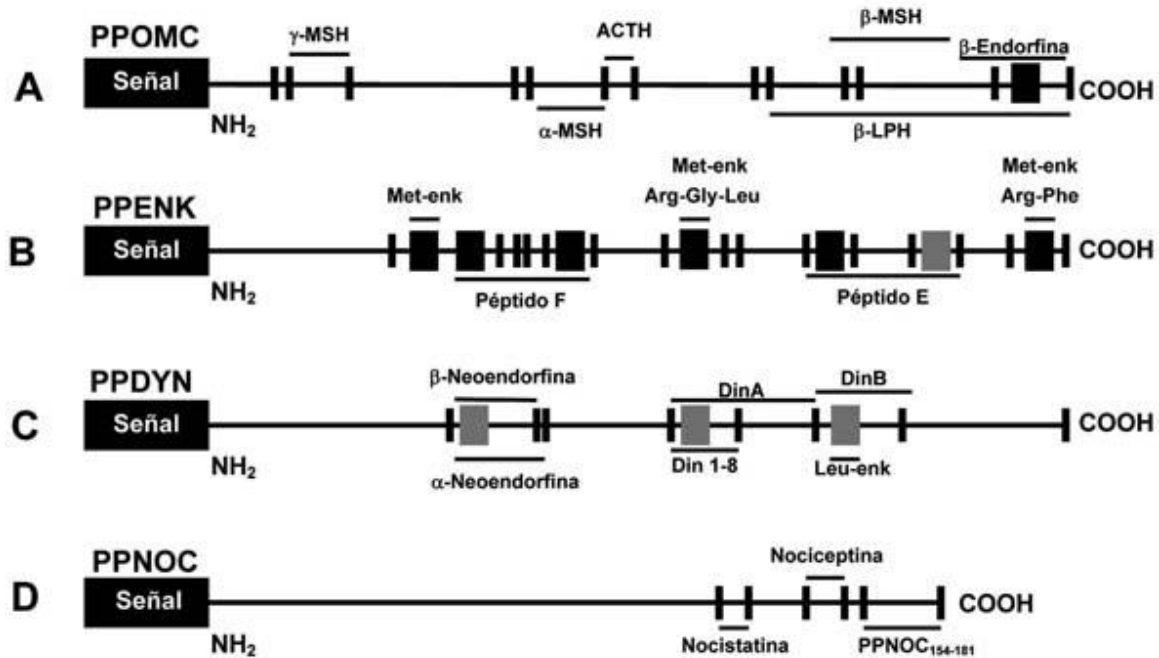
Se han identificado tres familias distintas de POE, entre las cuales se describen a las *encefalinas*, *beta-endorfinas* y *dinorfinas*, donde cada familia deriva de un polipéptido precursor diferente y tiene una distribución anatómica característica. Estos precursores se designan en la actualidad con los nombres de proencefalina (proencefalina A), proopiomelanocortina (POMC) y prodinorfina (proencefalina B). Por lo que respecta a la POMC, esta se convierte en hormona estimulante del melanocito (γ -MSH), adrenocorticotropina (ACTH) y β -lipotropina (β -LPH). En

esta última, dentro de la secuencia de 91 aminoácidos se encuentra la β -endorfina y la β -MSH. Aunque la β -endorfina contiene la secuencia para la metencefalina y su terminación amino, no se convierte en ese péptido; la metencefalina deriva más bien del procesamiento de la proencefalina. Por otro lado, la prodinorfina produce más de siete péptidos que contienen leuencefalina, entre ellos puede segmentar hasta dinorfina A, dinorfina B y α β -neoendorfina, que difieren entre sí por un aminoácido (Reisine y Pasternak, 1996; Russell *et al.*, 1999; Villarejo *et al.*, 2000; Gutstein y Akil, 2003; Puig, 1998; Stein, 1993).

Al respecto, en la figura 6 se muestra un esquema de los genes que codifican para la formación de POE, donde se observa lo siguiente:

- A. La POMC y sus segmentos que dan origen a la γ -MSH, ACTH, β -LPH, β -endorfina y β -MSH.
- B. La preproencefalina (PPENK) y sus fragmentos metionina-encefalina o también llamado metencefalina (Met-enk).
- C. La preprodinorfina (PPDYN) y sus segmentos que dan origen a la leucina-encefalina o leuencefalina (Leu-enk) y que como ya se indicó puede segmentar hasta dinorfina A, dinorfina B y α β -neoendorfina.
- D. La prepronociceptina (PPNOC) y sus fragmentos nocistatina y nociceptina.

Figura 6. Esquema de los genes que codifican la síntesis de POE



(Gutstein y Akil, 2003).

Por otra parte, la secuencia de aminoácidos de los POE más representativos y de los nuevos péptidos relacionados con los POE se presenta en el cuadro 1.

Cuadro 1. Secuencia de aminoácidos de los POE

Péptidos opioides endógenos representativos	
Leuencefalina	Tir-Gli-Gli-Fe-Leu
Metencefalina	Tir-Gli-Gli-Fe-Met
Dinorfina A	Tir-Gli-Gli-Fe-Leu-Arg-Arg-Ile-Arg-Pro-Lis-Leu-Lis-Trp-Asp-Asn-Gln
Dinorfina B	Tir-Gli-Gli-Fe-Leu-Arg-Arg-Gln-Fe-Lis-Val-Val-Tr
α – Neoendorfina	Tir-Gli-Gli-Fe-Leu-Arg-Lis-Tir-Pro-Lis
β – Neoendorfina	Tir-Gli-Gli-Fe-Leu-Arg-Lis-Tir-Pro
β – Endorfina	Tir-Gli-Gli-Fe-Met-Tr-Ser-Glu-Lis-Ser-Gln-Tr-Pro-Leu-Val-Tr-Leu-Fe-Lis-Asn-Ala-Ile-Ile-Lis-Asn-Ala-Tir-Lis-LisGli-Glu

Nuevos péptidos relacionados con opioides endógenos

Orfanina	FQ	/	Fe-Gli-Gli-Fe-Tr-Gli-Ala-Arg-Lis-Ser-Ala-Arg-Lis-Leu-Ala-
Nociceptina			Asn-Gln
Endomorfina 1			Tir-Pro-Trp-Fe
Endomorfina 2			Tir-Pro-Fe-Fe

(Gutstein y Akil, 2003)

Estudios realizados por Russell *et al.*, (1999), así como por Gutstein y Akil (2003), describen la clonación de un nuevo POE, éste péptido tiene una importante homología de secuencia con la dinorfina A, con una longitud idéntica de 17 aminoácidos, residuos carboxiterminal idénticos y una modificación leve del centro opioide amino terminal. A este péptido se le ha llamado orfanina FQ (OFQ) o bien nociceptina (N) ya que su función principal es disminuir el umbral del dolor. El sistema N/OFQ representa un descubrimiento de neuropéptidos con un alto grado de identidad de secuencia con los POE, sin embargo el leve cambio de estructura da por resultado una profunda alteración de la función. Este sistema además de las funciones descritas, también tiene propiedades reguladoras del comportamiento, que son mecanismos distintos de los tres POE clásicos, por lo que se ha descrito como una sustancia relacionada a los opioides, que no es antagonizada en su función por la Naloxona (Nx) (Russell *et al.*, 1999).

La distribución anatómica de células productoras de péptidos a partir de la POMC es relativamente limitada dentro del SNC, con concentraciones altas en el núcleo arcuato y en el núcleo del fascículo (tracto) solitario, que se proyecta con amplitud hacia las áreas límbica y del tallo encefálico hacia la médula espinal (Lewis *et al.*, 1987; Russell *et al.*, 1999; Gutstein y Akil, 2003). La distribución de la POMC corresponde a ciertas áreas del encéfalo humano en las que la estimulación eléctrica puede aliviar el dolor; los péptidos derivados de la POMC se encuentran tanto en la parte intermedia como en la parte distal de la glándula hipófisis, así como en las células pancreáticas productoras de insulina (Pi1cheret *et al.*, 1988, Villarejo *et al.*, 2000; Puig, 1998; Stein, 1993).

Los péptidos derivados de la prodinorfina y la proencefalina se encuentran distribuidos por todo el SNC y aunque cada familia de péptidos suele estar localizada en grupos diferentes de neuronas, en ocasiones se expresa más de una familia dentro de la misma, por lo que se les puede localizar juntos (Weihe *et al.*, 1988; Puig, 1998; Stein, 1993).

En particular, los péptidos de la proencefalina se encuentran en áreas del SNC que se cree se relacionan con la percepción del dolor (núcleo trigeminal espinal, sustancia gris periacueductal, láminas I y II de la médula espinal), la regulación del comportamiento afectivo (hipocampo, locus ceruleus y corteza cerebral), regulación del sistema nervioso autónomo (Bulbo raquídeo) y las funciones neuroendócrinas (eminencia media) (Villarejo *et al.*, 2000; Hernández *et al.*, 2006a; Puig, 1998; Stein, 1993). El precursor N/OFQ se distribuye anatómicamente en el hipocampo y corteza, con lo que su función está relacionada con el comportamiento, la capacidad de respuesta al estrés, así como mecanismos de aprendizaje y memoria (Gutstein y Akil, 2003).

No todas las células que elaboran un polipéptido precursor determinado, almacenan y descargan la misma mezcla de péptidos activos, esto puede deberse al procesamiento diferencial secundario o bien, a variaciones en el complemento celular de peptidasas que producen y degradan los fragmentos opioides activos. Aunque los POE parecen funcionar como neurotransmisores (moduladores de la neurotransmisión o neurohormonas), su función fisiológica no ha podido dilucidarse en toda su extensión. Identificar las funciones orgánicas de los POE se ha vuelto más difícil por su coexistencia frecuente con otros neurotransmisores dentro de una neurona determinada (Reisine y Pasternak, 1996; Hernández *et al.*, 2006a).

Los POE, la morfina y la codeína son opioides que se encuentran relacionados de manera natural en los tejidos de los mamíferos; suelen estar en forma conjugada o fijos a proteínas y al menos en la rata, se han descrito las vías metabólicas hepáticas que podrían lograr la síntesis de morfina (Donnerer *et al.*, 1987).

3.3.1 Receptores múltiples de los opioides

Pruebas convincentes demuestran que en el SNC hay tres clases principales de receptores de los opioides, designados como μ (mu), κ (kappa) y δ (delta), lo mismo que sus subtipos dentro de cada clase. Los estudios de fijación en receptores revelan perfiles de la selectividad diferente para cada clase, en tanto que los estudios funcionales han establecido sus peculiares perfiles farmacológicos. Además estudios autorradiográficos han demostrado distribuciones únicas para cada clase de receptor dentro del encéfalo y la médula espinal. Anteriormente, la designación de un receptor como opioide se basó en la Nx, que es un antagonista de todos los subtipos de receptores de opioides (Resine y Pasternak, 1996; Russell *et al.*, 1999; Villarejo *et al.*, 2000; Branson y Marjorie, 2003; Gutstein y Akil, 2003; Hernández *et al.*, 2006a; Puig, 1998; Stein, 1993).

El descubrimiento de receptores opiáceos en el cerebro y de los POE en el SNC, provocó una tendencia de investigación en neurociencias. En este sentido, reciben más atención tres subclases pertenecientes a los receptores μ , κ y δ (Reisine y Pasternak, 1996; Ruiz, 2004).

a) Receptores μ

La mayor parte de los opioides utilizados son relativamente selectivos por los receptores μ , lo que refleja su semejanza con la morfina. Sin embargo, es importante señalar que los fármacos que son relativamente selectivos en dosis estándar, interactúan con subtipos adicionales de receptores cuando se les administra en dosis altas, lo que da por resultado, posibles cambios en el perfil farmacológico. Algunos fármacos, en particular los agonistas y los antagonistas mixtos, interactúan con más de una clase de receptor con las dosis clínicas comunes. Son de interés particular las acciones de estos fármacos, puesto que pueden actuar como agonistas en un receptor y antagonistas en otros (Reisine y Pasternak, 1996; Villarejo *et al.*, 2000).

Los receptores μ se definieron inicialmente por su afinidad con la morfina. No se han establecido otros ligandos endógenos para este receptor, pero varios de los POE interactúan en

los receptores μ . Por ejemplo, la β -*endorfina* tiene gran afinidad por estos receptores, no obstante también las *encefalinas* poseen gran afinidad por los mismos. Del mismo modo, la dinorfina A se fija con gran avidez a los receptores μ , pero no tanto como a los κ 1. Diversos grupos de investigación han identificado morfina endógena en el encéfalo, lo que plantea la posibilidad de que pueda ser un ligando natural de este sitio y aunque se han desarrollado agonistas muy selectivos para los receptores μ , los antagonistas han sido de mucha utilidad para definir los efectos farmacológicos de este tipo de receptor (Reisine y Pasternak, 1996; Ruiz, 2004).

Por otro lado, la β funaltrexina (β - FNA) bloquea con carácter irreversible a los receptores μ , en tanto que la Nx antagoniza de manera selectiva a un subtipo de receptor, identificado como μ 1. Con el empleo de estos antagonistas, los investigadores han establecido en modelos animales que la morfina puede desencadenar analgesia a nivel raquídeo (μ 2) o suprarraquídeo (μ 1), sin embargo, cuando se administra morfina por vía sistémica actúa de manera relevante en los receptores suprarraquídeos (μ 1) (Reisine y Pasternak, 1996; Villarejo *et al.*, 2000).

Los receptores μ se encuentran localizados en las vías de percepción y modulación del dolor en el SNC, asta dorsal de la médula espinal, ganglios basales, centros límbicos, corteza, tálamo, centros barorreflejos, así como la región preóptica, núcleo arcuato y eminencia media del hipotálamo. Sus acciones selectivas generales comprenden la analgesia, supresión de la tos, constipación, hipotensión, sedación, depresión respiratoria, tolerancia, dependencia y supresión de la neurosecreción de gonadotropinas, entre otras acciones (Kalra y Kalra, 1984; Nicholson y Christie, 2004).

b) Receptores κ

Su nombre deriva de la letra griega κ , que designa a la ketociclazocina que fue el primer fármaco utilizado para definir la función de este receptor (Nicholson y Christie, 2004).

