



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

Ciencias Biológicas y de la Salud
MAESTRÍA EN BIOLOGÍA EXPERIMENTAL
Departamento de Biología de la Reproducción

"EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA MELATONINA SOBRE EL COMPORTAMIENTO COPULATORIO DE LA RATA MACHO"

T E S I S

Que para obtener el grado de:

Maestra en Biología Experimental

Presenta:

Biól. MARÍA ALEJANDRA OLVERA-MARTÍNEZ

TUTOR:

DR. JAVIER VELÁZQUEZ MOCTEZUMA

Asesor:

DR. EMILIO DOMÍNGUEZ SALAZAR

México, D.F.

ABRIL, 2010

COMITÉ TUTORAL

DIRECTOR

Dr. Javier Velázquez Moctezuma

**Área de Neurociencias
Departamento de Biología de la Reproducción
División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Universidad Autónoma Metropolitana – Iztapalapa**

ASESOR

**Dr. Emilio Domínguez Salazar
Área de Neurociencias
Departamento de Biología de la Reproducción
División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Universidad Autónoma Metropolitana - Iztapalapa**

“La Maestría en Biología Experimental de la Universidad Autónoma Metropolitana, cuenta con el apoyo del CONACyT, según No. de registro 309-O, por ser considerado un posgrado con nivel de excelencia”.

El presente trabajo, fue realizado con el apoyo del CONACyT a través de la beca con número de registro: 95356.

La parte experimental de esta tesis se desarrolló en:

**ÁREA DE NEUROCIENCIAS
DEL
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN
DE LA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPÓLITANA-IZTAPALAPA.**

Los miembros del jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, abajo firmantes, aprobaron la tesis titulada “ **EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA MELATONINA SOBRE EL COMPORTAMIENTO COPULATORIO DE LA RATA MACHO**”, con fecha 16 DE ABRIL, 2010.

JURADO DE EXAMEN

PRESIDENTE

Dra. Alicia Lara Lemus

Departamento de Ciencias de la Salud
Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa

SECRETARIO

Dr. Emilio Domínguez Salazar

Departamento de Biología de la Reproducción
Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa

VOCAL

Dra. Cristina Aleida Olivares Segura

Unidad de Investigación en Medicina Reproductiva
Hospital de Ginecología y Obstetricia. "Luis Castelazo Ayala", IMSS

VOCAL

Dra. Edith Cortés Barberena

Departamento de Ciencias de la Salud
Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa

Agradecimientos

Al Dr. Javier Velázquez Moctezuma por la oportunidad de formar parte de su equipo de investigación.

Al Dr. Emilio Domínguez Salazar por su apoyo y paciencia en la última parte del proceso de elaboración de esta tesis.

A la Dra. Alicia Lara Lémus y a la Dra. Edith Cortés Barberena por sus comentarios, confianza y amistad

A la Dra. Aleida Olivares, por su invaluable amistad.

A mis profesores del Posgrado en Biología Experimental, cuyo ejemplo y paciencia estuvo siempre presente.

A mis compañeros y amigos que compartieron conmigo en este proyecto.

Al CONACYT por el apoyo recibido durante mi formación.

A mi familia, sin cuyo apoyo, paciencia y constante motivación, este trabajo no habría podido completarse.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE FIGURAS Y TABLAS	
ABREVIATURAS	
RESUMEN.	
ABSTRACT.	
1. INTRODUCCIÓN.	1
1.1 Glándula Pineal	3
1.1.1 Melatonina	7
1.1.2 Regulación de la síntesis endógena de la MEL	11
1.2 Melatonina y reproducción.	17
1.2.1 Melatonina y comportamiento sexual.	19
1.3 Neuroendocrinofisiología del comportamiento sexual masculino.	21
1.3.1 Mecanismos Sensoriales.	25
1.3.1.1 Sistema olfatorio principal y accesorios.	25
1.3.1.2 Mecanismos sensoriales genitales.	27
1.3.2 Mecanismos efectores genitales.	27
1.3.2.1 Erección peneana.	28
1.3.2.2 Eyaculación.	29
1.3.3 Mecanismos Cerebrales	30
1.3.4 Hormonas	31
1.3.5 Neurotransmisores.	33
1.3.5.1 Participación del sistema monoaminérgico.	34
1.3.5.2 Participación del sistema colinérgico	36
1.3.6 Interacciones hormona-neurotransmisor en la regulación del comportamiento sexual masculino.	36
1.4 Definición de parámetros copulatorios de la conducta sexual masculina en la rata.	37
2. OBJETIVO.	40

3. HIPÓTESIS.	40
4. JUSTIFICACIÓN.	40
5. MATERIALES Y MÉTODO.	42
5.1 Características de los animales utilizados.	42
5.2 Selección de sujetos.	42
5.3 Tratamiento farmacológico y registro del CSM con MEL	43
5.4 Análisis Estadístico.	44
6. RESULTADOS.	45
6.1 Porcentaje de sujetos sexualmente activos	45
6.2 Latencia de monta, intromisión y eyaculación.	47
6.3 Frecuencia de eyaculación.	51
6.4 Número de intromisiones.	51
6.5 Número de montas	51
6.6 Parámetros de la conducta posteyaculatoria: PE1,III, IIC y TA	55
7. DISCUSIÓN.	56
8. CONCLUSIÓN	60
9. BIBLIOGRAFÍA	61

ÍNDICE DE FIGURAS DESCRIPCIÓN

FIGURA

		Página
1	Localización de la glándula pineal	5
2	Estructura química de la Melatonina	7
3	Sitios de síntesis y secreción de MEL (Modificado de Guerrero, J.M., et al., 2007).	9
4	Síntesis endógena y regulación circadiana de la secreción de MEL (Modificada de Guerrero, JM., et al., 2007)	12
5	Conducta sexual de la rata	24
6	Patrón copulatorio de la rata	39
7	Porcentaje de sujetos sexualmente activos	46
8	Efecto de la administración aguda de MEL, sobre la latencia de monta	48
9	Efecto de la administración aguda de MEL, sobre la latencia de intromisión	49
10	Efecto de la administración aguda de MEL, sobre la latencia de eyaculación	50
11	Efecto de la administración aguda de MEL, sobre frecuencia de eyaculación	52
12	Efecto de la administración aguda de MEL, sobre el número de intromisiones	53
13	Efecto de la administración aguda de MEL, sobre el número de montas	54

ÍNDICE DE CUADROS DESCRIPCIÓN

CUADRO

		Página
1	Localización de la glándula pineal	4
2	Resumen de los efectos de varios sistemas neuroquímicos, sobre el comportamiento sexual en machos.	33

ÍNDICE DE TABLAS DESCRIPCIÓN

TABLA

		Página
1	Efecto agudo de distintas dosis de MEL sobre los parámetros de la conducta sexual de las ratas macho adultas	55

ABREVIATURAS

5-HT	Serotonina
5-HT _{1A}	Receptor serotoninérgico, tipo 1A
5-HT _{2A}	Receptor serotoninérgico, tipo 2A
AANAT	Aril-alquil-amina-N-acetiltransferasa
AC	Adenilato ciclasa
Ach	Acetil colina
ACTH	Hormona adrenocorticotrópica
AMPc	Adenosina monofosfato cíclico
APOm	Área preóptica media.
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero
CS	Comportamiento Sexual.
CSM	Comportamiento sexual masculino
DA	Dopamina
EE	Error estándar
FE	Frecuencia de eyaculación
GABA	Ácido γ aminobutírico
GnRH	Hormona liberadora de gonadotropina
GnIH	Hormona inhibidora de gonadotropina
GMPc	Guanosina monofosfato cíclico
GP	Glándula Pineal
HC	Hormona del crecimiento

HIOMT	Hidróxiindol-O-metiltransferasa
HL	Hormona luteinizante
IIC	Intervalo intercopulatorio
III	Intervalo Interintromisión
i.p.	Intraperitoneal
IPE	Intervalo posteyaculatorio
LE	Latencia de eyaculación
LI	Latencia de intromisión
LM	Latencia de monta
MAO	Mono amino oxidasa
MEL	Melatonina
min	Minutos
NAS	N-acetil serotonina
NE	Norepinefrina
NI	Número de intromisión
NM	Número de monta
NSQ	Núcleo supraquiasmático
NPV	Núcleo paraventricular del hipotálamo
OXO	Oxotremorina
PE1	1er período posteyaculatorio
PRL	Prolactina
PT	Pars tuberalis

RFRP-3	Péptido 3-amida-RF relacionado
S	Sujetos
seg	Segundos
Ss	Sujetos
SsA	Sujetos sexualmente activos
SsE	Sujetos que eyacularon
SN	Sistema Nervioso
SNC	Sistema nervioso central
Ss	Sujetos
SsE	Sujetos experimentales
T	Testosterona
TA	Tasa de aciertos
trp	Triptofano

RESUMEN.

El comportamiento sexual (CS) en los animales es una expresión de la fisiología reproductiva que se ha desarrollado a lo largo del tiempo a través de complejas interacciones neuroendócrinas. Tanto en el macho como en la hembra existen mecanismos por los cuales las hormonas, el sistema nervioso central y estructuras periféricas colaboran para lograr el apareamiento y asegurar la preservación de la especie.

El estudio del CS durante el apareamiento es uno de los medios por los cuales se obtiene información de la fisiología propia de la especie y de su interacción con múltiples estímulos ambientales presentes. Dicho comportamiento evidencia las diferencias entre machos y hembras y, puede ser caracterizado tanto cualitativa como cuantitativamente. De este modo, puede ser evaluado el papel que juegan sustancias como las hormonas -tanto endógenas como exógenas, en la regulación de este proceso.

En este contexto es que surge el interés por el estudio de la melatonina (MEL), una hormona sintetizada y secretada principalmente por la glándula pineal (GP) que se encuentra presente tanto en vertebrados como en invertebrados (Hardelan et al., 1995).