Al respecto, se han propuesto diversos subtipos de receptores κ a partir de los resultados

de pruebas de fijación y de estudios farmacológicos. El agonista U50 488H, marca de manera selectiva a los receptores κ 1, y los antagoniza la nor - binaltorfimina (nor - BNI). La *dinorfina A* es el ligando endógeno para el receptor κ 1. La administración raquídea de U50 488H produce analgesia ligada a receptores κ en modelos animales. A partir de estudios de fijación se propuso a los receptores κ 2, pero aún no han podido dilucidarse sus propiedades farmacológicas. También se identificaron por primera vez los receptores κ 3 en los estudios de fijación y se ha establecido con cierta claridad sus propiedades farmacológicas. A diferencia de los receptores κ 1 que producen analgesia a nivel raquídeo; los receptores κ 3 alivian el dolor por medio de mecanismos suprarraquídeos. Aunque los efectos de los receptores κ 3 se corrigen con facilidad mediante diversos antagonistas de los opioides, no se han identificado antagonistas selectivos de este tipo de receptor. Este último corresponde a los receptores de nalorfina (Reisine y Pastemak, 1996; Villarejo *et al.*, 2000; Ruiz, 2004).

Los receptores κ se encuentran localizados en el asta dorsal de la médula espinal, ganglios basales, centros límbicos, corteza, tálamo y el riñón, entre sus funciones selectivas están la analgesia moderada (desde la médula espinal), diuresis, sedación y disforia (Nicholson y Christie, 2004).

c) Receptores δ

Las *encefalinas* son los ligandos endógenos de los receptores δ . Este tipo de receptor se identifica por la letra griega δ que designa la palabra deferente, ya que el vaso deferente del ratón fue el primer tejido utilizado para definir la función del mismo (Nicholson y Christie, 2004).

Los conocimientos con que se cuenta sobre la farmacología de los receptores δ se encuentran en una base firme en la creación de agonistas y antagonistas altamente selectivos, como el naltrindol. Por medio de estos fármacos, los investigadores han establecido analgesia dental a niveles tanto raquídeo como suprarraquídeo, aunque el sistema raquídeo parece ser más sólido. Se han propuesto dos subclases, los receptores δ 1 y δ 2 de los opioides, con base en su sensibilidad diferencial para el bloqueo por diversos antagonistas novedosos. Los agonistas (D - Pro2, Glu4) delforfina y DSLET se fijan de preferencia a los receptores δ 2, en tanto que el

agonista DPDPE tiene mayor afinidad por los receptores δ 1 (Villarejo *et al.*, 2000; Nicholson y Christie, 2004; Ruiz, 2004).

Los receptores δ se encuentran localizados en el asta dorsal de la médula espinal, ganglios basales, corteza y tálamo, cuya función principal es la analgesia (Nicholson y Christie, 2004).

d) Otros receptores opioides

Se han estudiado de manera extensa tres tipos de receptores de opioides clásicos: μ , δ , y κ , aunque como ya se indicó anteriormente, en experimentos recientes se ha descubierto el receptor N/OFQ, que fue denominado receptor parecido a receptor opioide 1 (ORL-1) o receptor de opioide “huérfano”. Con ello se ha añadido una nueva dimensión al estudio de los POE (Gutstein y Akil, 2003).

El receptor N/OFQ se clonó como resultado de búsquedas de nuevos tipos y/o subtipos de receptores para POE, posee una alta homología estructural con los receptores de opioides clásicos, siendo más alta en las regiones transmembrana y dominios citoplásmicos, y más bajas en los dominios extracelulares críticos para selectividad del ligando. Es posible que los experimentos de clonación adicionales identifiquen genes únicos que codifican para subtipos de receptor, sin embargo, se ha sugerido que si existen múltiples subtipos de receptores de opioides, podrían derivarse de un gen único y quizás existan múltiples mecanismos para alcanzar perfiles farmacológicos distintos. Dos vías potenciales para la diversidad de receptores son en primera instancia el empalme alternativo de RNA de receptor y en segunda la dimerización de proteínas de receptor (Gutstein y Akil, 2003).

Otros receptores opioides que han sido propuestos son: el receptor épsilon (ϵ) que muestra una notable especificidad por su ligando endógeno la beta endorfina. Este tipo de receptor exhibe acciones similares a las del receptor μ (Villarejo *et al.*, 2000; Nicholson y Christie, 2004). El compuesto sintético SKF 10047 fue utilizado para designar las propiedades del receptor sigma (σ), el cual está asociado a la producción de excitación y disforia pero muestra pobre efecto

analgésico (Ruiz y Hernández, 2005). Este receptor resulta interesante pues muestra una preferencia por la forma dextrógira y sus acciones no son revertidas con Nx, que es una forma levógira (Villarejo *et al.*, 2000; Branson y Marjorie, 2003; Picco, 2007), donde al parecer la evidencia sugiere que los receptores σ son compatibles para los efectos terapéuticos de los anestésicos disociativos como la Fenciclidina (polvo de ángel o PCP), Tiletamina y Ketamina, lo que indicaría que la Nx no antagoniza estos efectos, sin embargo González (1985) y Suárez (2001) en medicina humana; González (2005), Hernández y Ruiz (2006), Ruiz *et al.*, (2006), Ruiz (2007) y León (2008) en medicina veterinaria demostraron en sus respectivas áreas la reversión de efectos anestésicos y analgésicos de la Ketamina por efecto de la administración de Nx.

En el cuadro 2 se presentan los diferentes tipos de receptores, así como ejemplos de los fármacos que provocan interacción en ellos.

Cuadro 2. Características de los diferentes receptores opioides.

CRITERIOS DE CLASIFICACIÓN	TIPO DE RECEPTOR		
	MU (μ)	KAPPA (κ)	DELTA (δ)
Algunos agonistas selectivos con indicaciones clínicas	Morfina Meperidina Metadona Oximorfona Fentanilo Metomidato Remifentanilo	Butorfanol (también es agonista μ débil) Pentazocina (también es agonista μ débil) Nalbufina Buprenorfina	Ninguno disponible
Ubicación de los receptores	<ul style="list-style-type: none"> • Vías de percepción y modulación del dolor en el SNC • Asta dorsal de la médula espinal (AD) • Z Q G (zona quimiorreceptora gatillo) • Ganglios basales • Centro límbicos • Corteza y tálamo • Centros barorreflejos • Plexo mioentérico 	<ul style="list-style-type: none"> • A D • Ganglios basales • Riñón • Centros límbicos • Corteza y tálamo • Plexo mioentérico 	<ul style="list-style-type: none"> • A D • Ganglios • Corteza y

Acciones selectivas	Analgesia intensa Supresión de la tos Constipación Hipotensión Sedación Excitación motora Depresión respiratoria: causa de muerte por sobredosis Tolerancia y dependencia Vómitos	Analgesia (moderada: desde la médula espinal) Diuresis Sedación Disforia Supresión de la tos	Analgesia (leve: desde la médula espinal) Puede producir excitación motora
---------------------	---	--	--

Modificado de Nicholson y Christie (2004)

3.4 Efectos neuroendócrinos de los POE en el perro.

La morfina actúa a nivel del hipotálamo, inhibiendo la liberación de GnRH y el factor liberador de corticotropina (CRF), con lo que disminuye las concentraciones circulantes de las hormonas LH, FSH, Adenocorticotrópica (ACTH) y *B-endorfina*; estos dos últimos péptidos suelen liberarse de manera simultánea desde los corticotrofos de la hipófisis. Como resultado de las concentraciones disminuidas de hormonas tróficas hipofisarias, se disminuyen las concentraciones de testosterona y cortisol en el plasma (Reisine y Pasternak, 1996; Gutstein y Akil, 2003).

Por otro lado, se han realizado estudios sobre el control de las neuronas secretoras de GnRH y oxitocina en la rata. El conocimiento de ambos sistemas es aún incompleto, pero cada uno ilustra alguna de las posibilidades de la interacción de los POE con las neuronas de GnRH. Se ha enfatizado primero que la liberación de los productos secretados de las terminales nerviosas ocurre principalmente como una consecuencia de la invasión de las membranas terminales por acción de potenciales eléctricos. La actividad eléctrica de estas neuronas, determina la secreción (Kalra y Kalra, 1984; Gutstein y Akil, 2003).

La morfina y los POE pueden inhibir la ovulación en ratas y la secreción de LH. En general, inhiben la liberación de gonadotropinas en muchas especies, incluyendo a los monos. La acción es más pronunciada sobre la LH que en la FSH. Los antagonistas como la Naloxona (Nx),

han llegado a ser utilizados extensamente para elevar los niveles plasmáticos de estas hormonas (Kordon *et al.*, 1994).

Los efectos de los opioides exógenos y otros narcóticos, sobre la secreción de gonadotropinas han sido documentados durante largo tiempo después de su descubrimiento y de la descripción de la actividad de los POE (Brooks *et al.*, 1986). Al respecto, la morfina es conocida desde hace tiempo como un inhibidor de la liberación de las gonadotropinas (Reisine y Pasternak, 1996).

Los opioides no tienen un efecto directo sobre la neurosecreción de las gonadotropinas desde la pituitaria anterior ya que la glándula contiene pocos receptores hacia éstas moléculas. Estos opioides parecen inhibir la secreción de las gonadotropinas al prevenir la liberación de la GnRH desde la eminencia media, de esta manera la aplicación del opioide antagonista Nx, puede ocasionar una pronta elevación de las gonadotropinas plasmáticas, indicando que los POE tienen una acción inhibitoria sobre la liberación de GnRH (Cicero *et al.*, 1977; Kalra y Kalra 1984; Gutstein y Akil, 2003).

En este sentido, Kalra (1981) utilizó implantes de Nx en el núcleo arcuato y la eminencia media, demostrando que los opioides pueden actuar en ese sitio inhibiendo la secreción de las terminales de las neuronas liberadoras de GnRH. Claramente los dos últimos sitios donde los POE pueden afectar a las neuronas secretoras de GnRH son el soma de las células y en la región que contienen esas terminaciones nerviosas.

Las conclusiones a las que llegaron Brooks *et al.*, (1986), Enríquez (2003) y Hernández *et al.*, (2006a) después de una revisión detallada sobre el efecto que ejercen los POE en la reproducción en el ámbito de la medicina veterinaria, fue que aparentemente estas sustancias juegan un papel importante en el control de la liberación de la LH en una gran variedad de especies. Los POE actúan suprimiendo la liberación de la GnRH hipotalámica y están implicados en otras actividades, por ejemplo:

- Es el mecanismo que suprime a la LH durante el período pre – puberal.
- La LH es controlada por vías donde se involucra a estas sustancias durante el ciclo estral.
- Los esteroides gonadales en algunas circunstancias ejercen una retroalimentación negativa sobre la secreción de la LH a través de rutas donde intervienen las neuronas secretoras de POE.
- Los POE pueden estar involucrados en la regulación del foto período durante la estación de cría en algunas especies.
- Los POE constituyen un campo potencial para poder manipular la liberación de LH y a través de ello controlar el proceso de ovulación, entre otros procesos reproductivos.

Por otra parte, Gutstein y Akil (2003) concluyeron que los POE participan en la regulación de la secreción hipofisiaria a través de efectos inhibidores tónicos sobre la descarga de ciertas hormonas hipotalámicas. Por tanto, la administración de Nx y Naltrexona, incrementa la secreción de GnRH y del factor liberador de corticotropina, de esta manera aumentan las concentraciones plasmáticas de LH, FSH y ACTH, lo mismo que de las hormonas producidas por sus órganos blanco. Los antagonistas opiáceos no alteran de manera sostenida las concentraciones basales o inducidas por estrés de prolactina plasmática en el varón; de modo paradójico, la Nx estimula la descarga de prolactina en la mujer. Asimismo concluyen también que los antagonistas de los opioides aumentan las concentraciones plasmáticas de cortisol y catecolaminas que en condiciones normales acompañan al estrés o al ejercicio.

3.4.1 Investigación con Naloxona sobre la actividad reproductiva

Diversos investigadores han utilizado a la Nx experimentalmente para conocer los mecanismos que regulan la fisiología de la reproducción en el SNC en diferentes especies domésticas. La mayoría de los trabajos concluyen que los antagonistas de receptores opiáceos como la Nx, al bloquear a los receptores μ en el cerebro, estimulan la liberación de GnRH y ACTH tanto en machos como hembras, así como las hormonas producidas por sus órganos blanco. Como en Ovinos (Horton *et al.*, 1989; Currie y Rawlings, 1989; Rawlings, y Churchill, 1990; González *et al.*, 1994; Sánchez *et al.*, 1995; Malven *et al.*, 1995; González *et al.*, 1995;

Fuentes *et al.*, 1997a; Fuentes *et al.*, 1997b; Zavala *et al.*, 1998; Fuentes *et al.*, 2001; Fuentes *et al.*, 2002), Caprinos (Fuentes y Peraza, 1988; Galina *et al.*, 1991; Fuentes y Ruiz, 1989; Gardy, 1991; García *et al.*, 1991; Ruiz *et al.*, 1994; Ruiz, 1996; Guajardo *et al.*, 1997; Fuentes *et al.*, 1997; Fuentes, *et al.*, 1998; Ruiz *et al.*, 1998a; Ruiz *et al.*, 1998b; Singh *et al.*, 2000; Fuentes *et al.*, 2003b; Fuentes *et al.*, 2003c; Ruiz, 2004), Bovinos (Pallas, 1993; Pallas *et al.*, 1993; Arreguín *et al.*, 1995) Equinos (Aurich *et al.*, 1995; Aurich *et al.*, 1996a y b; Aurich *et al.*, 1997; Luna y Taylor, 2001), Conejos (Alcázar, 1991, Rosano, 1991; Pedrón *et al.*, 1996; Rebollar *et al.*, 1997; Villagrán, 1998; Fuentes *et al.*, 2003d; Ávila, 2005; Fuentes *et al.*, 2005; Guzmán, 2008; Hernández, 2008; Pineda y Ramírez, 2008), Cerdos (Bozena y Tilton, 1995; Kotwica *et al.*, 1995; Okrasa *et al.*, 1995; Fuentes *et al.*, 2003a; Fuentes *et al.*, 2004a), Ratas (El - Sheltawiet *et al.*, 1995; Kim *et al.*, 1991; Kumru *et al.*, 2001), Aves (Peebles, *et al.*, 1997), Caninos (Fuentes, 1991; Fuentes y Fuentes, 1998; Hernández *et al.*, 2008; Hernández *et al.*, 2009) y otras especies: mosquitos (Pryor y Fascher, 1995); cangrejo de río (Sarojini *et al.*, 1996), con el objeto de conocer el papel que realizan los POE.