A la MEL se le han atribuido múltiples funciones. Influye en la regulación del ciclo sueño-vigilia en humanos (Dawson y Encel, 1993) y actúa en la termorregulación de los organismos (Saarela y Reiter, 1994). Se conoce que esta hormona se relaciona de manera directa con el sistema inmune (Angeli et al., 1992); que actúa como "atrapador" de radicales libres (Reiter et al., 1993), así como en la regulación de algunas patologías conductuales asociadas al fotoperíodo, como en los casos de la depresión y la ansiedad.

En lo que se refiere a la reproducción, hasta antes del 2000, se había demostrado la participación de la MEL en la regulación del proceso reproductivo en animales, específicamente en lo que se refiere a la regulación del ciclo menstrual (Sandyk, 1992), su efecto sobre la anatofisiología testicular en ratas inexpertas (Olivares et al., 1989), así como en el inicio de la pubertad en rata (Schillo et al., 1992), y en regresión testicular en hámster (Turek et al., 1976), entre muchas otras funciones.

Los estudios realizados por Tsutsui, al inicio de este siglo, han comprobado la importancia que tiene esta hormona en la modulación del eje hipotálamo-hipófisis-gónada (Tsutsui, 2000).

En particular, en lo que se refiere a la CS de la rata macho, se han encontrado efectos en algunos de los componentes relacionados con la fase copulatoria y en la recuperación total de la CS, cuando se administra MEL de forma aguda y crónica con distintas dosis (Drago et al., 1999; Brotto, L.A., y B.Gorzalka, 2000).

El presente estudio se planteó como objetivo evaluar el efecto de la administración aguda de distintas dosis de MEL, en la conducta copulatoria de la rata macho. Como resultado del mismo, se encontró que la administración intraperitoneal (i.p.) de MEL (0.5, 1, 2.5, 5, 10, 20, 40 mg/kg) no influyó, de manera significativa, en la mayoría de los parámetros estudiados. Sin embargo, se observa un incremento significativo en la frecuencia de eyaculación (FE) con la dosis más baja (0.5 mg/kg). Mientras que un efecto contrario se observó en el número de intromisiones (NI) con 5 mg/kg de MEL.

Los resultados sugieren que al administrar distintas dosis de MEL de forma aguda (i.p.) de MEL, las dosis más bajas tienen un efecto sobre algunos de los parámetros del CSM de la rata macho.

ABSTRACT.

Animal sexual behavior (SB) is an expression of the reproductive physiology that has developed along time, through complex neuroendocrine interactions.

In both, male and female there are mechanisms by which hormones, the central nervous system (CNS) and the peripheral structures work together to achieve mating and ensure the species preservation.

The study of the SB during mating is one of the ways by which physiological information is obtained, as well as the way it is affected by multiple stimuli present in the environment. This behavior shows differences between males and females and it can be characterized in a qualitative but also in a quantitative way. Thus the role of substances such as hormones –both endogenous and exogenous- at the regulation of this process can be assessed.

In this context, comes the interest in the study of melatonin (MEL), an hormone synthesized and secreted by the pineal gland (PG), which is present in both vertebrates and invertebrates (Hardeland, R. et al. 1995).

MEL has been related with multiple functions. It affects the regulation of the circadian human cycle (Dawson and Encel, 1994) and acts in thermoregulation of organisms (Saarela and Reiter, 1994). It is known that this hormone is related directly to the immune system (Angeli, et al, 1992) which acts as scavenger of free radicals (Reiter et al, 1994), as well as in the regulation of some behavioral pathologies associated with the photoperiod, as in cases of depression and anxiety.

With respect to the reproduction process in animals, the regulation of the menstrual cycle has been demonstrated (Sandyk, 1992), its effect on the testicular anatomophysiology on inexperienced rats (Olivares, et al., 1989), as well as at the beginning of puberty in rats (Schillo et al, 1992) and testicular regression in Hamster (Turek et al, 1976), among many other functions. The studies done by Tsutsui, at the beginning of this century, have proven the importance of this hormone at the Hypothalamus-hypophysis-gonadad axis (Tsutsui, 2000).

Particularly, in the case of the rat SB, some effects have been found in components related with the copulatory phase; and it has been observed the full recovery of SB, when MEL, is administrated in acute low doses (Brotto, et al., 1999); Drago, F., y L. Busa, 2000).

The objective settled at beginning of this study was to evaluate the effect of different doses of MEL, at the copulative behavior of the male rat.

As a result, it is was found that intraperitoneal administration of MEL (0.5, 1, 2.5,5 ,10, 20 y 40 mg/kg) did not influence , significantly most of the parameters studied.

However, there is a small significant increase in the frequency of ejaculation (FE) with the lowest doses (0.5 mg/kg). Also, it was found that 5mg/kg of MEL, reduced the number of intromissions (NI).

The results suggest that the acute administration (i.p.) of MEL can produce effects on some of the SB parameters at low doses.

1. INTRODUCCIÓN.

A medida que avanza el conocimiento respecto al sistema nervioso (SN) y el sistema endócrino, queda claro que guardan una íntima relación que se traduce en un sistema neuroendocrino que regula la fisiología y el comportamiento. El mecanismo parece simple, un estímulo nervioso “activa” a una glándula endócrina para que inicie la secreción de una hormona, que a su vez provoca una respuesta fisiológica en el organismo, que puede manifestarse en un comportamiento específico. Sin embargo, la historia no termina ahí. Existe una compleja relación en la que, por ejemplo, un estímulo ambiental puede provocar la secreción hormonal con la consecuente manifestación de un comportamiento y, a su vez las hormonas pueden influir en la liberación de neurotransmisores que retroalimentan el sistema. Es bien conocido el hecho de que las hormonas actúan en “blancos” específicos, con sitios receptores específicos para ellas. Cuando alguna parte del sistema nervioso es el destinatario del mensaje hormonal, el resultado puede traducirse en un cambio conductual.

Un ejemplo de esta interacción neuroendocrina se manifiesta en la glándula pineal (GP), la cual, a través de un mecanismo que responde a la exposición de los organismos a la luz, secreta la hormona MEL, responsable entre otras cosas, de modular el proceso reproductivo. En lo que respecta al CS, se ha propuesto que esta hormona, puede influir en los parámetros que lo definen. Al respecto, existen resultados contradictorios en distintos modelos experimentales, en donde se ha evaluado el efecto de distintas dosis de MEL, a corto y largo plazo. Hasta el

momento, su efecto, así como los mecanismos de acción mediante los cuales actúa siguen siendo tema de discusión.

1.1 Glándula pineal.

La GP ha sido vista históricamente en el ser humano, como un “esfínter que controla el flujo del pensamiento” como “el asiento del alma”, como “el tercer ojo” y, en la actualidad, como un órgano de transducción neuroendócrina.

Esta glándula es un órgano funcionalmente importante, no sólo en animales sino también en el ser humano. En éste, las señales neuronales son transformadas en mensajes hormonales como la MEL (5-metoxi-N-acetilriptamina) y otras indolaminas que han sido ampliamente estudiadas.

Embriológicamente, la GP, se origina a partir de una evaginación de la raíz del diencéfalo, razón por la cual, en la mayoría de las especies se encuentra en la base del hipotálamo. Sin embargo, la localización y forma de la GP difiere considerablemente entre los mamíferos (ver Cuadro 1).

En el humano, está localizada entre el mesencéfalo y el diencéfalo; neuroanatómicamente es parte del epítalamo (ver Fig. 1a).

En la rata, se sitúa por encima del mesencéfalo, justo delante del cerebelo, en la vecindad inmediata del límite posterior del tercer ventrículo cerebral, ocupando la depresión entre el colículo superior del mesencéfalo (Paxinos G, and C. Watson, 2007) (ver Fig.1b).

Cuadro 1. Localización de la GP, en distintas especies de mamíferos*.

ESPECIE	FORMA	LOCALIZACIÓN	CARACTERÍSTICAS GENERALES
Borrego	Chícharo	Entre las comisuras habenular y posterior del tercer ventrículo.	<ul style="list-style-type: none"> • >90 % pinealocitos • < Células gliales, fagocitos, pocas neuronas • Altamente vascularizada (vasos provenientes del plexo coroideo) • Inervación simpática (núcleo ganglionar cervical superior) • Inervación parasimpática ¿? • Inervación central ¿?
Humano	Piriforme	Entre el mesencéfalo y el diencéfalo; neuroanatómicamente es parte del epítalamo	
Roedores	Estructura alargada (como de bastón)	En el tercer ventrículo, hasta inmediatamente por debajo del cráneo	
Hámster	Estructura dividida en dos: pineal superior y pineal inferior.	Estrechamente cercana al tercer ventrículo	

*Con información tomada de Malpaux. B., 2006, en *Physiology of reproduction*(*Knobil,Ed. 2006*) Elsevier.

La GP está compuesta por un tejido que contiene principalmente pinealocitos (>90%), los cuales producen indolaminas y péptidos/proteínas, unas cuantas células gliales , fagocíticas, y, escasas neuronas. Se encuentra altamente vascularizada lo que explica por qué los cambios en la actividad secretora se reflejan rápidamente en la circulación periférica (Malpaux, B., 2006).