Sin embargo, también hay autores que en sus resultados sugieren lo siguiente:

- Los POE no muestran un papel determinante en el control reproductivo de la borrega pelibuey, al evaluar la fertilidad y prolificidad utilizando a la Nx (Pallas, 2000).
- La Nx no influye en la secreción de prolactina en respuesta al ordeño mecánico de vacas en lactación (Tančin *et al.*, 2003).

3.5 Características farmacológicas de la Naloxona (Nx)

En el grupo de los antagonistas puros de la morfina se encuentra la Nx, la cual se ha confirmado que es capaz de revertir todos los efectos de la morfina y los fármacos afines (Ruiz y Hernández, 2003). A continuación se describe este fármaco en todas sus características, conforme a los puntos sugeridos por Ruiz y Hernández (2005):

Nombre Genérico: Clorhidrato de Naloxona

Origen y Química: es un derivado de la tabaína (alcaloide de la morfina), cuya fórmula química es 17 - alin -4,5 / alfa epoxi -3,4 - dihidromorfina - beta - ona. Es un compuesto cuaternario de peso molecular 327.37 que se constituye de varios núcleos aromáticos y en la práctica se presenta disponible bajo la forma de clorhidrato de naloxona ($C_{19}H_{22}ClNO_4$). Entre otras características que posee, se describe como una molécula soluble en agua y alcohol, además de ser insoluble en éter. Es un polvo blanquecino con un pK de 7.94 que debe mantenerse entre 15 y 30 °C, así como protegerse de la luz. Su punto de ebullición es de 179 a 180 °C y su pH es de 3 a 4 (Fuentes *et al* 2002; Plumb, 2002; Ruiz y Hernández, 2005; Plumb, 2006).

Acción Farmacológica: se le identifica como un antagonista puro de los derivados del opio y a dosis bajas tiene una alta afinidad por los receptores opioides μ_1 y μ_2 , en comparación con el receptor opioide δ , en el que se requieren altas dosis de Nx para ejercer el bloqueo de dicho receptor. Por otra parte, la Nx tiene muy baja afinidad hacia los receptores κ , ya que se requieren de 20 – 30 veces más dosis de la que se requiere para bloquear a los receptores μ y en el caso del receptor opioide σ , este al parecer es insensible a la acción de la Nx (Branson y Marjorie, 2003; Sumano y Ocampo, 2006).

Este fármaco se ha utilizado en trabajos experimentales, donde se ha postulado que en diferentes especies domésticas ejerce un bloqueo de los POE, provocando la liberación de GnRH en forma pulsátil, la cual ocasiona la liberación de LH y Testosterona en machos (Branson y Marjorie, 2003; Ruiz *et al.*, 2004; Ruiz y Hernández, 2005), ACTH y Prolactina en hembras (Gutstein y Akil, 2003), siendo la FSH la única hormona que no se altera en sus niveles plasmáticos a corto plazo (Singh *et al.*, 2000; Kumru *et al.*, 2001).

Sin embargo, este opioide puede ejercer otras acciones farmacológicas como las siguientes:

- Disminuye la liberación enzimática por parte de los lisosomas y péptidos depresores del miocardio.
- En combinación con el dimetil sulfóxido disminuye las lesiones provocadas por los radicales libres.

- Mejora indirectamente la calidad y cantidad del transporte del oxígeno, incrementando la sensibilidad de los barorreceptores.
- Incrementa los niveles de cortisol y catecolaminas en el plasma.
- Se une a los receptores μ , impidiendo la acción de los POE en los procesos de secreción de los factores de liberación de gonadotropinas y las gonadotropinas mismas.
- Se une a los receptores β endorfinérgicos impidiendo la acción de la morfina y la mayoría de sus derivados.
- Posee acción antagónica de los efectos hipnóticos y depresores del sistema cardiovascular producidas por Halotano, debido al bloqueo de sustancias endógenas de tipo beta – endorfinas o encefalinas, las cuales son liberadas en respuesta a la acción del anestésico inhalado.
- Compite con receptores μ que se consideran mediadores de la analgesia supraespinal, depresión respiratoria y dependencia física, así como de la neurosecreción de endorfinas.
- Compite con los receptores κ , que se consideran mediadores de la analgesia espinal, depresión respiratoria y sedación.
- Compite con los receptores δ , que controlan la estimulación respiratoria y vasomotora.
- Este fármaco es más efectivo como antagonista de los efectos agonistas μ que de los κ , δ y σ (Lorenzana *et al.*, 1998; Ruiz y Hernández, 2003; Ruiz y Hernández, 2005; Hernández *et al.*, 2006a; Plumb, 2006; Sumano y Ocampo, 2006; Miranda, 2007).

Farmacocinética: no ejerce efecto por vía oral, ya que por ser una molécula hidrosoluble esta se destruye en el pH estomacal, sin embargo, en neonatos y gatos se puede administrar por vía sublingual, de este modo se absorbe por sangre y se evita el paso por las enzimas del estómago. Por otro lado, cuando se administra por vía intramuscular (I.M) su distribución en los tejidos es 6 a 7 veces mayor que en el plasma, además de que puede llegar al SNC donde se le ha localizado en gran cantidad en receptores microendofinérgicos o receptores μ , aunque también se ha sugerido que puede ser captada por receptores κ y σ . Su efecto dura aproximadamente 4 h y se metaboliza en el hígado conjugándose con el ácido glucorónico. Se excreta por orina en aproximadamente 24 h (Lorenzana, 1998; Ruiz *et al.*, 2004; Ruiz y Hernández, 2005; Hernández *et al.*, 2006a; Plumb, 2006; Sumano y Ocampo, 2006).

Farmacodinamia: su mecanismo de acción es uno de los ejemplos más notables del antagonismo en la medicina, de hecho cuando se administra en ausencia de un agonista, se le considera inerte en relación al bloqueo de los fármacos derivados de la morfina. Por el contrario, cuando se administra a un sujeto tratado con morfina o muchos de sus derivados, su efecto es de un antagonista puro. En este sentido, se puede describir que este fármaco anula los efectos de los agonistas opioides casi por completo en 1 a 2 minutos (Sumano y Ocampo, 1997; Plumb, 2002).

Posología y vías de administración: en la clínica humana para realizar un efecto antagonista de los opioides, se utiliza en proporción de 0.4 - 0.8 mg en dosis total para un individuo de 70 Kg promedio. Por otra parte, en medicina veterinaria las dosis sugeridas por diversos autores para provocar liberación de gonadotropinas y antagonismo de efectos por sobredosis de opioides, se presentan en el cuadro 3.

Cuadro 3. Posología de la Nx en Medicina Veterinaria

Especie	Dosis
Perros	0.01 – 0.04 mg/kg IV, IM o SC
Gatos	0.05 - 0.1 mg/Kg IV 0.2 - 0.4 mg/Kg IM
Conejos	0.005 - 0.1 mg/Kg SC, IV o IP
Roedores, hámster y jerbos	0.01 – 0.1 mg/Kg IM o IP
Equinos	0.01 – 0.022 mg/Kg
Ovinos y caprinos	0.4 - 0.5 mg en dosis total por animal

(Hrapkiewicz *et al.*, 1998; Plumb, 2002; Swindle *et al.*, 2002; Ruiz, 2004; Hernández *et al.*, 2006a).

Usos terapéuticos:

- En pacientes con sobredosis de opiáceos (Fuentes, 1985; Sumano y Ocampo, 1997; Nolan, 2002; Nicholson y Christie, 2004; Ruiz *et al.*, 2004; Ruiz y Hernández, 2005; Plumb, 2006).
- Antídoto en la Neuroleptoanalgesia (NLA), por ejercer antagonismo competitivo sobre el

Fentanyl, Remifentanil, Oximorfona, Metadona y Metomidato descritos como agonistas puros derivados de la morfina (Fuentes, 1985; Nolan, 2002; Nicholson y Christie, 2004; Ruiz *et al.*, 2004; Ruiz y Hernández, 2005; Plumb, 2006; Sumano y Ocampo, 2006).

- Reversión de efectos anestésicos y analgésicos de la Ketamina mediado por receptores de opioides (González, 1985; Suárez, 2001; González, 2005; Ruiz y Hernández, 2005; Hernández y Ruiz, 2006; Ruiz *et al.*, 2006; Ruiz *et al.*, 2007; León, 2008).
- Tratamiento de choque por hemorragias y endotoxinas (Bastida, 1985; Hernández *et al.*, 2006a).
- En trastornos cerebro vasculares como embolia, disminuye los efectos isquémicos regionales (Ojeda, 2002; Hernández *et al.*, 2006a).
- Reversión de bloqueos atrio – ventriculares de primer y segundo grado, provocados por la administración de Xilazina (Miranda, 2007; Miranda y Hernández, 2007; Miranda *et al.*, 2007a; Miranda *et al.*, 2007b).
- En el coma no traumático y en la aerofagia del equino (Enríquez, 2003; Ruiz y Hernández, 2003; Hernández *et al.*, 2006a).
- Coadyuvante en la terapéutica del cólico en equinos, conjuntamente con calcio (Caira *et al.*, 2004).
- Experimentalmente en casos de diarrea y vómito (disminuye el peristaltismo) (Enríquez, 2003; Ruiz y Hernández, 2005; Hernández *et al.*, 2006a).
- Se ha usado conjuntamente la Meperidina con la Nx como coadyuvante en la anestesia con Pentobarbital sódico (Karasik, 1991; Ruiz y Hernández, 2005; Hernández *et al.*, 2006a).
- Así también, se ha usado a la Nx conjuntamente con Nalbufina para aumentar el margen terapéutico en la anestesia con Pentobarbital sódico (Rodríguez, 1988).
- Experimentalmente en la inducción y sincronización de celos en las cabras (Fuentes y Peraza, 1988; Fuentes, 1992; Ruiz *et al.*, 1994; Ruiz, 1996; Enríquez, 2003; Fuentes *et al.*, 2003b).
- Liberador de LH en ovejas, vacas, conejas, cerdas y ratas (Kalra, 1981; Kalra y Kalra, 1984; Fuentes y Peraza, 1988; Fuentes y Ruiz, 1989; Galina *et al.*, 1991; García *et al.*, 1991; Gardy, 1991; Fuentes, 1992; Ruiz *et al.*, 1994; Sánchez *et al.*, 1995; Guajardo *et al.*, 1997; Rebollar *et al.*, 1997; Lorenzana, 1998; Fuentes *et al.*, 2001; Kumru *et al.*,

2001; Fuentes *et al.*, 2002; Fuentes *et al.*, 2003a; Fuentes *et al.*, 2003b; Fuentes *et al.*, 2004a).

- Estimulante de la receptividad sexual, fertilidad y prolificidad en conejas (Rosano, 1991; Ávila, 2005).
- Uniformador de cuerpos lúteos para la transferencia de embriones en cabras (De León *et al.*, 1992).
- Tratamiento de quistes foliculares en bovinos (Pallas, 1993; Pallas *et al.*, 1993; Fuentes y Sánchez, 2004) y en caninos (Hernández *et al.*, 2008; Hernández *et al.*, 2009).
- En trabajos realizados en machos de las especies domésticas, se ha reportado que incrementa la libido, el diámetro testicular y los niveles séricos de testosterona (Alcázar, 1991; Fuentes, 1991; Pedrón *et al.*, 1996; Fuentes y Fuentes, 1998; Fuentes *et al.*, 1998; Ruiz *et al.*, 1998a; Ruiz *et al.*, 1998b; Singh *et al.*, 2000; Fuentes *et al.*, 2003c; Ruiz, 2004; Hernández *et al.*, 2006b; Guzmán, 2008; Hernández, 2008; Pineda y Ramírez, 2008).
- Modulador de la conducta sexual en las diferentes especies domésticas (Hetta, 1977; Villagrán, 1998; Fuentes *et al.*, 2003d; Fuentes *et al.*, 2005).

Reacciones adversas: en humanos se reportan mareos, malestar general, cefalea, edema pulmonar y fibrilación ventricular en pacientes cardiopatas. Por otro lado, en animales produce hipertensión en pacientes con cardiopatía preexistente, que en su caso puede evolucionar hasta edema pulmonar. Su acción puede durar menos que la del narcótico que se está antagonizando, por lo que se debe vigilar al paciente para constatar que no se presente una recaída (Ruiz y Hernández, 2005; Miranda, 2007).

Contraindicaciones: pacientes con hipersensibilidad al fármaco, con anomalías cardíacas preexistentes y animales opioide – dependientes (Plumb, 2006). No se debe utilizar tampoco en pacientes hipertensos, ya que este fármaco puede ocasionar una elevación brusca de la tensión arterial que puede conducir al paciente a una falla cardíaca y edema pulmonar (Bastida, 1985; Ojeda, 2002; Miranda, 2007; Miranda *et al.*, 2007b).

Interacciones: revierte los efectos de los agonistas puros como la Morfina, Fentanyl, Remifentanyl, Oximorfona, Meperidina, Metadona y Metomidato, así como de algunos agonistas parciales como la Buprenorfina, Butorfanol y Nalbufina (Fuentes *et al* 2002; Nolan, 2002; Nicholson y Christie, 2004; Ruiz y Hernández, 2005; Plumb, 2006; Sumano y Ocampo, 2006).

Forma farmacéutica: Narcanti ® (0.4 mg – 1 ml) laboratorios Aventis, cuya presentación comercial se expende en México para uso en humanos y que se muestra en la imagen 1.

Imagen 1. Forma farmacéutica del Clorhidrato de Nx



4. OBJETIVO GENERAL

- 4.1 Valorar el efecto del clorhidrato de Naloxona (Nx) sobre la función testicular endócrina del canino macho.

5. OBJETIVOS PARTICULARES

- 5.1 Cuantificar el efecto de la Nx sobre los niveles séricos de testosterona.

6. HIPÓTESIS

- 6.1 El clorhidrato de naloxona incrementa la función endócrina del testículo en el canino macho.

7. MATERIALES Y MÉTODOS.

El presente trabajo se realizó en el mes de junio del año 2009 en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán (FESC) UNAM situada en la carretera Cuautitlán – Teoloyucan Km. 2.5, San Sebastián Xhala, municipio de Cuautitlán Izcalli, Estado de México. Geográficamente se orienta en la parte noroeste de la cuenca de México en las coordenadas 19° 40' 50'' de latitud norte y 99°12' 25'' de longitud oeste, tiene una altura promedio de 2,252 metros sobre el nivel de mar. En esta área se presenta una temperatura promedio propia del clima templado sub – húmedo con lluvias en verano y humedad media (Cw1), la precipitación pluvial al año promedio es de 605 mm³.

Los animales en observación fueron 6 caninos machos, mismos que fueron evaluados clínicamente mediante un examen físico, durante el experimento su alimentación fue a base de croqueta comercial (22 % proteína cruda) y agua *ad libitum*.

En el cuadro 2 se presenta un listado del material biológico y no biológico utilizado en el desarrollo del presente experimento.

Cuadro 2. Material biológico y no biológico utilizado para evaluar la función testicular del perro.

Material Biológico	Material no biológico
6 caninos machos de raza indefinida con una edad promedio de 2.4 ± 0.66 años y un peso promedio de $7.67 \text{ kg} \pm 2.25 \text{ kg}$ al inicio del experimento.	<ul style="list-style-type: none">• Jeringas 3 ml estériles• Jeringas 5 ml estériles• Jeringas 10 ml estériles• Punzocats estériles calibre 21G $\frac{3}{4}$ 19 mm• Torundas con alcohol• Tubos de ensaye estériles sin anticoagulante• Centrífuga• Pipeta de 1 ml

	<ul style="list-style-type: none"> • Congelador • Tubos Eppendorff estériles de 1.5 ml • Kitt de ELISA • Clorhidrato de Naloxona (Nx)
--	---

7.1 Metodología.

Se trabajó con 6 perros machos adultos seleccionados de forma aleatoria y como ya fue citado, a los semovientes se les realizó un examen clínico para determinar su estado general de salud, posteriormente se pesaron y desparasitaron con Drontal plus ®, el cual contiene prazicuantel, pamoato de pirantel y febantel como principios activos. Una vez cubierto este aspecto de medicina preventiva, los animales también fueron rasurados y bañados.

El experimento fue desarrollado en dos fases, las cuales se explican en los siguientes párrafos:

Primera fase: se obtuvieron 4 muestras de 2.5 ml de sangre cada tercer día a partir de la vena cefálica, previa sujeción del perro (imagen 2) y mediante la utilización de jeringas estériles de 3 ml y torundas con alcohol los días (0), (- 3), (- 6) y (- 9). Estas muestras fueron centrifugadas a 800 gravedades de presión (1500 rpm) durante 5 minutos con la finalidad de separar el suero de la sangre. Una vez centrifugadas las muestras, se obtuvo 1 ml de suero plasmático (imagen 3), mismo que fue congelado a - 20 °C. Posteriormente, los niveles séricos de testosterona fueron medidos en base a la prueba de Enzimoimmuno Análisis con una dilución del conjugado de 1: 15000 y una dilución del anticuerpo de 1 : 10000 y que fue desarrollada en el laboratorio de reproducción de la FMVZ de la UNAM.

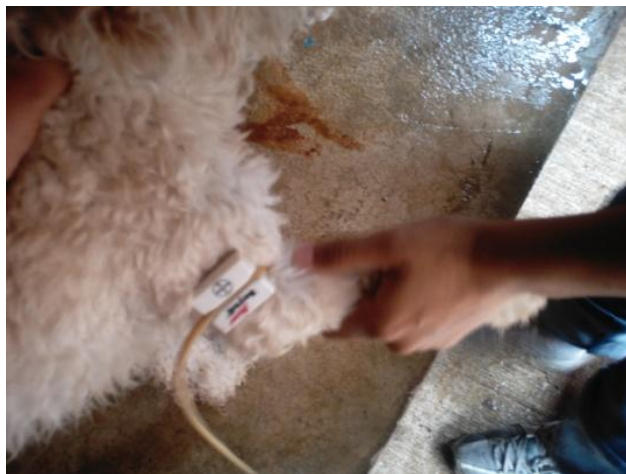


Imagen 2. Toma de muestras sanguíneas



Imagen 3. Suero plasmático.

Segunda fase: una vez obtenidas todas la muestras previas, se procedió a la administración de Naloxona (Nx) vía intramuscular (IM) a una dosis de 0.04 mg/ kg cada 24 hrs. Las muestras de sangre se obtuvieron cada tercer día durante dos semanas que duró la suministración de Nx, esto es los días 3, 6, 9, 12, 15, 18 y 21 de experimentación con el opioide. En este sentido, la toma de muestras y conservación de las mismas se hizo de la misma manera que en la primera fase del estudio, donde igualmente fueron enviadas y procesadas bajo las mismas características en el laboratorio de Reproducción de la FMVZ – UNAM para la determinación de los niveles séricos de testosterona.

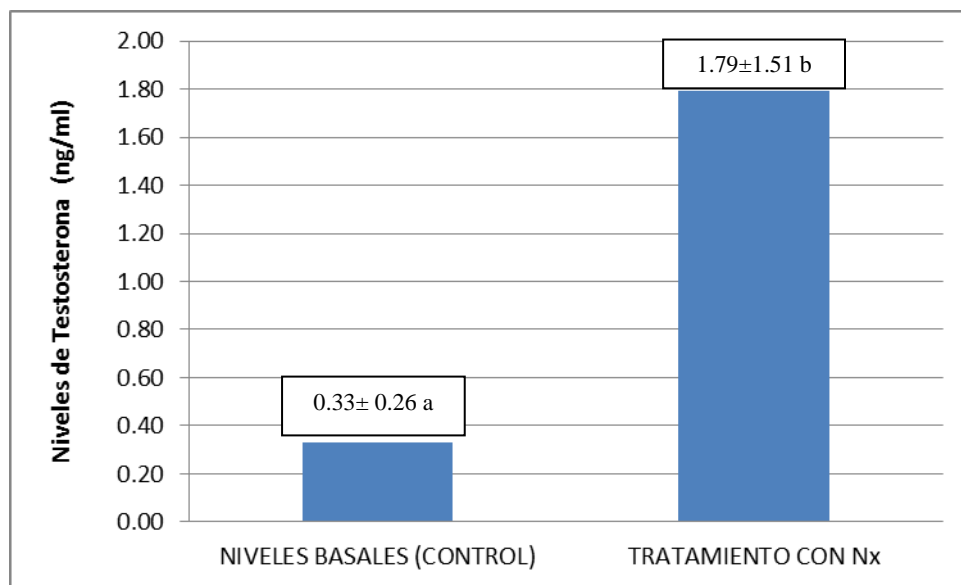
7.2 Análisis estadístico

En el presente experimento se realizó un análisis de varianza (ANOVA).

8. RESULTADOS.

En el gráfico 1 se muestra el valor promedio general obtenido en los niveles séricos de testosterona, en el cual también se incluye el valor de la desviación estándar en los grupos pre y post administración de Naloxona (Nx). En este gráfico se puede observar que los promedios más altos del andrógeno fueron obtenidos cuando el grupo fue tratado con Naloxona durante los quince días de tratamiento a una dosis de 0.04 mg/kg, donde se observa un incremento notable que va desde los 0.33 ng/ml hasta alcanzar 1.79 ng/ml ($P < 0.05$).

Gráfico 1. Niveles séricos de testosterona pre y post administración de Nx en seis caninos machos (ng/ml).



Letras diferentes indican diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$).

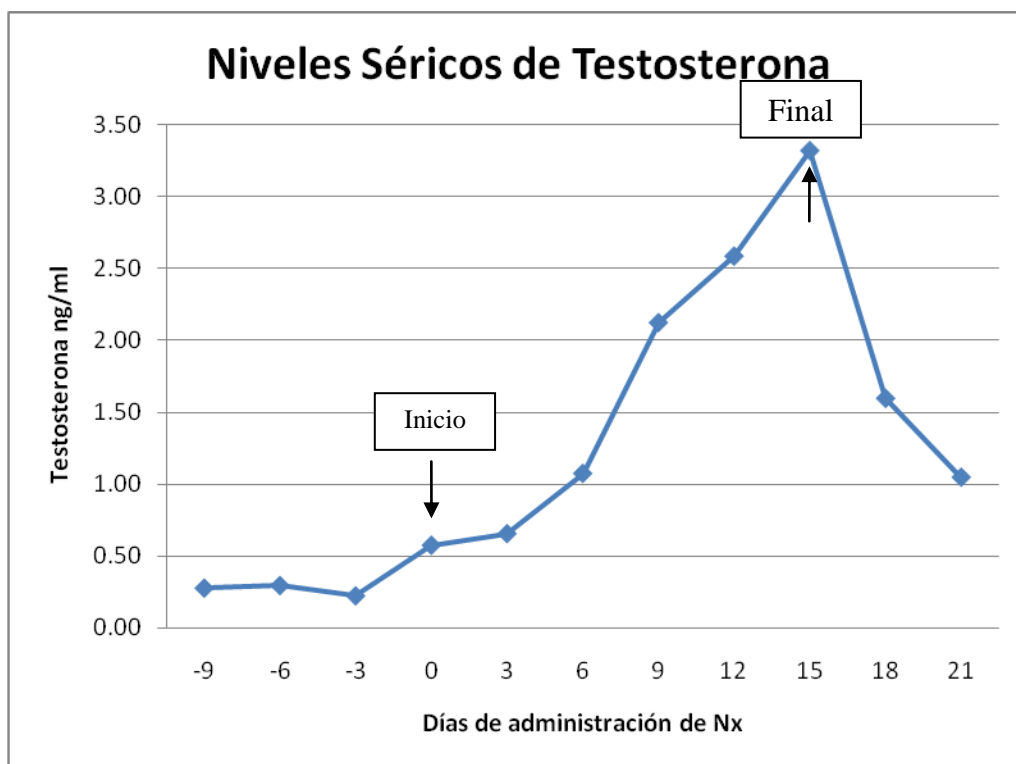
En el gráfico 2, se muestran los valores obtenidos en los niveles séricos de testosterona por día de muestreo, donde se puede apreciar que los valores promedio del andrógeno durante los días de muestreo (-9), (-6) y (-3), es decir antes de la administración de Nx fueron basales, fluctuando entre 0.22 – 0.29 ng/ml. En el mismo gráfico se indica en el día (0) el inicio de la administración del antagonista opiode.

Por otro lado, también se puede observar que a partir del día 6 de experimentación con Nx los niveles séricos de testosterona comienzan a incrementarse hasta alcanzar un valor de 1.07 ng/ml, misma que en las siguientes mediciones se mantuvo en incremento hasta alcanzar un pico máximo de secreción del esteroide en el día 15 de experimentación (3.37 ng/ml).

Sin embargo, cabe resaltar que la administración de Nx en dosis de 0.04 mg/kg se hizo hasta el día 15 de experimentación y a partir de esta fecha se suspendió el tratamiento con dicho opioide. De esta forma hacia el día 18, dado que los pacientes ya no recibían tratamiento fue observado que los niveles séricos de testosterona iban en decremento, manifestando esta misma inercia en el día 21 de muestreo, donde los niveles obtenidos fluctuaron entre 1.63 y 1.37 ng/ml respectivamente.

Otra acotación que se hace observable en el gráfico 2 si bien es cierto que los niveles de testosterona comenzaron a disminuir con la suspensión del tratamiento, estos no alcanzan a manifestarse como cuando se inició el estudio.

Gráfico 2. Niveles séricos de testosterona por muestreo durante todo el experimento.



No obstante, en los gráficos 3, 4, 5, 6, 7 y 8 se muestra el comportamiento individual de los niveles séricos de testosterona durante los días de muestreo ya descritos. En este sentido, se puede observar que en todos los semovientes el pico máximo de secreción de testosterona se encuentra entre el séptimo y noveno muestreo, lo cual coincide con lo representado en el gráfico 2.

Sin embargo, en el caso particular del paciente llamado Flaco, los niveles de testosterona se mantuvieron constantes durante los primeros 9 muestreos, mostrando un incremento significativo en la secreción de testosterona a partir del día 18 de experimentación.