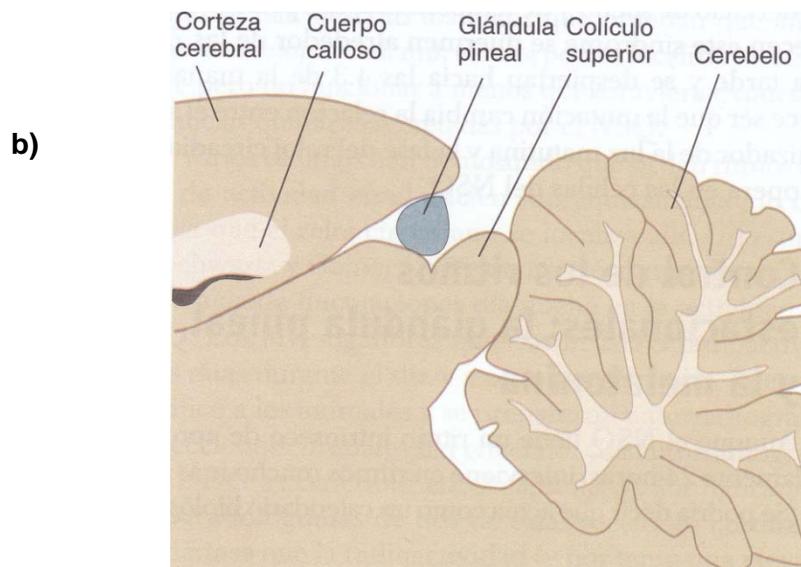
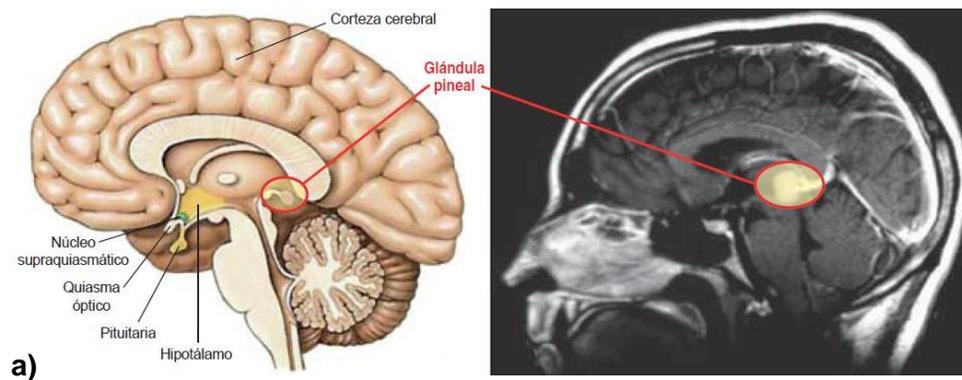


Fig. 1 Localización de la glándula pineal. a) Humano (modificada de Guerrero, 2007); b) Rata (Adaptado de Paxinos G. y C. Watson, 1982)

En los mamíferos, es un órgano que traduce la información neuronal acerca de la duración del día en secreciones endócrinas mediante la producción y liberación de la MEL (Reiter, R.J., 1991). Esta hormona manifiesta su acción, por ejemplo, en el comportamiento reproductor del hámster macho (Rudeen, P. y Reiter,R., 1980).

Cuando individuos maduros de esta especie se mudan de un ambiente con fotoperiodo largo a uno de menor duración, se presenta regresión testicular y los animales se vuelven sexualmente inactivos.

La remoción quirúrgica de la GP, bloquea estos cambios. Por otra parte, cuando se administra MEL exógena a dichos animales de forma apropiada, la pinealectomía es funcionalmente revertida (Goldman, B. D., et al, 1979). Así como éste, existen otros indicios de que la MEL, participa en la reproducción y CS de varias especies de vertebrados.

1.1.1 Melatonina.

La MEL (5-metoxi-N-acetiltriptamina), Figura 2, descrita inicialmente como una hormona de la glándula pineal (Kopin I.J., et al., 1961), se encuentra ampliamente distribuida entre los organismos eucariontes, incluyendo varios fila del reino animal y vegetal (Hardeland, R. et al. 1995).

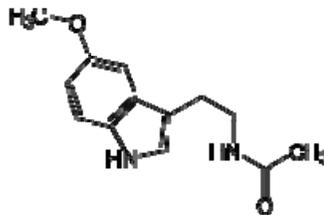


Fig. 2. Melatonina es una hormona lipofílica, perteneciente a la familia de las indolaminas.

La MEL, fue descubierta en 1958, cuando se aisló por primera vez de extractos de glándula pineal de bovinos. En 1959 Lerner y Case, lograron su síntesis en el laboratorio.

Su nombre se encuentra ligado a la función y estructura química. Esto es, el prefijo “mela”, hace referencia a su posible efecto en la pigmentación de la piel de rana por la melanina; mientras que el sufijo refiere a su parecido con la estructura química de la serotonina.

Es una hormona lipofílica, que cruza las membranas biológicas, liberándose inmediatamente al espacio intersticial, causando múltiples respuestas fisiológicas, debido a esto, no se encuentran pozas de reserva en las estructuras biológicas que la sintetizan y secretan (Malpoux, 2006).

Debido a su constitución química, presenta un comportamiento químico inestable en suero (Markey, S.P., et al., 1985) ;Tamarkin; L. et al, 1985), por lo que, es difícil establecer las dosis adecuadas, sobre todo cuando se trata de modelos experimentales *in vitro*. Al respecto, se ha llevado a cabo la síntesis de análogos más estables para la realización de estudios que involucran su participación en diferentes eventos fisiológicos en el organismo (Spadoni, G.,1999; Tarzia, et al, 2000; Garrat, P.S. y A. Tsotinis, 2007).

Pese a que, en los vertebrados como en el caso del humano, se produce y sintetiza principalmente durante la noche por la GP- es decir, presenta un ritmo circadiano-, la MEL, también presenta un ritmo circanual: cuando más corto es el día y la noche es más larga, la secreción de MEL es mayor; por el contrario, cuando más largo es el día y más corta la noche; la secreción es menor, en respuesta a un mecanismo de adaptación de los organismos respecto a su ambiente (Guardiola-Lemaitre, B., 1997).

Esta entidad bioquímica, es sintetizada y secretada -dependiendo de la especie-, por distintas estructuras anatómicas extrapineales, tales como: la glándula Harderiana, en los eritrocitos humanos, en las plaquetas de los conejos, en el nervio

periférico humano, en el hipotálamo de la rata, en el tracto gastrointestinal (Huether et al., 1992), en tejido testicular (Tijmes et al., 1996) y quizá en otras regiones aún no identificadas del cerebro. Razón por la cual se le atribuyen múltiples funciones (ver Fig. 3.).



Fig. 4 Sitios de síntesis y secreción de MEL.

(Tomada de Guerrero, JM., et al., 2007).

Por lo tanto, la MEL, es un sincronizador de los ritmos biológicos en los mamíferos (Reiter, R.J., 1980), se ha comprobado su efecto como

antioxidante(Reiter, R.J. et. al., 1993; Hardeland, R., et. al., 1995), promueve la neurogénesis (Rennie, K., 2009) y regula diversos procesos fisiológicos y conductas: el ciclo sueño-vigilia (Reiter, RJ, 1991; Martínez D; et al., 2008, K.J. Reid, et al., 2009, Dawson y Encel, 1993), la secreción de hormonas tales como la del crecimiento (HC), la adrenocorticotrópica (ACTH), el cortisol y la prolactina (PRL), entre otras (Mirunalini, P. y Subramanian, 2005). Influye también en el desarrollo de algunas enfermedades asociadas con cambios estacionales, tales como la depresión y la ansiedad (Srinivasan, V., et al., 2006; Mendlewicz, J, 2009), problemas acústicos y desórdenes alimenticios, (Pachierotti, C., 2001; R. Ferri, S. Miano 2010), actúa como inmunoestimulador (Guerrero y Reitner, 2002) y agente citoprotector, además de influir en la reproducción (Hastings, MH; et. al., 1985; Warren, W.S. y Cassone V.M., 1995), por mencionar algunas acciones.

1.1.2 Regulación de la síntesis endógena de melatonina. Significado biológico.

La síntesis de la MEL en la GP, está modulada por las fibras simpáticas postganglionares que inervan a este órgano (Barrenetxe J., et al., 2004). Estas establecen conexiones sinápticas con neuronas del núcleo paraventricular (NPV) del hipotálamo, y el núcleo supraquiasmático (NSQ), que integran los estímulos ambientales, relacionados con el fotoperiodo, dando lugar a la síntesis y secreción nocturna de esta hormona.

Con fundamento en lo anterior, es comprensible que la MEL, actúe sobre diversas estructuras cerebrales, incluido el NSQ. Cuando se lesiona la GP, el NSQ o bien el NPV, se alteran los ritmos estacionales controlados por la duración del día. Asimismo, se ha demostrado un efecto semejante cuando se cortan las conexiones entre el NSQ y el NPV. Aún cuando los trasplantes de NSQ fetales pueden restablecer los ritmos circadianos en general, no restauran los ritmos estacionales, debido a que el tejido trasplantado no establece conexiones neurales con el NPV (Ralph et al, 1990).

Dado que la MEL no es un producto exclusivo de la GP, la pinealectomía no elimina completamente las concentraciones de MEL y otras indolaminas de la circulación. Por esto, su distribución en el organismo puede corresponder a la localización de células productoras de serotonina.

En la síntesis de la MEL y otras indolaminas, el triptófano (trp) y la serotonina (5-HT) tienen un papel muy importante. Además de éstos, la Aril-alquil-amina-N-acetiltransferasa (AANAT), y la hidroxindol-O-metiltransferasa (HIOMT), son importantes en la biosíntesis de la MEL (ver fig. 4).