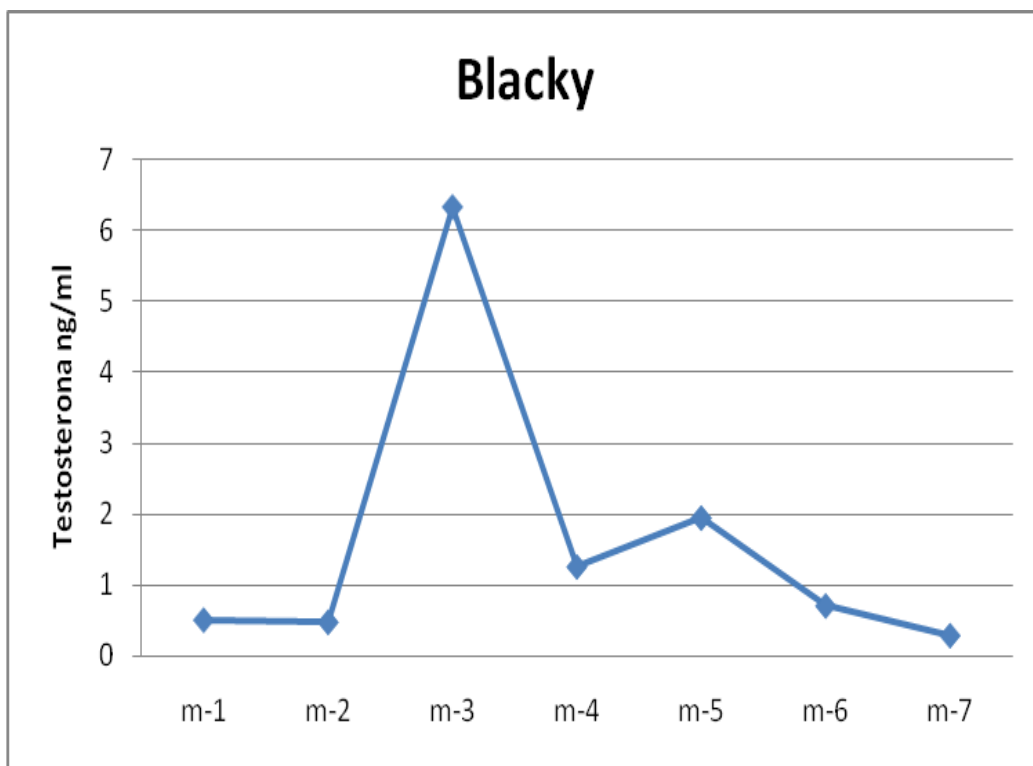


Gráfico 3. Niveles séricos "Blacky"

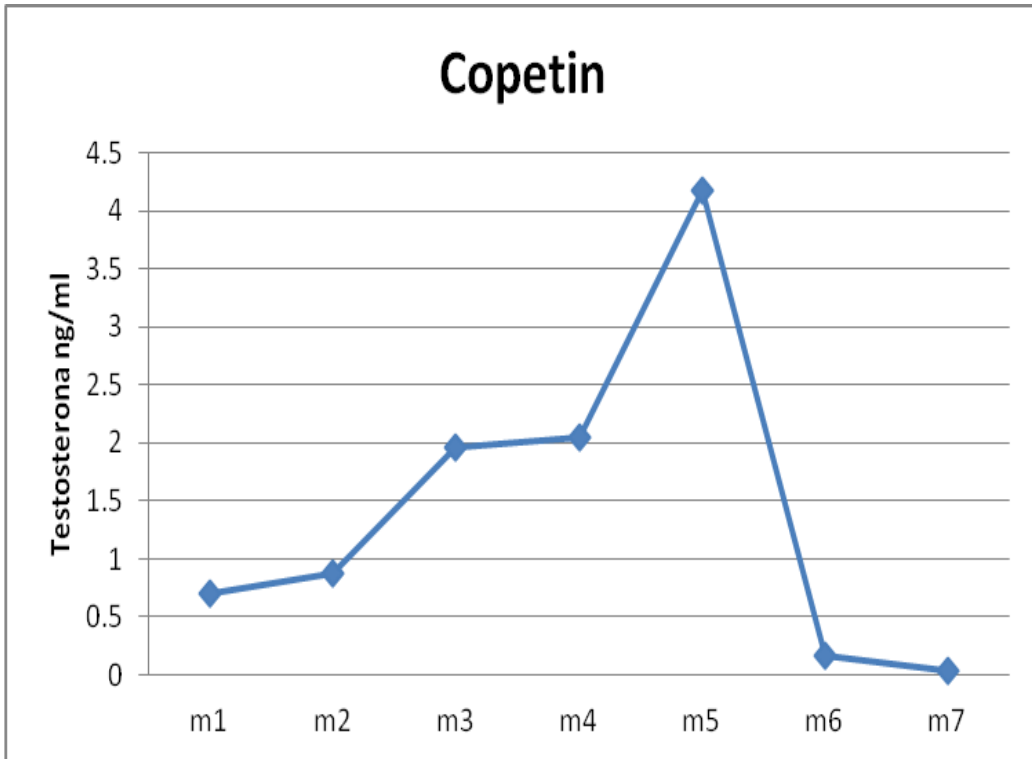


Gráfico 3. Niveles séricos “Copetin”

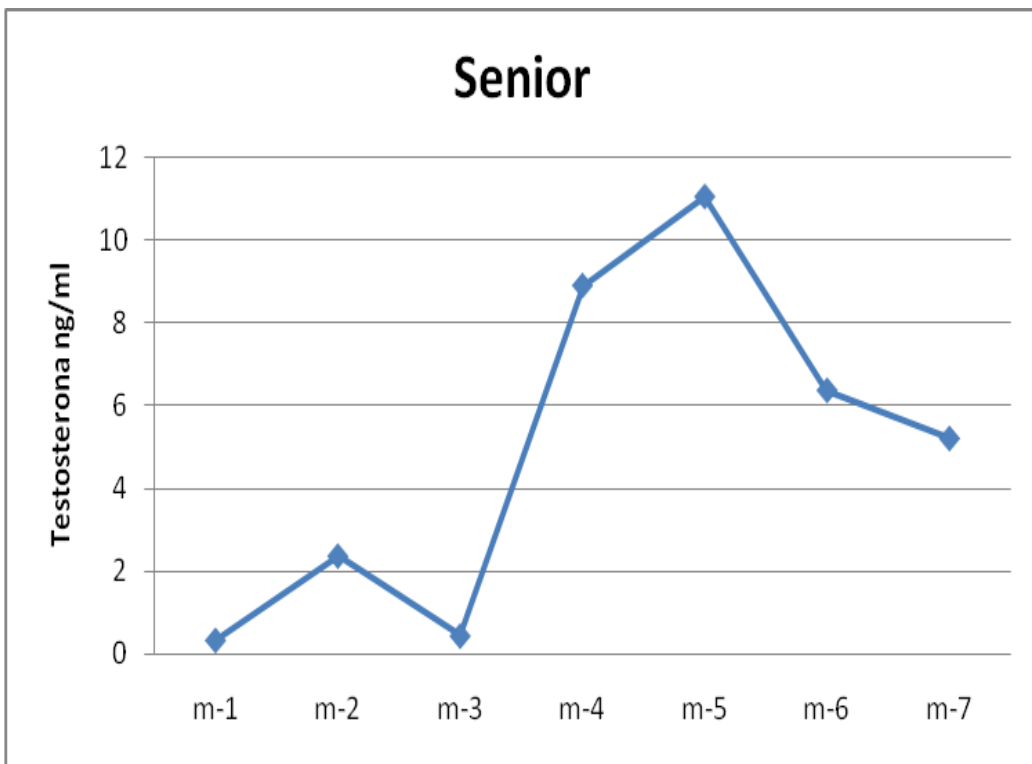


Gráfico 5. Niveles séricos “Senior”

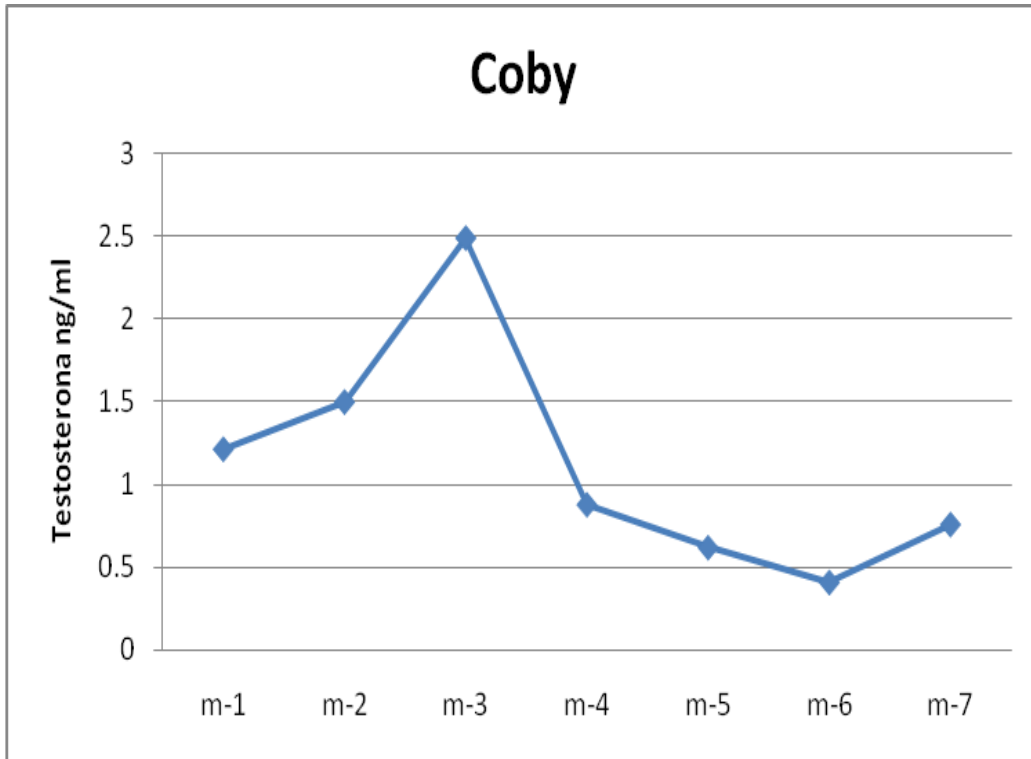


Gráfico 6. Niveles séricos “Coby”

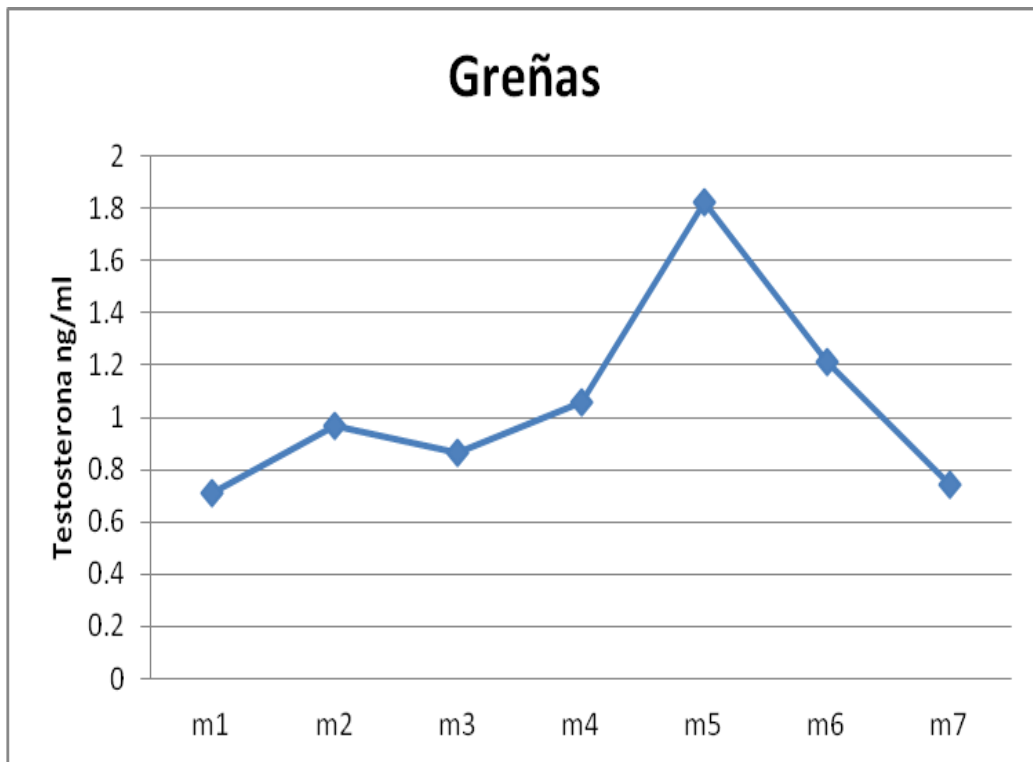


Gráfico 7. Niveles séricos “greñas”

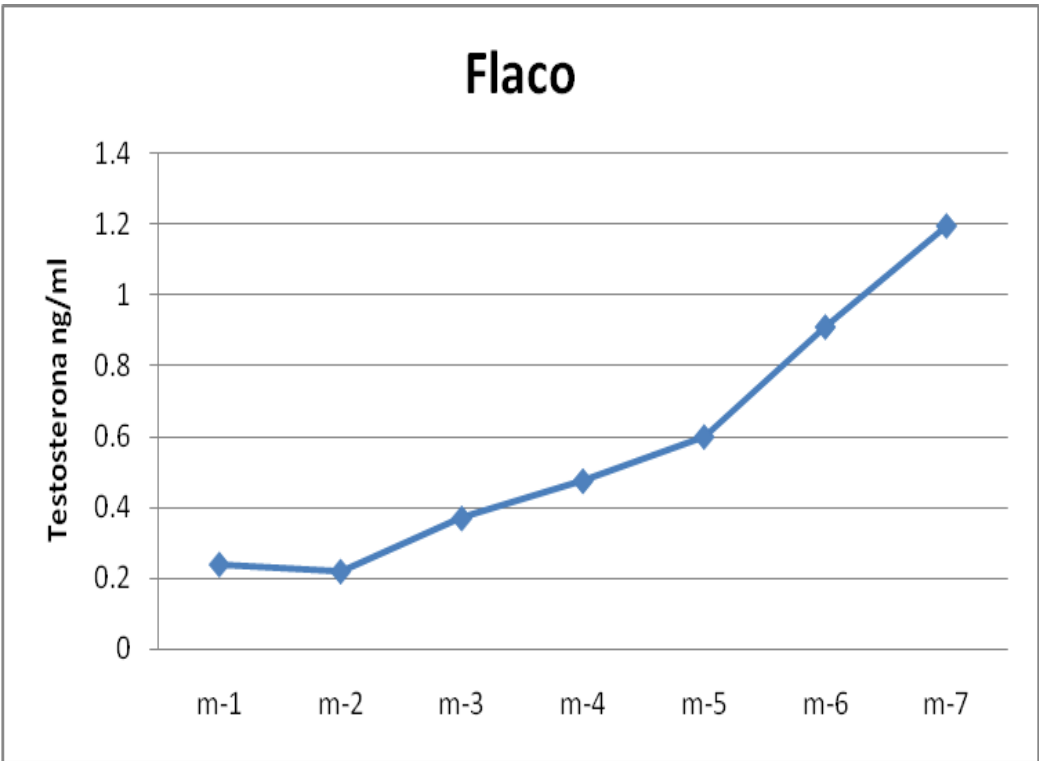


Gráfico 8. Niveles séricos “Flaco”

9. DISCUSIÓN.

Referente al estudio de antagonistas opioides, los reportes sobre el efecto de la Nx en perros son escasos, sin embargo el estudio de los POE y sus efectos neuroendócrinos están documentados en otras especies domésticas. Al respecto, en el presente estudio se observó que el comportamiento de los perros tratados con Nx, manifestaron un aumento en los niveles séricos de testosterona (T), confirmando con ello que es factible el uso de este fármaco para favorecer la reproducción de esta especie.