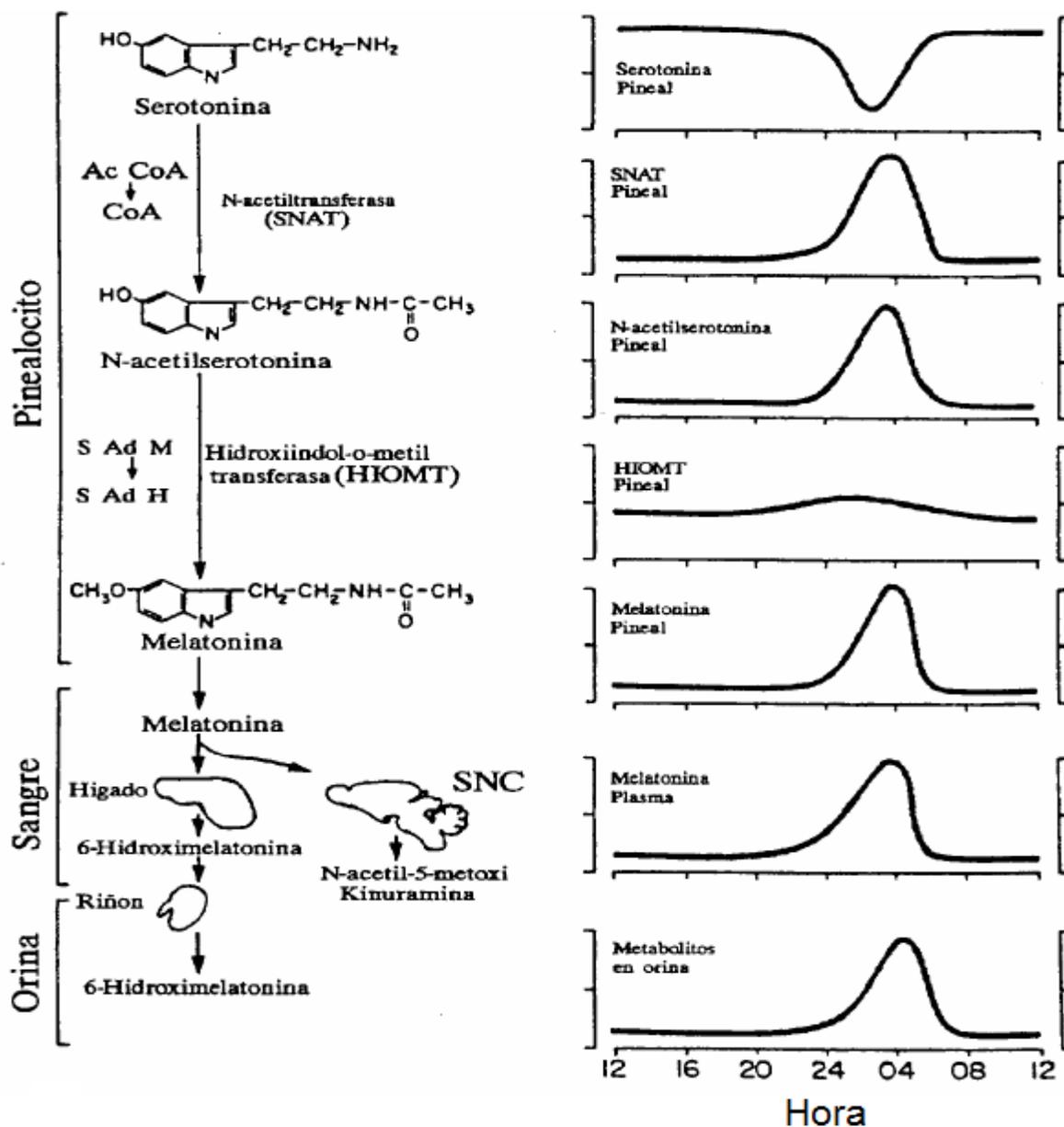


Fig. 4 Síntesis endógena y regulación circadiana de la secreción de MEL en rata (Modificada de Guerrero, JM., et al., 2007)

La norepinefrina (NE) es liberada durante la noche en las terminaciones nerviosas simpáticas postganglionares; la NE interactúa con receptores α y β adrenérgicos, induciendo activación de la adenilato ciclasa (AC), lo que se traduce en un incremento en los niveles de 3',5' monofosfato cíclico (AMPc), promoviendo así la síntesis proteica de la AANAT.

Por otro lado, el trp, es convertido en 5-hidroxitriptamina (5-HT). La concentración de la 5HT presenta variaciones circadianas. Por ejemplo, durante las horas-luz del día su concentración en la GP de la rata es aproximadamente 0.5 mM y desciende de manera significativa durante la noche.

La 5HT es convertida a N-acetilserotonina por la AANAT, la cual transfiere un grupo acetil desde el acetilcoenzima A, hacia el grupo amino de la 5HT. Posteriormente, la N-acetilserotonina (NAS) es O-metilada con la ayuda de la S-adenosil metionina, en presencia de la enzima HIOMT a 5-metoxi N-acetilriptamina (MEL), que es liberada al torrente sanguíneo.

La concentración de MEL se incrementa durante la noche de manera similar a la actividad de la AANAT, a diferencia de la oscilación circadiana de la HIOMT, que es inconsistente y poco pronunciada, razón por la que se ha propuesto que esta enzima es responsable del paso limitante en la síntesis de la MEL.

Además de ser convertida a MEL, la 5HT es desaminada de manera oxidativa por la MAO, dando lugar a otras indolaminas sintetizadas en el citosol de los

pinealocitos, tales como: el metoxiindol y 5-metoxitriptofol cuyas concentraciones son muy cercanas a las de la MEL, que también se sintetizan y secretan en respuesta al fotoperiodo (Malpoux, B., 2006).

Una vez que se sintetiza esta hormona, se libera a la circulación sanguínea, en donde se une a la albúmina del plasma para penetrar rápidamente al cerebro; la estructura que presenta una tasa de recaptura más alta en este órgano es el hipotálamo.

La MEL es metabolizada por hidroxilación (6-hidroximelatonina) y conjugada por el ácido glucorónico en el hígado. Sin embargo, se han reportado otras vías metabólicas, tales como el rompimiento del grupo indol en el cerebro (Hirata et al., 1974).

Desde el siglo pasado se ha reconocido que la liberación y síntesis de la MEL ocurren durante la noche, lo que ha llevado a proponer su participación en procesos biológicos, regulados por el fotoperíodo (Reiter, 1987).

Existen evidencias contundentes, que revelan efectos posteriores a su administración, tal es el caso de la alteración en el registro electroencefalográfico relacionado con la inducción del sueño. Además, se ha reportado su efecto en el incremento de las concentraciones de 5HT y ácido γ aminobutírico (GABA) en el hipotálamo. Estos efectos neurotróficos tan diversos, han llevado a proponer su intervención en funciones especializadas más complejas, reguladas por estructuras

cerebrales y entidades químicas diversas, asociadas con la síntesis, regulación, liberación y efecto de esta neurohormona (Ebadi, 1984).

En la actualidad, la literatura relacionada con el funcionamiento de la MEL es abundante y continúa en aumento. No sólo se le ha asociado con la regulación de los ritmos circadianos de los organismos, sino que también tiene una acción directa sobre el sistema inmune (Angeli et al., 1992; Poon et al., 1994), actúa como un atrapador de radicales libres (Reiter et al., 2000), actúa en la termorregulación de los organismos (Saarela y Reiter, 1994), se le ha asociado con la esclerosis múltiple en pacientes con enfermedades afectivas (Sandyk y Awerbuch, 1993). así como en la enfermedad de Alzheimer. Se ha estudiado también el efecto de la melatonina y la 5HT en la aparición de los cólicos infantiles, en relación con el funcionamiento del músculo liso intestinal (Weissbluth y Weisbluth, 1992), en el cáncer de pecho (Blask et al., 1992; Stevens et al., 1992), en la patogénesis del carcinoma endometrial (Sandik et al., 1992a), en la epilepsia y los abortos espontáneos (Sandyk et al., 1992a), en la psicosis postparto (Sandyk, 1992b) y en la osteoporosis postmenopáusica (Sandyk et al., 1992b).

Se le ha considerado como un marcador biológico de la depresión (Koyama et al., 1992), y relacionado con los procesos que intervienen en la esquizofrenia; en enfermedades estacionales afectivas (Hawkins, L., 1992), ansiedad (Cameron y Nesse, 1988), autismo (Chamberlain y Herman, 1990) y la migraña entre otras (Toglia, JU.,1986).

En relación con la reproducción, a la MEL se le han asociado algunas posibles funciones en la reproducción humana (Brzezinski y Wurtman, 1988) y se han realizado estudios en relación a alteraciones sexuales (Maurizi, CP., 1984). Se ha estudiado su efecto sobre la función testicular en ratas sexualmente inmaduras (Olivares et al., 1989), así como con el inicio de la pubertad (Schillo et al., 1992), con la liberación de la gonadotropina humana (Silman, R., 1991) y se le ha asignado un papel importante durante el ciclo menstrual (Sandyk, 1992c).

Es importante señalar que, aunque existen numerosos estudios relacionados con el efecto de la MEL sobre la anatomía y fisiología en diferentes organismos, aquellos en los que se analiza su efecto sobre la CS, son escasos.

1.2 Melatonina y reproducción.

Existe una participación directa e indirecta, de distintas vías neuroquímicas que modulan el proceso reproductivo, en las cuales interviene la MEL. El ejemplo clásico es el sistema de la neurohormona clave en la regulación de la reproducción en los mamíferos: la GnRH (Matsuo, H., et al, 1971), de la cual se han descrito varias isoformas en especies de organismos no vertebrados (King, y Millar, 1982; Miyamoto et al.,1982; Sherwood et al., 1983, 1986).

Durante mucho tiempo se aceptó como dogma central de la neurobiología de la reproducción que la GnRH, era el único regulador hipotalámico de la liberación de las gonadotropinas en la pituitaria, aunque se conocía de la existencia de otros neuroquímicos y hormonas periféricas cuya participación es importante.

Ahora, se reconoce que la MEL tiene un papel fundamental en la regulación de los mecanismos asociados al proceso de reproducción, en especies de mamíferos en las que dicha actividad depende de las variaciones estacionales. Se ha establecido de manera general, que la secreción nocturna de MEL, refleja la duración de la noche, regulando de esta manera, la secreción pulsátil de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), en el hipotálamo. Los cambios en la liberación de la GnRH, modulan a su vez la liberación de la hormona luteinizante (LH), responsable directa del proceso de ovulación en las hembras y de la espermatogénesis en los machos (Malpaux, B., et al., 1999).

Aunque se sabía de la existencia de receptores en el *pars tuberalis* (PT) de la adenohipófisis, y de sitios de unión a la MEL, localizados en el hipotálamo, el mecanismo de acción de la MEL era desconocido, pero se intuía que podía modular de forma indirecta la reproducción.

En el 2000, se había propuesto que el mecanismo por medio del cual la MEL ejercía su efecto no era directo sobre las neuronas que secretaban GnRH, sino que parecía involucrar otros circuitos interneuronales más complejos que incluían neuronas dopaminérgicas, serotoninérgicas y excitadoras.

Recientemente, se ha identificado un nuevo tipo de neurohormona (dodecapéptido): la hormona inhibidora de gonadotropina (GnIH) en aves (Tsutsui, K., et al, 2000) y de péptidos homólogos en el caso de algunos mamíferos como ratas, hámsters y borregos (Revel, F.G., et. al., 2008; K., Tsutsui, et al., 2009). Estos péptidos, tienen un papel importante en la regulación de la fisiología de la pituitaria, debido a que la GnIH, actúa directamente sobre esta glándula, y las neuronas que sintetizan la GnRH en el hipotálamo. Mediante una nueva vía de receptores para la GnIH, acoplados a la proteína G, se inhibe el desarrollo gonadal debido a la disminución en la síntesis y liberación de la gonadotropina (Tsutsui, K., 2009).

De acuerdo a lo anterior, el papel de la MEL adquiere renovada importancia en relación con la reproducción, debido a que las neuronas que sintetizan la GnIH, poseen receptores a esta indolamida, la cual estimula la expresión de la GnIH, con las consecuencias ya descritas. Dicho descubrimiento, además de revolucionar los

enfoques y perspectivas en relación con la forma de abordar el estudio de este importante proceso, ha puesto de manifiesto la participación directa de la MEL, en la regulación del mismo.

Esto ha sido un logro importante en el progreso de la neurobiología, especialmente, en lo referente a la comprensión de la regulación del eje hipotálamo-hipófisis-gónada, debido a que ha permitido la comprensión y manipulación de este proceso desde otra perspectiva en los últimos años (Tsutsui, K, et. al., 2010).

1.2.1 Melatonina y comportamiento sexual.

En lo referente a la neurofisiología del CS, aún existe mucho por explorar (Brotto, L.A., et al., 2000). En la actualidad, continúan publicándose reportes, que muestran tanto un efecto inhibitorio como facilitador en distintas fases del mismo.

Al respecto, cabe destacar que adicionalmente a los efectos directos de la GnIH en el eje reproductor, se ha reportado su participación en la *inhibición* de la conducta copulatoria femenina de algunas aves, lo cual implica, la participación directa de la MEL en la regulación de la misma (Bentley, G.E., et al., 2006).

Recientemente, se ha reportado la existencia y funcionamiento, de un neuropéptido análogo de la GnIH en mamíferos, a saber, el péptido 3-amida-RF-relacionado (RFRP-3). Se ha estudiado el efecto de dosis relativamente altas de esta molécula en el CS, de la rata macho adulta, observándose la *disminución* de la respuesta en todas las etapas de la conducta, además de otros efectos en la

alimentación y el crecimiento. En estos estudios, nuevamente se sugiere la participación de la MEL en la regulación de los efectos observados, sin que ésta sea directamente responsable de los mismos (Johnson, M.A., et al, 2007).

Con base en las observaciones anteriores y en los reportes “anecdóticos” del papel de la MEL en el mejoramiento de la conducta sexual en humanos, se ha propuesto un efecto contrario (incremento).

Por ejemplo, en algunos parámetros asociados a la conducta sexual de la rata, la administración alta y crónica (3 meses) de esta estructura química, incrementa la conducta sexual; se ha propuesto que el mecanismo de acción que subyace a este efecto, está relacionado con los receptores a serotonina, específicamente 5-HT_{2A} (Brotto, L.A., et al., 2000).

Por otra parte, bajo un esquema de administración de MEL a corto plazo, se ha reportado, el restablecimiento de todas las fases de la conducta copulatoria cuando se administra MEL de forma aguda en dosis bajas (10,50,100 µg/kg) en ratas macho impotentes (Drago, F.y L. Busa, 2000).

Con la finalidad de establecer una adecuada correlación entre la conducta copulatoria de la rata macho y el papel de la MEL en la misma, a continuación se presenta una revisión detallada del CS, así como de su regulación neuroendocrina en las distintas fases del mismo.

1.3. Neuroendocrinofisiología del comportamiento sexual masculino.

El complejo proceso biológico de la reproducción es característico de cada especie animal y tiene como finalidad, perpetuar la especie. En el caso de la reproducción sexual se tiene además un incremento en la variabilidad genética a través del intercambio del material genético de los progenitores. Los mecanismos de acción que subyacen a este proceso tan intrincado se relacionan a su vez con otros procesos fisiológicos importantes, de origen neuroendocrino-inmunológicos.

Una de las características de la reproducción en mamíferos, es el CS, que implica la ejecución de un repertorio conductual complejo característico de cada especie.

El CS, resulta de la interacción continua entre el macho y la hembra, y se presenta en secuencias de respuestas ordenadas que varían dependiendo de la especie, e involucra actividades de cortejo, apareamiento y conductas posteyaculatorias (Arteaga-Silva, M, 2002).

El cortejo incluye todas las conductas por medio de las cuales el macho y la hembra se identifican como miembros de una misma especie que se encuentran en condiciones apropiadas para el apareamiento; tales conductas mantienen el interés sexual de ambos y propician la conducta de apareamiento. En los mamíferos, el cortejo incluye la realización de conductas específicas como son la emisión de vocalizaciones audibles o ultrasónicas, el olfateo y la exploración anogenital, el acicalamiento dirigido a la pareja y la persecución hacia la hembra por parte del

macho. La duración de esta secuencia de respuestas varía dependiendo de la especie, y puede abarcar desde unos cuantos segundos como es el caso de los roedores, hasta horas o incluso varios días, como es el caso de los delfines (Meissel y Sachs, 1994). Si estas conductas son adecuadas, entonces se presentará la cópula o apareamiento.

Las conductas de apareamiento en los mamíferos, están representadas por la ejecución de respuestas estereotipadas, cuya secuencia característica es particular de cada especie (Dewsbury, et al. 1979), pero que de manera general involucran la monta del macho sobre la grupa de la hembra, la realización de movimientos pélvicos por parte del macho, la inserción peneana intravaginal y la eyaculación. Dichas respuestas pueden ocurrir en sucesión inmediata dentro de una misma respuesta conductual, sin que ocurran antes otras montas con inserción peneana, como en el caso del conejo, el gato, el perro, los rumiantes y la generalidad de los primates (Arteaga-Silva, M., 2002).

Las *montas* son reconocidas por una aproximación de la rata macho hacia la parte posterior del animal estímulo, palpaciones con los miembros anteriores en los costados del animal estímulo, y movimientos de empuje pélvicos repetitivos del animal que se encuentra montando.

Los patrones de *intromisión* constan de una monta que termina en un rápido y profundo movimiento pélvico.

Los patrones de *eyaculación* se caracterizan por montas que terminan con movimientos pélvicos profundos que se mantienen por varios segundos, mientras se presenta la flexión repetida de las extremidades posteriores.

Durante los patrones de *intromisión* y *eyaculación* ocurre la *inserción intravaginal* del pene. Sin embargo, las ratas macho algunas veces presentan estos patrones de comportamiento sin que exista penetración vaginal, además, las hembras pueden presentar patrones de intromisión y eyaculación, aunque carezcan del desarrollo fálico necesario para realizar la penetración.

Los términos de patrones de *intromisión* y *eyaculación*, se refieren solamente a la exhibición de los respectivos componentes motores. El término patrón de eyaculación, no implica necesariamente la emisión de semen, ya que dado que no se tiene una vista ventral y un examen del área vaginal que sigue al patrón de eyaculación, no se puede precisar cuándo ocurrió la emisión del fluido, es decir si fue durante un patrón de intromisión o durante el patrón de eyaculación (Larsson, 1979).

Los diversos patrones descritos, sugieren la posibilidad de que exista una relación muy estrecha entre el funcionamiento de un sistema neural particular y los diferentes aspectos del comportamiento sexual, así como también la existencia de cierto grado de uniformidad en las especies, en relación a las áreas neurales que intervienen en la regulación del CS como ya se ha mencionado (ver Fig. 5).

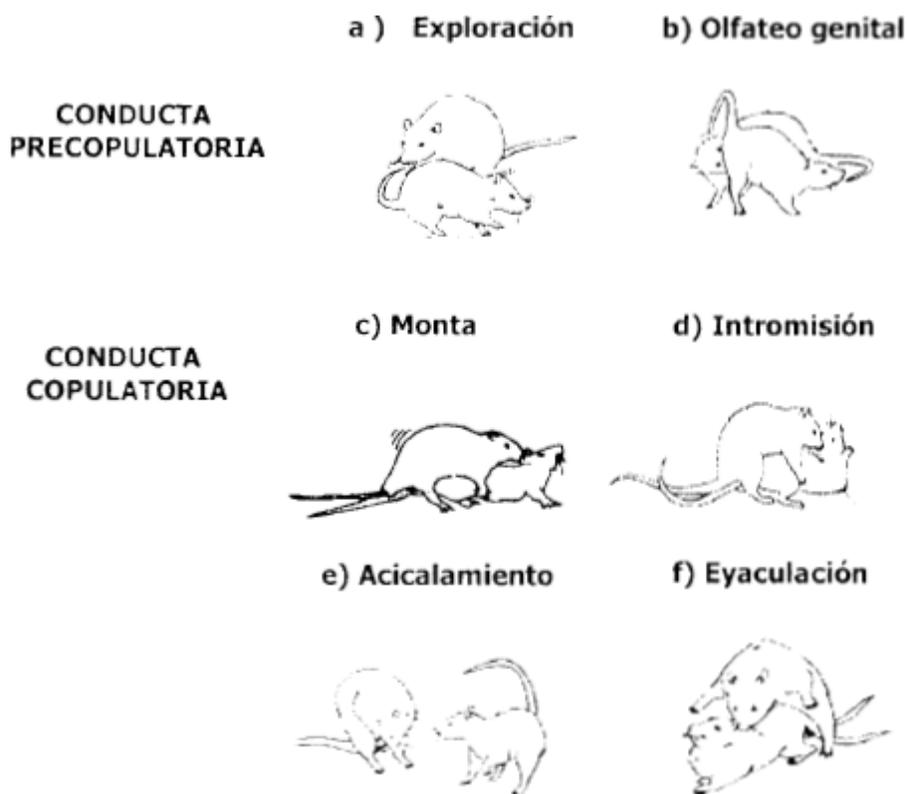


Fig.5 Conducta sexual de la rata (Modificado de Slob y cols, 1977)

La regulación cerebral del CS, es dimórfico. Existen estudios de microscopía que demuestran que existen diferencias en partes del cerebro anterior de la base y la médula espinal que regulan las respuestas sexuales. Sin embargo, existen patrones de comportamiento sexual típicos de un sexo que puede mostrar el sexo contrario, lo cual sugiere la posibilidad de que exista una representación dual de los circuitos neuronales para el comportamiento sexual de machos y hembras en ambos sexos.