Al respecto, Enríquez (2003) y Hernández *et al.*, (2006a) al realizar revisiones detalladas sobre el control opioidérgico de la Nx en la fisiología reproductiva de diversas especies domésticas, concluyen que las hormonas más afectadas por este fármaco son la LH y T en el macho. No obstante, estos autores también describen que los niveles de estas hormonas se incrementan considerablemente en diferentes situaciones, como es la época de menor actividad sexual, ya sea mejorando la libido o la conducta sexual. Al respecto, en el presente trabajo se observó que los niveles de T se incrementaron a partir del sexto día, por lo que estos datos son semejantes a lo descrito por Enríquez (2003) y Hernández *et al.*, (2006a), ya que al existir un bloqueo de los receptores microendofinérgicos en el cerebro, esto permite la neurosecreción de GnRH, que a su vez estimula la producción de LH en la adenohipófisis, que en los machos producirá un aumento en la función de las células de Leydig en el testículo, donde finalmente se inducirá una mayor producción de T.

En lo que respecta a los caninos, sólo Fuentes (1991) realizó el reporte escrito de un caso clínico donde utilizó la Nx en un perro de la raza Caniche o comúnmente denominado como French Poodle, mismo que fue diagnosticado mediante espermatobiograma con un problema de sub – infertilidad. Los resultados del caso clínico, previo la administración de Nx fueron los siguientes: testículos de consistencia normal pero de tamaño pequeño, epidídimos no palpables, pene y prepucio normales. En cuanto a la libido se consideró su capacidad de monta y su eyaculación como normales. El semen era de color claro, inodoro, pH de 7.0; sin embargo presentaba inmovilidad total con 97 % de espermatozoides muertos. En ese estudio, el autor ya referido administró Nx por vía intramuscular diluida con SSF (solución salina fisiológica) a una

dosis de 1 mg cada 12 horas durante 14 días, transcurrido este tiempo los resultados obtenidos por el investigador fueron los siguientes: aumento ligero en el tamaño testicular, el epidídimo derecho se evidenció más, pero el izquierdo no se palpó con certeza. Así mismo la libido y la eyaculación se consideraron normales con el semen de color normal, sin olores extraños, pH de 7.0; y con un incremento notable de espermatozoides, mismos que presentaron 85% de movimiento individual. Cabe destacar que después del tratamiento con Nx el 3 % de espermatozoides estaba muerto.

Con esto se puede inferir, a pesar de que Fuentes (1991) no realizó la medición de la T, lo observado en sus resultados son producto de la estimulación del eje hipotálamo – hipofisario – gonadal donde como ya se había citado, Enríquez (2003) y Hernández *et al.*, (2006a) describen que la Nx ejerce un bloqueo de los receptores microendofinéricos en el cerebro, lo cual siguiendo el orden del eje se permite la neurosecreción de GnRH, que a su vez estimula la producción de LH en la adenohipófisis, que en los machos producirá un aumento en la función de las células de Leydig en el testículo, donde finalmente se inducirá una mayor producción de T y una mejora en la calidad seminal de los machos tal y como sucedió en el presente estudio con la valoración del andrógeno testicular.

Con referencia al efecto de la Nx en relación a los niveles séricos de T en las diversas especies domésticas, en el presente estudio se observó que las concentraciones promedio expresadas en ng/ml previos a la administración de Nx fueron de 0.33 ± 0.26 , y una vez iniciando la administración de esta, los valores fueron de 1.79 ± 1.51 ($P < 0.05$). Al respecto, Hernández (2008) en un estudio realizado en conejos de la raza California, reportó que los niveles de testosterona en esta especie durante el mes de Diciembre del 2005 fueron de 0.90 ± 0.67 ng/ml para el grupo control y de 1.11 ± 0.64 para el grupo experimental tratado con Nx. Cabe señalar que aunque se trata de otra especie diferente a los caninos, la concentración sérica de T también fue incrementada tal y como sucedió en el presente estudio. No obstante, la concentración normal del andrógeno en caninos no castrados varía desde 0.5 – 9 ng/ml, situación que al compararla con los datos obtenidos en el presente experimento, tanto el valor de T sérica en el grupo control como en el experimental están dentro del rango reportado por Couto (2003).

Por otra parte, Guzmán (2006) utilizando Nx en conejos de raza California durante el mes de Diciembre, el cual se considera la época de disminución de la actividad sexual en esta especie, encontró en el grupo experimental un aumento significativo en los niveles de T mostrándose valores de 3.17 ± 1.44 ng/ml. De la misma forma observó que los niveles séricos de T, después del tercer día de la administración de Nx, aumentaron, diferenciándose del grupo control el cual mantuvo sus niveles durante todo el experimento. A pesar de que el trabajo anterior fue realizado en conejos, en el presente experimento con caninos se pudo observar un fenómeno similar, en algunos como “flaco” y “greñas” el aumento de T fue de manera gradual, a diferencia del resto de los semovientes ya que los niveles séricos de T se incrementaron a partir del día 6 de administración de Nx, aumentándose paulatinamente hasta alcanzar el pico máximo de concentración de T el día 15 (3.32 ng/ml).

Del mismo modo, Hernández *et al.*, (2006) realizaron una investigación en conejos de la raza California y aunque no fue realizada la medición de T sérica, estos investigadores reportan que la Nx es capaz de aumentar la actividad testicular, donde el volumen y la concentración espermática incrementan de manera significativa, concluyendo así que este opioide antagonista influye sobre la función endócrina del testículo modificando las características seminales ya mencionadas.

Como puede relacionarse, las observaciones de los estudios que ya fueron descritas se encuentran mediadas por antagonistas opioides como la Nx, misma que fue evaluada en la presente tesis, por lo que estas evidencias permiten sugerir que los POE son susceptibles de ser regulados por antagonistas opiáceos y de esta manera mejorar el comportamiento reproductivo de los machos en estudio.

10. CONCLUSIONES

Se concluye que el antagónico opioide denominado Clorhidrato de Naloxona administrado vía intramuscular a una dosis de 0.04 mg/kg, cada 24 horas por 15 días consecutivos, produce un aumento de los niveles séricos de Testosterona en las caninos machos estudiados.

Por lo tanto se pueden sugerir estudios de evaluación seminal para observar los efectos que la Nx puede tener sobre la calidad seminal del perro.

11. LITERATURA CITADA.

1. Alcázar, N.A. 1991. El efecto de la Naloxona sobre el diámetro testicular y la libido del conejo. Tesis de Licenciatura. FMVZ – UNAM. México.
2. Arreguín, A.J., Villa-Godoy, A., Montañó-Bermúdez, M., Villagómez – Amezcua, E., Román – Ponce, H., y Cárdenas, L.M. 1995. Interacción de la naloxona con progesterona y el estradiol, durante el anestro posparto en la vaca cebú. *Téc. Pec. México.* 33 (2) : 53 –65.
3. Aurich, C., Burgmann, F., Hoppen, H.O., Wuttke, W., Hoppe, H., and Aurich, Plasm prolactin concentration in the horse – response to opioid receptor blockade with naloxone and comparison of two prolactin assay systems *endocrinology. Reprod. Dom. Anim.* 30 (4) : 188 – 192.
4. Aurich, C., Hoppe, H., Aurich, J.E., and Rath, D. 1997. Role of reproductive
5. Aurich, Chr., Burgmann, F., and Hoppe, H. 1996a. Opioid regulation of luteinizing hormone and prolactin release in the horse – identical independent endocrine pathways. *Anim. Sci.* 44 : 127 – 134. 122 : 509 – 517.
6. Aurich, J.E., Hoppe, H.O., Hoppe, H. and Aurich, Chr. 1996b. Endogenous Opioids and reproductive functions in the horse. *Anim. Reprod. Sci.* 42: 119 – 129. 115
7. Ávila, T.A. 2005. Uso del clorhidrato de naloxona como estimulante de la receptividad, fertilidad y prolificidad en conejas chinchilla. Tesis Licenciatura. FESC. UNAM. México.
8. Bastida, G.T. 1985. Tratamiento del estado de shock con Naloxona. Tesis Especialidad en Anestesiología. Facultad de Medicina. UNAM. México.
9. Bicknell, R.J. 1985. Endogenous opioid peptides and hypothalamic neuroendocrine neurons. *Ltd Great Britain. J. Endocrinol.* 107 : 437 – 446 .
10. Bozena, S. y Tilton, J.E. 1995. Short – term inhibition of prolactin secretion by naloxone treatment impregnant gilt. *Anim. Reprod. Sci.* 39 : 59.
11. Branson, K. y Marjorie, E. G. 2003. Agonistas y antagonistas opioides. Cap. 13 En: *Farmacología y terapéutica veterinaria.* Adams, R. Editor. 2a edición. Editorial Acribia. España.
12. Branson, K. y Marjorie, E. G. 2003. Agonistas y antagonistas opioides. Cap. 13 En:
13. Brooks, A.N., Lamming, G.E., Haynes, N.B. 1986. Endogenous opioid peptides and the control of gonadotropin secretion (review article). *Res. Vet. Sci.* 41 : 285 – 299.

14. Caira, M., Valentini, L., Guaricci, A.C., Minoia, R., Rizzo, A., y Sciorsci, R.L. 2004. Colica intestinal de la caballo rollo eziopatogenetico degli oppioidi endogeni. *Obviettivie documenti veterinari*. 25 (7/8) : 33 – 36.
15. Cervantes, V.R. 1994. Efecto de la administraci3n de Naloxona en la secreci3n de la hormona luteinizante.
16. Ciarcia, G.F. 1994. Opioid peptides and testicular activity in the lizard, *Journal of Endocrinology*. 143:565-571.
17. Cicero, T.J., Wilcox, C.E., Bell, R.D. y Meyer, E.R. 1977. Morphine decreases luteinizing hormone by an action on the hypothalamic – pituitary axis. *J. Pharmacol. Experim. Therap.* 203: 548 – 555.
18. Couto, G.C., Nelson, R.W. 2003. *Medicina interna de peque1os animales*, 3a Edici3n. Edit Mosby. China.
19. Currie, W.D. and Rawlings, N.C. 1989. Fluctuation of LH and lack of responsiveness of FSH to prolonged infusion of morphine and naloxone in the ewe. *J. Reprod. Fert.* 86 : 359 – 366
20. De Le3n, T.M., Garc3a, C.J., y Padilla, R. 1992. Efecto de la Naloxona como uniformador de cuerpos luteos para transferencia de embriones. En *Memorias del IX Congreso Nacional Caprino*. Monterrey, Nuevo Le3n, M3xico.
21. Done, S.H., Evans, S.A., Goody, P.C., Stickland, N.C., 2009. *Color Atlas of Veterinary Anatomy. The Dog and Cat*. 2a Edici3n. Edit. Mosby Elsevier. China.
22. Donnerer, J., Cardinale, G., Coffey, J., Lisek, C.A., Jardine, I., y Spector, S. 1987. Chemical characterization and regulation of endogenous morphine and codeine in the rat. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 242 : 583 – 587.
23. Dyce, K.M., Sack, W.O., Wensing, C.J.G., 2007. *Anatom3a veterinaria*. 3a Edici3n. Edit. Manual Moderno. M3xico. Edici3n. Editorial McGraw – Hill. Colombia.
24. El - Sheltawi, M., Essawy, S.A., El-Rafei, G.A., Abd-el-malak, G., y Makkar-nn. 1995. Effect of opioid antagonist on hormonal modulation and their relation to male reproduction. *Animal Reproduction Research Institute. Zagazing University. Benha, Egypt.*
25. *endocrinology. Reprod. Dom. Anim.* 30 (4) : 188 – 192.
26. Enr3quez, G.A. 2003. El control opioid3rgico del Clorhidrato de Naloxona sobre los mecanismos reproductivos en los animales dom3sticos (estudio recapitulativo). Tesis