Los mecanismos neurobiológicos de regulación del comportamiento sexual son comunes en la mayoría de las especies y se presentan fundamentalmente a

nivel sensorial, espinal y del encéfalo, siendo regulados principalmente por hormonas y neurotransmisores (Morales-Otal, A., 2002).

1.3.1 Mecanismos Sensoriales.

Dentro de los mecanismos sensoriales que intervienen en la regulación del comportamiento sexual se encuentra el sistema de la olfacción, debido a que la información sensorial que es transmitida hacia el sistema nervioso central mediante el olfato y otros sentidos especiales despierta el interés sexual en los machos de la mayoría de las especies de mamíferos, en conjunto con movimientos coordinados y de orientación del macho hacia la hembra antes de la cópula.

1.3.1.1 Sistema olfatorio principal y accesorios.

La mayoría de los mamíferos presentan cinco sistemas olfatorios (Graziadei, 1977) de los cuales los sistemas olfatorios principal y accesorio (vomeronasal) son los más importantes en términos del CS (Wysocki, 1979). Ambos sistemas difieren en cuanto a la localización periférica de sus receptores, la sensibilidad de éstos y sus proyecciones neurales.

En el caso del sistema *olfatorio principal*, éste recibe el estímulo de las células receptoras localizadas en la mucosa olfatoria. Las proyecciones de estas neuronas terminan en los bulbos olfatorios principales, para de ahí hacer conexiones sinápticas enviando sus prolongaciones hacia el núcleo olfatorio anterior, tubérculos olfatorios,

corteza prepiriforme, área entorrinal, y la parte anterior de la amígdala corticomedia (Broadwell, 1975; Devor, 1976; Heimer, 1968; Price, 1973; Scalia and Winans, 1975). Es importante señalar que este sistema sensorial es el único que no hace relevo en el tálamo.

El sistema *vomeronasal*, es un órgano que se encuentra en la parte dorsal del paladar duro y que, dependiendo de la especie, comunica con la cavidad nasal u oral a través del ducto nasopalatino, la mucosa de este órgano es ligeramente similar a la del sistema olfatorio principal. Los nervios vomeronasales también terminan en el bulbo olfatorio, sin embargo proyectan hacia el núcleo amigdaloides medio y en la parte posteromedial del núcleo amigdaloides cortical. (Scalia and Winans, 1975).

Existe un gran número de evidencias que muestran que el órgano vomeronasal se encuentra involucrado en la quimiorrecepción de sustancias atrayentes sexuales no volátiles que alcanzan el órgano cuando el animal hace contacto con las secreciones vaginales o la orina de las hembras, especialmente en roedores (Powers et al., 1979).

En cuanto al papel del sistema *olfatorio principal*, se ha visto que cuando se realiza una bulbectomía, en ratas machos, existen desajustes en la actividad sexual en animales que ya han tenido una experiencia sexual previa. Sin embargo, en animales inexpertos, sólo existe una alteración mínima en cuanto a la conducta sexual (Larsson, 1969, 1971). Dichas alteraciones dan como resultado latencias de

intromisión y eyaculación más prolongadas, en conjunto con una baja probabilidad de eyaculación para cada prueba.

Dependiendo de la especie, uno u otro de los sistemas mencionados puede ayudar a que se mantenga la actividad sexual. Sin embargo, la eliminación de ambos sistemas da por resultado la pérdida del comportamiento copulatorio.

1.3.1.2 Mecanismos sensoriales genitales.

Además de los sistemas sensoriales relacionados con la olfacción, los mecanismos sensoriales genitales también son fundamentales para un adecuado CS. La estimulación del pene generalmente se encuentra asociada con la erección peneana y la eyaculación.

Los receptores sensoriales localizados en el pene llevan a cabo un gran número de funciones. Se sabe que existen mecanorreceptores de adaptación lenta y rápida que intervienen en la localización del orificio vulvar y en la coordinación de los movimientos copulatorios (Kitchell et al. 1982). De la misma manera, en algunas especies, existen receptores para la temperatura que tienen un papel muy importante en la localización del orificio vulvar y los intentos copulatorios.

1.3.2 Mecanismos efectores genitales.

Los mecanismos efectores genitales incluyen, la orientación hacia la hembra, la monta y los movimientos de empuje, las cuales son manifestaciones básicas de la

actividad muscular esquelética, presumiblemente mediada o controlada por estructuras del cerebro anterior. Todas estas respuestas se encuentran influenciadas por la estimulación sensorial concurrente, la experiencia sexual temprana, la predisposición heredada para cada especie y, hormonas sexuales. La coordinación de todos estos factores es un proceso sumamente complejo que incluye fundamentalmente los patrones que se describen a continuación.

1.3.2.1 Erección peneana.

En la mayoría de las especies, la erección peneana se debe al engrosamiento del cuerpo cavernoso y el cuerpo esponjoso. La erección peneana, se inicia por la dilatación de las arterias en los cuerpos eréctiles, permitiendo que la sangre fluya hacia los sinusoides eréctiles. Mecanismos como de válvula impiden que la sangre sea drenada de los cuerpos eréctiles a medida que estos comienzan a engrosarse.

En la rata macho, el llenado vascular del cuerpo esponjoso, provoca cierto grado de erección. Sin embargo, la contracción del músculo bulboesponjoso empuja a la sangre hacia la parte distal, provocando la erección (Hart y Melese-d'Hospital, 1983; Sachs, 1982).

En cuanto a la contracción de los músculos estriados que producen el movimiento de todo el pene, se sabe que este proceso se encuentra regulado por andrógenos (Jung y Baulie, 1972, Bredlove y Arnold, 1980). El hecho más significativo de esta aseveración es que las motoneuronas que terminan en los músculos estriados del pene concentran testosterona (T).

En el caso de las ratas y otros animales, cuando se secciona el nervio hipogástrico que lleva la inervación simpática hacia los genitales o se realiza la simpatectomía, se observa un ligero efecto sobre la erección, intromisión o comportamiento eyaculatorio (Larson and Swedin, 1971). Sin embargo, dado que el sistema nervioso simpático juega un papel importante en el vaciado de los órganos sexuales accesorios y en la contracción de los vasos deferentes durante la contracción, los animales que presentan una simpatectomía sostenida llegan a ser infértiles (Swedin, 1971)

1.3.2.2 Eyaculación.

La eyaculación involucra una serie de reacciones neuronales que causan la expulsión del fluido seminal así como una respuesta estereotipada del comportamiento conceptualizándose como uno de los aspectos del comportamiento sexual de tipo reflejo.

Justo después de la eyaculación, existe un intervalo en el cual los machos no tienen interés en copular y parecen incapaces de llevar a cabo otra eyaculación, a este período se le denomina período refractario posteyaculatorio.

La información sensorial que llega a la médula a través de los genitales, es transmitida hacia el cerebro. Ya sea, mediante impulsos directos o colaterales, las neuronas sensitivas genitales también activan respuestas periféricas de manera refleja, particularmente la erección y en algunos casos, la eyaculación.

La erección y eyaculación en ratas no pueden ser evocadas frotando simplemente la parte del pene a diferencia de otras especies como el perro (Hart, 1968). Comparado con los reflejos sexuales en el perro, las ratas presentan reflejos fragmentarios, esto es importante en el empaquetamiento y sellado seminal de la vagina de la hembra.

1.3.3 Mecanismos cerebrales.

Una gran diversidad de estructuras cerebrales están involucradas en el comportamiento sexual masculino (CSM). Esta diversidad es evidente, dado el gran número de sistemas sensoriales que influyen sobre el CS. La complejidad de las interacciones entre las estructuras cerebrales involucradas, está justificada por los tipos de patrones tan variados que se presentan durante la actividad sexual.

Utilizando diversas técnicas se han podido estudiar las estructuras y mecanismos cerebrales involucrados en el comportamiento sexual. Las aproximaciones experimentales utilizadas son principalmente lesiones producidas por aspiración, electrocoagulación, cortes estereotáxicos para examinar las vías, así como estimulación cerebral analizada mediante técnicas de registro de la actividad eléctrica cerebral y recientemente técnicas de biología molecular.

De esta manera, se ha determinado que las estructuras cerebrales involucradas en la regulación del comportamiento sexual masculino son fundamentalmente corteza cerebral, sistema límbico, el continuo hipotálamo anterior-área preóptica media (APOm), así como vías eferentes de la misma.

El CS, parece depender de la actividad de dos mecanismos opuestos en el cerebro: uno excitador y el otro inhibitorio.

El mecanismo *excitador* se localiza en un área que rodea al APOm y se extiende hacia estructuras que incluyen el núcleo profundo de la estría terminal. Esta área, recibe información de varios sistemas sensoriales de los cuales la olfacción parece ser particularmente importante en roedores, el orden más estudiado en este campo de investigación.

Los mecanismos *inhibidores* comprenden vías que pasan a través de las porciones medias del diencefalo caudal y el mesencefalo rostral. Otras estructuras que pueden estar involucradas en este sistema son el hipocampo dorsal y la corteza piriforme, pero aún no se ha determinado con certeza el papel de estas estructuras. El código neural generado en el APOm, es transmitido hacia los centros motores en el tallo cerebral por vías descendientes. La localización y funcionamiento de estos centros motores se desconoce (Meisel y Sachs, 1994).

1.3.4 Hormonas

La regulación hormonal en relación al CS se da en distintas etapas y niveles durante el ciclo de vida del organismo. Esta regulación puede estar medida por las condiciones ambientales en las que se desarrollen, como ya se ha descrito para el caso de la MEL.

Las hormonas que son secretadas durante la etapa fetal y postnatal temprana son un prerrequisito para la diferenciación de los órganos genitales masculinos además de influenciar el desarrollo de los mecanismos nerviosos centrales fundamentales para el CSM (Larsson, 1979).

Los aspectos neuroendócrinos del CSM, se han analizado mediante implantes de esteroides sólidos en diferentes áreas, así como determinando las estructuras cerebrales que incorporan hormonas o metabolitos cerebrales de la circulación. Al respecto, implantes de T o estradiol en el APOm, activa el CS en las ratas macho que han sido castradas, mientras que colocados fuera de esta área, no influyen la CS. Por otra parte, utilizando técnicas de centelleo con T radioactivamente, han mostrado que ésta es retenida como estradiol en la fracción nuclear del tejido hipotalámico preóptico y que existe una actividad significativamente elevada en las zonas de intensa recaptura de estrógenos y testosterona, comprobándose además de la participación de estas áreas en conjunto con el *septum*. (Larsson, 1979).

Existen otras hormonas que intervienen en el CSM, en el cuadro 2, se presentan algunas de sus funciones.

NEUROTRANSMISOR	EFFECTO SOBRE LA COPULA	EFFECTO SOBRE LA ERECCIÓN PENEANA
NOREPINEFRINA	Dependiendo del tipo de receptores a los que se una, puede facilitar, inhibir o bien no tener ningún efecto.	Dependiendo del tipo de receptores a los que se una, puede facilitar, o inhibir.
DOPAMINA	La actividad postsináptica facilita la copulación. La actividad presináptica inhibe la copulación	La actividad postsináptica facilita la erección refleja pero inhibe la espontánea. La actividad presináptica inhibe erección refleja pero inhibe la espontánea
SEROTONINA (5-HT)	5HT _{1A} facilita la copulación 5HT _{1b/1c} inhibe la copulación 5HT ₂ inhibe la copulación	5HT _{1A} inhibe la erección 5HT _{1b/1c} facilita la erección espontánea 5HT ₂ inhibe la erección espontánea.
ACIDO γ -AMINO BUTÍRICO (GABA)	GABA _{A/B} inhibe la copulación	GABA _A sin efecto sobre la erección. GABA _B inhibe la erección refleja.
ACETILCOLINA	inconcluso	Facilita la erección espontánea (?)
PROLACTINA	Elevación crónica (al menos una semana) inhibe la copulación.	Elevación crónica inhibe la erección refleja.
OPIOIDES ENDÓGENOS	Inhiben la copulación	inhibe la erección refleja y espontánea, quizá vía interacción con la DOPA
OXITOCINA	Facilita la copulación	Estimula la erección espontánea
VASOPRESINA/VASOTOCINA	Inconclusa	No probado
FACTOR DE LA LIBERACIÓN DE CORTICOTROPINA	Inhibe la copulación (?)	No probado
COLECISTOCININA	Inhibe la copulación	No probado
POLIPÉPTIDO VASOACTIVO INTESTINAL	Facilita la copulación	Facilita la erección (?)
OXÍDO NÍTRICO	No probado	Su actividad facilita la erección (?).
NEUROPÉPTIDO Y	No probado	Sin efecto
PROSTAGLANDINA E ₂	Facilita la copulación (?)	No probado
ANGIOTENSINA II	Inhibe la copulación (?)	No probado

Cuadro 2. Resumen de los efectos de varios sistemas neuroquímicos sobre el comportamiento sexual en machos. (modificado de Meisel y Sachs, 1994).

1.3.5 Neurotransmisores.

Además del papel que tienen los andrógenos gonadales, principalmente la T, en la adecuada expresión del CSM en los mamíferos, éste es regulado también por sistemas de neurotransmisores que actúan facilitándolo o inhibiéndolo. Por ejemplo,

se conoce que la 5-HT y el GABA inhiben el CSM; mientras que la dopamina (DA), NE y acetilcolina (ACh) lo facilitan (Retana y Velazquez, 1997).

1.3.5.1 Participación del sistema monoaminérgico.

El sistema monoaminérgico se constituye fundamentalmente por dos clases de monoaminas: las catecolaminas: DA y NE , y la indolamina 5HT, se sabe, que el TRP en el caso de la 5HT, y la tirosina, en el caso de la DA y la NE, son capturados directamente de la sangre para su síntesis.

La hidroxilación del triptófano a 5HT puede bloquearse por paraclorofenilalanina (PCPA). Se ha reportado que el tratamiento con PCPA en ratas macho provoca hipersexualidad. Este incremento en la sexualidad se manifiesta por un incremento en la FM con machos (Schilito, 1970).

Durante mucho tiempo, existieron resultados controversiales en relación con el efecto inhibitor de la 5HT. Finalmente, la conclusión de que la 5HT dentro del sistema nervioso central tiene un efecto inhibitor del comportamiento sexual masculino, se apoya, en el hecho de que al administrar dosis subumbrales de T en presencia de PCPA, el porcentaje de machos que inician las montas se incrementa así como el de aquellos que eyaculan. Más aún, los machos mantenidos con dosis subumbrales de estradiol también responden al tratamiento de PCPA con un incremento en el porcentaje del patrón de eyaculación (Luttge, 1975).

Por otra parte, existen pruebas sobre el CS, en las que se ha observado que una elevación en los niveles de 5HT inhibe la cópula en machos. En la tabla 1 se muestran algunos de los efectos de la 5HT sobre la cópula y la erección peneana, cuando se estimulan diferentes receptores de este neurotransmisor.

Por otra parte, la influencia de la DA, sobre la actividad sexual en el hombre, fue inferida a partir de estudios en pacientes con enfermedad de Parkinson, los que reportaban una actividad sexual insuficiente, asociada con alteraciones en la erección.

Después del tratamiento con DA se observó un incremento en la actividad sexual, además de mejorar significativamente el problema de erección, mejorando los síntomas de la enfermedad. En estudios realizados en hombres impotentes sanos, y en hombres sanos, a los cuales se les administraron agonistas dopaminérgicos, se observó un incremento en la erección, por lo que estos resultados sugirieron que la DA está involucrada al menos en la capacidad de erección (Meissel y Sachs, 1994).

También se ha estudiado el efecto de las catecolaminas en otros patrones del CS masculino. Por ejemplo, se ha observado que la reserpina y la tetrabenazina disminuyen la frecuencia de intromisión en ratas machos intactos y sexualmente activos (Dewsbury, 1972). Sin embargo, estas drogas disminuyen los porcentajes de monta e intromisiones, incrementando la latencia de monta (reserpina) y disminuyendo el número de montas por minuto (reserpina) en ratas macho castrados tratadas con T (Malmnás, 1973).

Los neurolépticos Clorpromazina y Haloperidol, los cuales bloquean los receptores para la DA y la NE inhiben el comportamiento copulatorio en ratas macho. Por otra parte, la fenoxibenzamina, la cual bloquea los receptores para la NE, pero no los de la DA, no afecta el comportamiento copulatorio. Por el contrario, el pimozide, que bloquea los receptores dopaminérgicos, disminuye los porcentajes de

montas e intromisiones, así como el número de montas por minuto, así como la latencia de la monta (Malmnàs, 1973).

Cuando se utilizan agentes estimulantes de los receptores de la DA, tales como la apomorfina (APO), se ha observado que se incrementa el porcentaje en cuanto al número de montas, disminuyendo su latencia (Tagliamonte et al., 1974). La interpretación general en cuanto a los efectos de la DA es que facilita la cópula.

1.3.5.2 Participación del sistema colinérgico.

Los estudios de las drogas colinérgicas sobre el CS, aún son escasos (Beng et al, 1985). En relación al sistema colinérgico, se ha reportado que la estimulación de receptores muscarínicos situados en el POAm con el agonista muscarínico oxotremorina (OXO), facilitan el comportamiento sexual masculino en ratas. Más aún, la administración de antagonistas muscarínicos tales como la escopolamina inhibe el comportamiento (Hull, Retana, 1994).

1.3.6 Interacciones hormona-neurotransmisor en la regulación del comportamiento sexual masculino.

Existen varios reportes que indican que los esteroides gonadales interactúan con los sistemas de neurotransmisión, sugiriendo que este mecanismo está involucrado en la regulación del CSM. La castración de ratas macho, incrementa los niveles de 5-HT en el núcleo hipotalámico ventromedial, y, la destrucción química de neuronas serotoninérgicas o la depleción de 5-HT en éstas, facilitan el CS sin reemplazamiento de T (Larsson et al., 1979). La administración crónica de propionato de testosterona disminuye los niveles de 5-HT y sus metabolitos en varias regiones del cerebro (Bronson et al, 1994), indicando que la T, puede activar de manera

normal el comportamiento sexual en machos reduciendo la transmisión a nivel de las sinapsis serotoninérgicas.

Con respecto a las catecolaminas, la castración incrementa los niveles de los receptores adrenérgicos, así como el recambio de la NE en el hipotálamo sin afectar los niveles de estado estable, el tratamiento con testosterona en machos castrados facilita la liberación de NE (Di Paolo et al., 1982). En el caso de la DA, existen resultados contradictorios en relación con los efectos de la castración y el tratamiento con testosterona sobre el POAm. Algunos estudios muestran que el contenido de DA y el recambio disminuye en el POAm, después de la castración, mientras que otros muestran que el tratamiento con T conduce a una disminución en la actividad de la DA en el POAm, cuando la T es administrada sistémicamente o aplicada directamente en el POAm.

Con respecto a la acetilcolina, la castración disminuye la actividad en el POAm de las enzimas que participan en su metabolismo.

1.4 Definición de parámetros copulatorios de la conducta sexual masculina en la rata.

Con fundamento en la neuroanatomofisiología del CSM, a continuación se definen los parámetros copulatorios utilizados para describir los patrones copulatorios que la integran (Fig.6).

- a. *Latencia de monta (LM)*: periodo que transcurre desde que se introduce la hembra con el macho, hasta que ocurre la primera monta (Meisel y Sachs, 1994).
- b. *Latencia de intromisión (LI)*. Periodo que transcurre desde que se introduce la hembra con el macho, hasta que ocurre la primera monta (Meisel y Sachs, 1994).
- c. *Latencia de eyaculación (LE)*. Se refiere al tiempo que transcurre desde la primera intromisión hasta que ocurre la eyaculación en cada serie eyaculatoria.
- d. *Número de montas (NM)*. Es el número total de montas que realiza el macho con movimientos pélvicos antes de cada eyaculación.
- e. *Número de intromisiones (NI)*. Es el número de montas con inserción peneana que realiza el macho antes de la eyaculación (Morales-Otal, A.,2002).