- Licenciatura. FESC – UNAM. México. Farmacología y terapéutica veterinaria. Adams, R. Editor. 2a edición. Editorial Acribia. España.
27. Franco, M.M.A., 1996. Efecto de la Naloxona sobre la espermatogénesis y el anabolismo de caprinos en crecimiento. Tesis de Maestría. Nuevo León. México.
 28. Frandson, R.D. 2003 Anatomía y Fisiología de los animales domésticos. 6ª Edic. Edit. Lippincott Williams & Wilkins. United States of America.
 29. Fuentes, H.V. y Ruiz, S.H. 1989. El efecto de la naloxona sobre la capacidad ovulatoria de la cabra alpina. Memorias del VI Congreso Nacional Azteca. Guadalajara, Jalisco, México.
 30. Fuentes, H.V.O. 1985. Farmacología y Terapéutica Veterinarias. 1ª edición. Editorial Interamericana. México.
 31. Fuentes, H.V.O. 1991. Infertilidad en el perro. El uso de la naloxona en un caso clínico de infertilidad en un French Poodle Toy macho. Vet. Méx. 22 (2) : 191 – 192.
 32. Fuentes, H.V.O. 1992. Farmacología y Terapéutica Veterinarias. 2ª edición. Editorial Interamericana. McGraw-Hill. México.
 33. Fuentes, H.V.O., and Fuentes, P.I. 1998. New approach to the therapeutic treatment of infertility in the male dog. Vet. Rec. 143 : 507 – 508.
 34. Fuentes, H.V.O., Cortés, L.A., y Sánchez, P.V. 2004a. Efecto de la Naloxona en la duración y presentación del primer estro después del destete en la marrana. En Memorias 120 del 1er. Foro de Egresados Posgrado Interinstitucional en Ciencias Pecuarias. PICP. Universidad de Colima. México.
 35. Fuentes, H.V.O., Orozco, R., y Álvarez, J. 2002. El efecto de dosis bajas y elevadas de naloxona sobre la tasa ovulatoria de la borrega suffolk durante la época de empadre. En Memorias del XXVI Congreso Nacional de Buiatría. AMMVEB. Acapulco, Guerrero. México.
 36. Fuentes, H.V.O., y Peraza, C. 1988. El uso de la naloxona y la progesterona para adelantar la época de empadre en la cabra alpina. Memorias del IV congreso de Caprinocultura. México. 24 – 27.
 37. Fuentes, V., Lorenzana, L., Navarro, J. Fuentes, P., y Sánchez, R. 2003b. Los niveles plasmáticos de la hormona luteinizante en la cabra doméstica durante la pubertad y su control opioide endógeno. En Memorias del XXV Congreso Nacional de Buiatría. Tabasco, México.

38. Fuentes, V., Sánchez, V., González, H., Fuentes, P., García, A., y Rosiles, R. 1997a. La función endócrina del testículo en el carnero criollo mexicano durante las diferentes épocas del año y control opioideérgico durante el anestro. *J. Vet. Med.* 44: 259 – 263.
39. Fuentes, V.O., Álvarez, J.J., Hernández, A., Fuentes, P.I., and Sánchez, G.R. 2003a. The effect of small doses of naloxone on the initiation and duration of the first oestrus after weaning in sows. *Anim. Reprod. Sci.* 79 (1 – 2) : 121 – 125.
40. Fuentes, V.O., Fuentes, P., y García, A. 1998. The effect of naloxone on plasma concentrations of testosterona in male goats. *Small Rum. Res.* 27 (2) : 173 - 176; 13.
41. Fuentes, V.O., Ruiz, C.J.G., Fuentes, P.I., and Sánchez, G.R. 2003c. The pharmacological effect of implanted and injected naloxona on plasma testosterone levels in bucks during breeding and non breeding seasons. En *Memorias del American Dairy Science Association, American Society in Animal Science and Animal Science Mexican Association of Animal Production*. Phoenix, Arizona. USA.
42. Fuentes, V.O., Sánchez, V., González, H., Fuentes, P., García, A., and Rosiles, R. 1997b. Endocrine function of the testicle in the mexican crossbred ram at different times of the year and its opioideérgic control during anoestrus. *Zentralbl Veterinarmed A.* 44 (5): 259 –263
43. Fuentes, V.O., Sánchez, V., Rosiles, R., and Fuentes, P.I. 2001. The effect of low doses of naloxone on the preovulatory surge of LH and on the onset and duration of oestrus in the 119 ewe with induced oestrus during the non breeding season. *Anim. Reprod. Sci.* 65 (3 – 4) : 225 – 230.
44. Fuentes, V.O., Villagrán, C., Navarro, J., and Fuentes, P.I. 2005. Effect of small doses of naloxone on sexual exhaustion in White New Zealand male rabbits. *Anim. Reprod. Sci.* 90 (3-4) : 341 – 346.
45. Fuentes, V.O., Villagrán, C., Orozco, R., and Álvarez, J.J. 2003d. The pharmacological effect of small doses of naloxone on sexual exhaustion in White New Zealand male rabbits. En *Memorias del American Dairy Science Association, American Society in Animal Science and Animal Science Mexican Association of Animal Production*. Phoenix, Arizona. USA.
46. Galina, C., Valencia, J. 2006. *Reproducción de los animales domésticos*. 2ª Edic. Edit. Limusa. México.

47. Galina, H.M., Fuentes, V.O., y Silva, P.E. 1991. Efecto de dos tratamientos; naloxona y esponjas con progestágenos (MGA) en la fertilidad de cabras en época de aparente anestro. En Memorias del VIII Congreso Nacional de Caprinocultura AZTECA. México.
48. García, C., Alardín, S., y Crespo, R. 1991. Efecto de la naloxona en la tasa de concepción de cabras sincronizadas con PgF2 α e inseminadas artificialmente con semen fresco diluído en leche de bovino. Memorias del VII Congreso Nacional Caprino. Universidad Autónoma Metropolitana. México.
49. Gardy, J.B. 1991. Utilization de la naloxone pour la Matrice de Reproduction chez la chevre. Diplôme d Etudes Superieures specialisess productions animales en regions Chaudes. Ecole Nationale Vetérinaire d' Alfort. París, France.
50. Gillian, M. S., Gary, C.W., England M. H. 2000. Manual de Reproducción y Neonatología en pequeños animales. Edit Har Court. España.
51. González, A.A. 1985. Reversión de Ketamina por Naloxona. Tesis de Posgrado. Especialización en Anestesiología. Facultad de Medicina. UNAM. México.
52. González, H., Fuentes, V.O., Sánchez, V. y García, A. 1994. El efecto de la naloxona sobre la secreción pulsátil de la prolactina en la borrega criolla. XVIII Congreso Nacional de Buiatría. México.
53. González, H., Fuentes, V.O., y Sánchez, V. 1995. Efecto de la primera y segunda dosis de naloxona sobre la secreción pulsátil de la prolactina en la borrega criolla durante su anestro. XIX Congreso Nacional de Buiatría. México. 121
54. González, T.L.E. 2005. Acción antagónica de la Naloxona sobre los efectos anestésicos de la Ketamina en perros. Tesis Licenciatura. FESC. UNAM. México.
55. Goodman. Gilman, A. 2001. Bases Farmacológicas de la Terapéutica, 10^a Edic. Vol. 1. Edit Mc Graw-Hill Interamericana. México.
56. Guajardo, H., García, C. J., Gómez, R. N. Huerta, C. J., Olivares, S. E., Perera, G., y Salas, V.A. 1997. Effect of GnRH and Naloxone on LH Release in Seasonal anoestrus goats. En Memorias del XII Reunión Nacional sobre Caprinocultura. Editores Moreno – Reséndez. México
57. Gutstein, H.B., y Akil, H. 2003. Analgésicos opioides. Capítulo 23. En: Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Goodman and Gilman Editores. Tomo 1. 10^a edición. Editorial McGraw – Hill. Interamericana. México.

58. Guzmán, P.N.G. 2008. Efecto de la Naloxona sobre los niveles séricos de testosterona en conejos machos de raza California. Tesis Licenciatura. FESC. UNAM. México.
59. Hafez, E.S.E, B.H. 2002. Reproducción e Inseminación Artificial en animales. Edit Mc Graw-Hill Interamericana. 7ª Edición. Cap 1-3-11.
60. Hernández M.M., 2008. Efecto de la Naloxona sobre el tiempo de reacción a la monta y su correlación con los niveles séricos de Testosterona en conejos California. Tesis de Licenciatura.FESC. UNAM. México.
61. Hernández, A.I. y Ruiz, C.J.G. 2006. Efecto de un opioide sobre el tiempo de anestesia disociativa en perros adultos. En Memorias del 4º Curso – Taller de Anestesiología en Medicina Veterinaria. FESC – UNAM. México.
62. Hernández, A.I., Ruiz, C.J.G., Ruiz, R.M.A., Esperón, S.A.E., y Ruiz, C.J.J 2006b. Efecto de un opioide sobre el volumen y concentración espermática en conejos de raza California durante la época de reposo sexual (Resultados preliminares). Rev. Ciencia, Biodiversidad y Tecnología Agropecuaria. Ene - Jun 2006. 3 (1): 5. 1 – 5.
63. Hernández, A.I., Ruiz, C.J.G., Ruiz, R.M.A., Ruiz, C.J.J., Miranda, C.A.E. 2006. Péptidos Opioides Endógenos. AMMVEPE 17(6):255-263.
64. Hernández, A.I., Ruiz, C.J.G., Ruiz, R.M.A., Ruiz, C.J.J., y Miranda, C.A.E. 2006a. Péptidos opioides endógenos (POE): su control sobre la reproducción. Rev. AMMVEPE. 16 (3): 255 – 263.
65. Hernández, A.I., Ruiz, C.J.G., Velasco, M.M.J., Hernández, A.A.S., y Gómez, E.D. 2009. Tratamiento de quistes foliculares con un opioide: reporte de un caso clínico. Rev. AMMVEPE. In press.
66. Hernández, A.I., Ruiz, C.J.G., y Miranda, C.A.E. 2008. Tratamiento de quistes foliculares con derivados opioides: presentación de un caso clínico. En Memorias del XII Congreso Veterinario de León. León, Guanajuato. México.
67. Hetta, J. 1977. Effects of morphine and naltrexone on sexual behavior of the male rat. Act. Pharmacol. Toxicol. 41 suppl. 4 : 53 – 59.
68. Hill, W. 2004. Fisiología Animal. Edit. Medica Panamericana. España.
69. Horton, R.J.E., Francis, H. and Clarke, I.J. 1989. Seasonal and steroid – dependent effects on the modulation of LH secretion in the Ewe by intracerebroventricularly administered β endorphin or naloxone. J. Endocrinol.

70. Hrapkiewicz, K., Medina, L., and Holmes, D.D. 1998. Clinical laboratory animal medicine an introduction. 2nd edition. Iowa State University Press. USA.
71. Kalra, S.P. 1981. Neuronal loci involved in naloxone – induced luteinizing hormone release: Effect of a norepinephrine synthesis inhibitor. *Endocrinol.* 109 : 1805 – 1810.
72. Kalra, S.P., and Kalra, P.S. 1984. Opioid – adrenergic – steroid connection in regulation of luteinizing hormone secretion in the rat. *Neuroendocrinol.* 38 : 418 – 426.
73. Kania, B.F., and Domanski, E. 1996. Central adrenergic pathway participation in the inhibitory effects of endorphin on forestomach motility in the sheep. *Small Rum. Res.* 19 (3) : 247 – 254.
74. Karasik, M.D. 1991. El uso de la meperidina y la naloxona como coadyuvantes en la anestesia con pentobarbital en el perro. Tesis Licenciatura. FMVZ. UNAM. México.
75. Keafer, M., Peters, C. A., Retik, A. B., Benacerraf, B.B. 1997. Increased renal endogenicity: a sonographic sign for differentiation between obstructive and nonobstructive etiologies of in utero bladder distention. *J. UROL.* 158:1026:1029.
76. Kim, Kh., Lee, B.J., Lee, C.C., Cho, W.K., and Ramírez, V.D. 1991. Adrenergic mediation of naloxone – induced, GnRH release from hypothalamic of ovariectomized, steroid-treated immature rats. *Act. Endocrinol.* 125 (6) : 680 – 686.
77. Kordon, C., Drouva, S., Martínez de la Escalera, G., and Weiner, R.I. 1994. Role of classic and peptide neuromediators in the neuroendocrine regulation of luteinizing hormone and prolactin. Chapter 27 in: *The Physiology of Reproduction*. Knobil, E., and Neill, J.D., editors. 2nd edition. Raven press. Ltd. New York. USA.
78. Kotwica, G., Sobczak, J., and Kozirowski, M. 1995. Effects of opioid peptides indomethacin and age on oxytocin and prolactin release during mating in sows. *Reprod. Dom. Anim.* 30 (5) : 257 – 263.
79. Kumru, S., Simsek, B., Yilmaz, B., Sapmaz, E., Kutlu, S., Sandal, S., and Canpolat, S. 2001. Differential regulation of preovulatory luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone release by opioids in the proestrous rat. *Physiol. Res.* 50: 397 – 403.
80. León, H.Y. 2008. Efecto de la premedicación con naloxona sobre la acción analgésica y anestésica de la ketamina en ratas adultas. Tesis Licenciatura. FESC. UNAM. México.

81. Lewis, J., Mansour, A., Khachaturian, H., Watson, S.J., and Akil, H. 1987. Opioids an pain regulation. Vol. 9. In pain and headache, Neurotransmitters and pain control. Akil, H., and Lewis, J.W. Editors. pp. 129 – 159.
82. Lorenzana, C.L.C. 1998. Control opioide del comportamiento reproductivo de la cabra.El uso de implantes para la administración crónica de naloxona. 1er. Seminario de Avances en Investigación, Maestría en Ciencias Pecuarias. PICP. Universidad de Colima. México.
83. Lorenzana, C.L.C., Ocampo, C.L., Páez, E.D., Auró, A., y Sumano, L.H. 1998.Disminución del daño tisular inducido por la obstrucción intestinal experimental con naloxona y sulfóxido de dimetilo en perros. Vet. Mex. 29 (1) : 1 – 6.Localization of pro – opiomelanocortin neurons in human brain areas sub-serving.
84. Luna, S.P.L., and Taylor, P.M. 2001. Cardiorespiratory and endocrine effects of endogenous opioids antagonism by naloxone in ponies anaesthetised with halotane. Res. Vet. Sci. 70 : 95 – 100.
85. Malven, P.V., Aurich, C., Aurich, J.E. and Rath, D. 1995. Role of endogenous opioids for regulation of the oestrus cycle in the sheep and cattle. Comparative and Equine Reproductive Endocrinology. Reprod. Dom. Anim. 30 (4) : 183 – 187.
86. Miranda, C.A.E. 2007. Efecto del clorhidrato de naloxona sobre el electrocardiograma(ECG) de perros adultos sedados con xilacina y buprenorfina. Tesis Licenciatura. FESC. UNAM. México.
87. Miranda, C.A.E., Hernández, A.I., López, R.E, y Ruiz, C.J.G. 2007b. Efecto de la naloxona sobre el electrocardiograma (ECG), frecuencia cardiaca y tiempo de recuperación anestésica de perros adultos sedados con una mezcla neuroleptoanalgésica. Rev. AMMVEPE. 18 (6) : 155 – 160.
88. Miranda, C.A.E., Hernández, A.I., y Ruiz, C.J.G. 2007a. Evaluación del efecto de la naloxona sobre los trazos electrocardiográficos de perros adultos sedados con una mezcla ataralgésica (resultados preliminares). Archivo electrónico En: Memorias del XII Congreso Veterinario de León. Guanajuato, México.
89. Miranda, C.A.E., y Hernández, A.I. 2007. Efecto de un opioide sobre elelectrocardiograma de pacientes sedados con Xilacina y Buprenorfina. En Memorias del 5º Curso – Taller de Anestesiología en Medicina Veterinaria. FESC. UNAM. México.

90. Nicholson, A., y Christie, M. 2004. Analgésicos opioides. Cap. 13 En : Farmacología Clínica en pequeños animales. Maddison, J.E., Page, S.W., y Church, D. Editores. Editorial Intermédica. Argentina.
91. Nolan, A. 2002. SNC. Opioides. Cap. 14 En: Farmacología y Terapéutica Veterinaria. Botana, L.L.M., Landoni, F., y Martín, T. Editores. Editorial McGraw-Hill Interamericana. España.
92. Ojeda, S.C. 2002. Efectos de la naloxona sobre el sistema cardiovascular. Tesis Especialidad Anestesiología. Facultad de Medicina. UNAM. México.
93. Okrasa, S., Kalamarz, H., and Ziecik, A.J. 1995. Gonadotrophin – releasing hormone release in vitro from the stalk median eminence of cyclic and ovariectomized gilts in response to naloxone or morphine. Anim. Reprod. Sci. 40 (1 – 2) : 151 – 163.126
94. Olsina, R. 2001. Recopilación Clínica Veterinaria Iguazo. Patología del sistema genital masculino.
95. Orsola, A., Faratti, J. M. 2001. Embriología urogenital: bases genéticas, ecografía prenatal. Fundacion Puigvert. Vol 20. N°3.
96. Pallas, G., Fuentes, V.O., Sánchez, E., Hidalgo, A., y González, H. 1993. El efecto de la Naloxona sobre la enfermedad de los quistes foliculares diagnosticados clínicamente en vacas lecheras. En Memorias del Congreso Nacional de Buiatría. México.
97. Pallas, G.G.E. 1993. El uso de la naloxona en la terapia de los quistes foliculares de la vaca lechera. Tesis de Licenciatura. FMVZ – UNAM. México.
98. Pedrón, N., Pedroza, D., Calzada, E., Salazar, L., and Fuentes, V. 1996. Effect of naloxone on serum testosterone in adult male rabbits. Archiv. Androl. 37 : 15 – 18.
99. Peebles, E.D., Pond, A.L., Thompson, J.R., Mc Daniel, C.D., Cox, N.M., and Latour, M.A. 1997. Naloxone attenuates serum corticosterone and augments serum glucose concentrations in boilers stimulated with adrenocorticotropin. Poultry Sci. 76 (3) : 511 – 515.
100. Picco, R.A.V. 2007. Acción del clorhidrato de naloxona sobre los efectos de un cóctel anestésico en perros adultos. Tesis Licenciatura. FESC. UNAM. México.
101. Pilcher, W.H., Joseph, S.A. and McDonald, J.V. 1988. Immunocytochemical localization of pro – opiomelanocortin neurons in human brain areas sub-serving stimulation analgesia. J. Neurosurg. 68 : 621 – 629.

102. Pineda, R.F., y Ramírez, M.L.G. 2008. Efecto de la naloxona en conejos machos prepúberes de la raza nueva zelandia. Tesis Licenciatura. FESC. UNAM. México.
103. Plumb, D.C. 2002. Veterinary drug handbook. 4th. Edition. Iowa State
104. Plumb, D.C. 2006. Manual de Farmacología Veterinaria. 5ª edición. Editorial Intermédica. Argentina.
105. Pryor, S.C., and Fascher, E. 1995. The effects of opiates and neuropeptides on mosquito hemocytes. *Act. Biol. Hungárica*. 46 (2 – 5) : 329 – 340.
106. Puig, M.M., Montes, A., 1998. Opioids: from receptors to clinical application. *Current Review of Pain*. 2(4):234-41.
107. Rawlings, N.C. and Churchill, I.J. 1990. Effect of naloxone on gonadotrophin secretion at various stages of development in the ewelamb. *J. Reprod. Fert.* 89 : 503 – 509. 127
108. Rebollar, P. G., Alvarino, J.M.R., Illera, J.C., and Silvan, G. 1997. Effect of gonadorelin and naloxone on induction of ovulation and plasma LH in rabbit. *J. Physiol. Biochem. Rev. Esp. Fisiol.* 53 (2) : 205 – 210.
109. Reisine, T. y Pasternak, G. 1996. Analgésicos opioides y sus antagonistas. Capítulo 23. En: las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Goodman and Gilman editores. Vol. 1. 9ª edición. Editorial McGraw – Hill. Interamericana. México.
110. Rodríguez, R.H.A. 1988. El uso del morfinoide nalbufina y del antagonista opioide naloxona para disminuir la dosis anestésica del pentobarbital sódico y aumentar su margen terapéutico en el perro. Tesis Licenciatura. FMVZ. UNAM. México.
111. Roozendaal, M.M., Swarts, J.J.M., Maanen, J.C., Wiegant, V.M., Mattheij, J.A.M., and Van-Maanen, J.C. 1997. Inhibition of the LH surge in cyclic rats by stress is not mediated by opioids. *Life – Sciences*. 60 (10) : 735 – 742.
112. Rosano, L.M.Á. 1991. Efecto de la Naloxona sobre la perceptibilidad sexual de la coneja Nueva Zelanda. Tesis de licenciatura. FMVZ. UNAM. México.
113. Ruiz, C.J.G. 1996. Evaluación de tres tratamientos sobre la fertilidad y prolificidad aplicados en cabras en dos épocas del año. Tesis de Maestría. Posgrado Interinstitucional en Ciencias Pecuarias. PICP. Universidad de Colima. México. 128.
114. Ruiz, C.J.G. 2004. Efecto de la aplicación del clorhidrato de naloxona sobre la función testicular del macho cabrío. Tesis Doctoral. Posgrado Interinstitucional en Ciencias Pecuarias. PICP. Universidad de Colima. México.

115. Ruiz, C.J.G. y Hernández, A.I. 2005. *Farmacología para Médicos Veterinarios Zootecnistas*. 1ª edición. Editorial UNAM. México.
116. Ruiz, C.J.G., Fuentes, H.V.O., Carmona, M.M.A., Galina, H.M.A., Ruiz, M., y Morales, R. 1998a. The effect of a naloxone implant on testicle size, libido and seminal characteristics of male bucks. *Advances Agricul. Res.* 7 (3): 37 – 40.
117. Ruiz, C.J.G., Fuentes, H.V.O., Carmona, M.M.A., Valencia, M.J., Ruiz, R.M.A. 1998b. El efecto de la Naloxona aplicada por dos vías de administración sobre las características testiculares, libido y calidad seminal en machos cabríos. En *Memorias de la XI Reunión de Avances en Investigación Agropecuaria y del mar. Trópico 98*. Guadalajara, Jalisco. México.
118. Ruiz, C.J.G., González, T.L.E., Hernández, A.I., Ruiz, R.M.A., y Ruiz, G.A.G. 2006. La Naloxona como fármaco antagónico de la ketamina en caninos (resultados preliminares). En *Memorias del congreso internacional de medicina, cirugía y zootecnia en perros, gatos y otras mascotas. XXVII Congreso Nacional de la AMMVEPE*. Acapulco, Guerrero. México.
119. Ruiz, C.J.G., Hernández, A.I. 2005. *Farmacología para Médicos Veterinarios Zootecnistas*, UNAM. México.
120. Ruiz, C.J.G., Hernández, A.I., y Serna, H.C.O. 2004. Naloxona. *Notifarma. Boletín y órgano informativo de Farmacología, Toxicología y Terapéutica Médico Veterinaria*. Campo 4. FESC. UNAM. 7 : 1 – 2.
121. Ruiz, G., López, B., Esperón, E., Fuentes, V. y Galina, M. 1994. Sincronización e inseminación de cabras en época de aparente anestro con cuatro tratamientos con FGA y dosis varias de naloxona. Resultados preliminares. *Trópico 94*. Colima. México.
122. Ruiz, G.A.G. 2007. Perfiles de secreción de testosterona en conejos machos adultos de la raza california durante un ciclo anual. Tesis Licenciatura. FESC. UNAM. México.
123. Russell, J.A., Brown, C.H., and Carón, R.W. 1999. Endogenous opioids. In: Volume 2. *Encyclopedia of reproduction*. Academic Press. USA.
124. Sánchez, P.M.V., Fuentes, H.V.O., González, R.H., y Perera, M.G. 1995. El efecto de la naloxona en la primera y segunda dosis sobre la secreción pulsátil de la LH en la borrega criolla durante su anestro. *XIX Congreso Nacional de Buiatría*. México.
125. Sarojini, R., Nagablushanam, R., and Fingerman, M. 1996. In vivo assement of opioid agonist and antagonist on ovarian maturation in the red swamp crayfish, *procambarus clarkii*.

- Comparative biochemistry and physiology. C, Pharmacology, Toxicology and Endocrinology. 115 (2) : 149 – 153.
- 126.** Simpson, G.M., England, G. C. W., Harvey, M. 2000. Manual de Reproducción y Neonatología en pequeños animales, Edit Harcourt. España.
- 127.** Singh, B., Dixit, V.D., Singh, P., Georgie, G.C., and Dixit, V.P. 2000. Effect of naloxone on the plasma levels of LH, FSH, prolactin and testosterone in beetal bucks. Small Rum. Res. 37 : 51 – 55.
- 128.** Sisson, S. y Grossman, J.D. 2003. Anatomía de los animales domésticos. 5ª edición. Tomo II. Edit. Masson. España.
- 129.** Steel, R.G.T., y Torrie, J.H. 1985. Bioestadística: principios y procedimientos. 2ª
- 130.** Stein, C. 1993. Peripheral mechanisms of opioid analgesia. Anesth Analg. 76:182-91.
- 131.** Suárez, S.F.J. 2001. Antagonismo de los efectos disociativos de la ketamina con naloxona. Tesis Especialidad en Anestesiología. Facultad de Medicina. UNAM. México.
- 132.** Sumano, L.H., y Ocampo, C.L. 1997. Farmacología Veterinaria. 2ª edición. Editorial Mc Graw-Hill. Interamericana. México.
- 133.** Sumano, L.H., y Ocampo, C.L. 2006. Farmacología Veterinaria. 3ª edición. Editorial Mc Graw-Hill. Interamericana. México.
- 134.** Swindle, M.M., Vogler, G.A., Fulton, L.K., Marini, R.P., and Popilskis, S. 2002. Preanesthesia, Anesthesia, Analgesia and Euthanasia. Cap. 22. In: Laboratory Animal 130 Medicine. 2nd. Edition. American College of Laboratory Medicine. Academic Press. England.
- 135.** Tančin, V., Schams, D., and Kraetzl, W-D. 2003. The effect of morphine and naloxone on the release of prolactin during machine milking in dairy cows. J. Dairy Res. 70 : 277 – 282.
- 136.** Villagrán, V.C. 1998. Efecto de los antagonistas opiáceos (Naloxona) sobre el comportamiento sexual del conejo macho nueva zelanda (*Oryctolagus cuniculus*). Seminarios 98 – 1. Ciencias Pecuarias. Avances de Investigación. PICP. Universidad de Colima. México.
- 137.** Villarejo, D.M., Murillo, Z.J., y Alvarado, H.H. 2000. Farmacología de los agonistas y antagonistas de los receptores opioides. Rev. Educ. Invest. Clín. Mayo – Agosto. 1 (2):106 – 137.

- 138.** Weihe, E., Millan, M.J., Leibod, A., Nohr, D., and Herz, A. 1988. Co-localization of proenkephalin – and prodinorphin – derived opioid peptides in laminae IV / V spinal neurons in arthritic rats. *Neurosci. Lett.* 29 : 187 – 192.
- 139.** Zavala, A.M.P., Galina, H.M.A., Valencia, M.J., Fuentes, H.V.O., and Ortiz, M.R. 1998. Effect of naloxone in male polypay sheep during mating, synchronized outside the reproductive season. *Advances Agricul. Res.* 7 (3) : 23 – 27.