Concluido el registro, se puede calcular lo siguiente:

Porcentaje de sujetos que eyacularon (%SsE), este porcentaje se puede calcular para toda la sesión de registro. Además, se puede calcular el porcentaje de machos sexualmente activos, para distinguir a los que copulan de los que no lo hacen, o bien evaluar a los que montan, de los que intromiten en cada serie eyaculatoria.

Otro parámetro que nos permite cuantificar la CSM, es la tasa de aciertos (TA), la cual se refiere al número de intromisiones (NI), dividido entre la suma del número de intromisiones más el número de montas (NI+NM) que se presentan antes de la eyaculación. Este parámetro alcanza el valor máximo de 1, cuando el macho solo presenta intromisiones, lo que indica que la eficiencia copulatoria fue del 100%. Este parámetro es útil para evaluar tratamientos que afectan la sensibilidad peneana o la erección. También es llamado índice de eficiencia copulatorio (Meisel y Sachs, 1994, Morales-Otal, 2002).

Una vez concluido el registro de la CSM y, a partir de los datos anteriores, se pueden calcular los porcentajes correspondientes a cada uno de los componentes copulatorios para su análisis y discusión.

PATRÓN COPULATORIO DE LA RATA

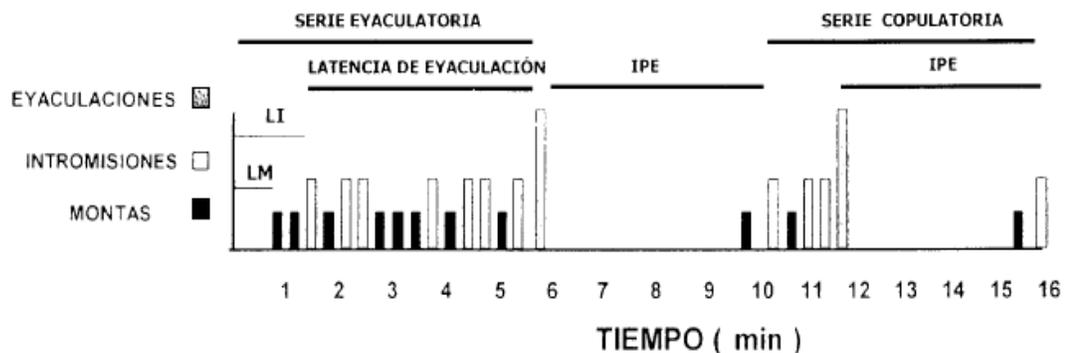


Fig. 6. Descripción temporal de los patrones que ocurren durante la cópula del macho y sus respectivos parámetros de evaluación. Abreviaturas; LM=Latencia de monta; LI (latencia de intromisión); IPE (Intervalo posteyaculatorio) (Tomada y modificada de Morales-Otal, A.,2002)

2. OBJETIVO.

Evaluar el efecto de la administración **aguda** de distintas dosis de MEL (0.5, 1, 2.5, 5, 10, 20 y 40 mg/kg), en el comportamiento copulatorio masculino de la rata.

3. HIPÓTESIS.

La administración **aguda** de MEL, facilitará de manera dosis-dependiente, el comportamiento copulatorio de la rata macho.

4. JUSTIFICACIÓN.

La CSM, está regulada de forma compleja, por distintos componentes neuroendócrinos, los cuales a su vez son influenciados por estímulos ambientales (Reiter, 1993).

Uno de los ejemplos más claros de esta interacción, es el efecto del fotoperiodo en los ritmos circadianos, especialmente en la regulación de la **fisiología reproductiva por MEL**, la cual está relacionada directamente con la neuromodulación de la secreción de GnRH y la GnIH (Tsutsui, K., 2000; Goldman, 2001; GE., Bentley, 2008) en la glándula pituitaria anterior en animales cuya reproducción es estacional (Tamarkin, et al., 1985; M.H., Hastings, et al.1985) y, recientemente, en algunos otros, en donde se ha demostrado la expresión de receptores a MEL en distintas estructuras cerebrales que intervienen en la reproducción, siendo especialmente importantes, las neuronas productoras de GnIH u homólogos, que inhiben la reproducción, como en el caso de ciertas aves, mamíferos, anfibios y peces (Ubuka, T., et al., 2008).

Antes del 2000, existían pocos estudios relacionados directamente con la evaluación del efecto de la **MEL**, en la **conducta sexual**, específicamente en lo que se relaciona con el aspecto copulatorio.

Al respecto, cabe señalar que existían reportes de que la administración crónica (14 y 30 días) de dosis altas de MEL (8.0 mg/kg) inhibían algunos patrones de la CS masculina en ratas pinealectomizadas y normales (Yamada, K., et al., 1992; Drago, F., et al., 1999).

Debido a lo anterior, en el presente estudio, se decidió evaluar, el efecto de la **administración aguda** de distintas dosis de MEL (“altas” y “bajas”) sobre los parámetros de la conducta copulatoria en la rata macho, debido a que además, se tenían reportes anecdóticos de que dosis altas de MEL, mejoraban el CS en el hombre.

5. MATERIALES Y MÉTODO.

5.1. Características de los animales utilizados.

Para evaluar el efecto de la MEL en la CS, se utilizaron ratas macho adultas de la cepa Wistar, con un peso de 350-450 g, a las cuales se les mantuvo bajo un ciclo de iluminación inverso de 12 h luz: 12 h oscuridad y temperatura constante (la luz se apagó a las 9 de la mañana). No se tuvieron restricciones en cuanto a la cantidad de la comida y el agua que consumieron los animales.

Después de dos semanas de habituación en las condiciones descritas, los animales fueron sometidos a tres pruebas de CS de selección.

5.2 Selección de sujetos.

Previo a las pruebas experimentales con MEL, se realizaron tres pruebas de selección, con un intervalo de 1 semana. Las pruebas se realizaron 4 h después del inicio de la fase oscura, bajo iluminación roja tenue durante 30 min.

Los machos se colocaron 5 minutos antes del inicio del registro de la CS, en redondeles de “plexiglass” transparente de 50 cm de diámetro, con una base de aserrín, con la finalidad de que se habituaran a su entorno.

Posteriormente, se evaluó su CS en presencia de hembras receptoras, tratadas con benzoato de estradiol (17β -estradiol (5 μ g /0.1 ml de aceite)), 48 h antes de la prueba y para el caso de la progesterona (2 mg/ 0.1 ml de aceite) 4 h previas al registro.

Las ratas se seleccionaron al presentar una latencia de eyaculación menor de 10 minutos en las tres pruebas consecutivas. Se corroboró para cada grupo que el CSM, fuese el adecuado, en base a los patrones descritos en la literatura.

5.3 Tratamiento farmacológico y registro de la CS con MEL.

Una vez que los animales se seleccionaron, las ratas, recibieron una inyección de solución salina o de distintas dosis de MEL (0.5, 1, 2.5, 5, 10, 20 y 40 mg/kg), 10 min antes del registro de la CS. El periodo de tiempo entre cada tratamiento, fue de una semana.

Para la aplicación del tratamiento farmacológico de MEL, se formaron 3 grupos experimentales (A, B y C), integrados por 15 ratas cuyas características ya se han descrito. A continuación se especifica el tratamiento para cada grupo.

Experimento A. Tratados con MEL (Control, 0.5 y 1 mg/kg) y vehículo.

Experimento B. Tratados con MEL (Control, 5, 10 y 20 mg/kg) y vehículo.

Experimento C. Tratados con MEL (Control, 2.5 y 40 mg/kg) y vehículo.

Para integrar cada uno de los grupos experimentales, se utilizó un cuadrado latino.

Una vez que los sujetos recibieron el tratamiento con MEL, los registros de la CS, se realizaron como se describió para el caso de la selección de sujetos.

Para cada grupo de estudio se realizaron de tres a cuatro registros conductuales, con espacio de una semana entre cada tratamiento, bajo las mismas condiciones experimentales.

Los parámetros copulatorios a evaluar fueron:

- a) Latencias de monta, intromisión y eyaculación (LM, LI, LE)
- b) Número de montas e intromisiones antes de la eyaculación (NM, NI)
- c) Frecuencia de eyaculación durante cada prueba (FE)
- d) Intervalo posteyaculatorio (PE1)

- e) Intervalo interintromisión e intercopulatorio. (III, IIC)
- f) Tasa de aciertos (TA)
- g) Porcentaje de animales sexualmente activos (%SsA), que presentaron montas, intromisiones y eyaculaciones (%SsM, %Ssl, %SsE)

5.4 Análisis Estadístico.

Para la evaluación del efecto de la MEL en la conducta copulatoria de la rata macho, se utilizó la prueba de ANOVA para comparar los diferentes grupos de estudio, seguida de la prueba de Fischer, cuando la primera fue significativa, fijándose un nivel de probabilidad en $P \leq 0.05$.

En el caso de la evaluación en el CSM, para el % SsA, se utilizó la prueba de χ^2 , seguida de la prueba de Fredman.

6. RESULTADOS.

6.1 Porcentaje de sujetos sexualmente activos

La administración aguda de MEL en dosis de 0.5, 1, 2.5, 5, 10, 20 y 40 mg/kg, no modificó de forma significativa el porcentaje de sujetos sexualmente activos. No existen diferencias notables respecto al porcentaje de sujetos que montan, intromiten y eyaculan.

Sin embargo en la Fig.7, se observa un ligero incremento en el porcentaje de los sujetos que eyaculan, con la administración de dosis extremas 0.5 y 40 mg/kg; ocurre lo contrario, con dosis intermedias de 2.5 y 5 mg/kg.

El análisis estadístico con la prueba de χ^2 , con corrección de Friedman, no mostró diferencias significativas en ninguno de los parámetros.

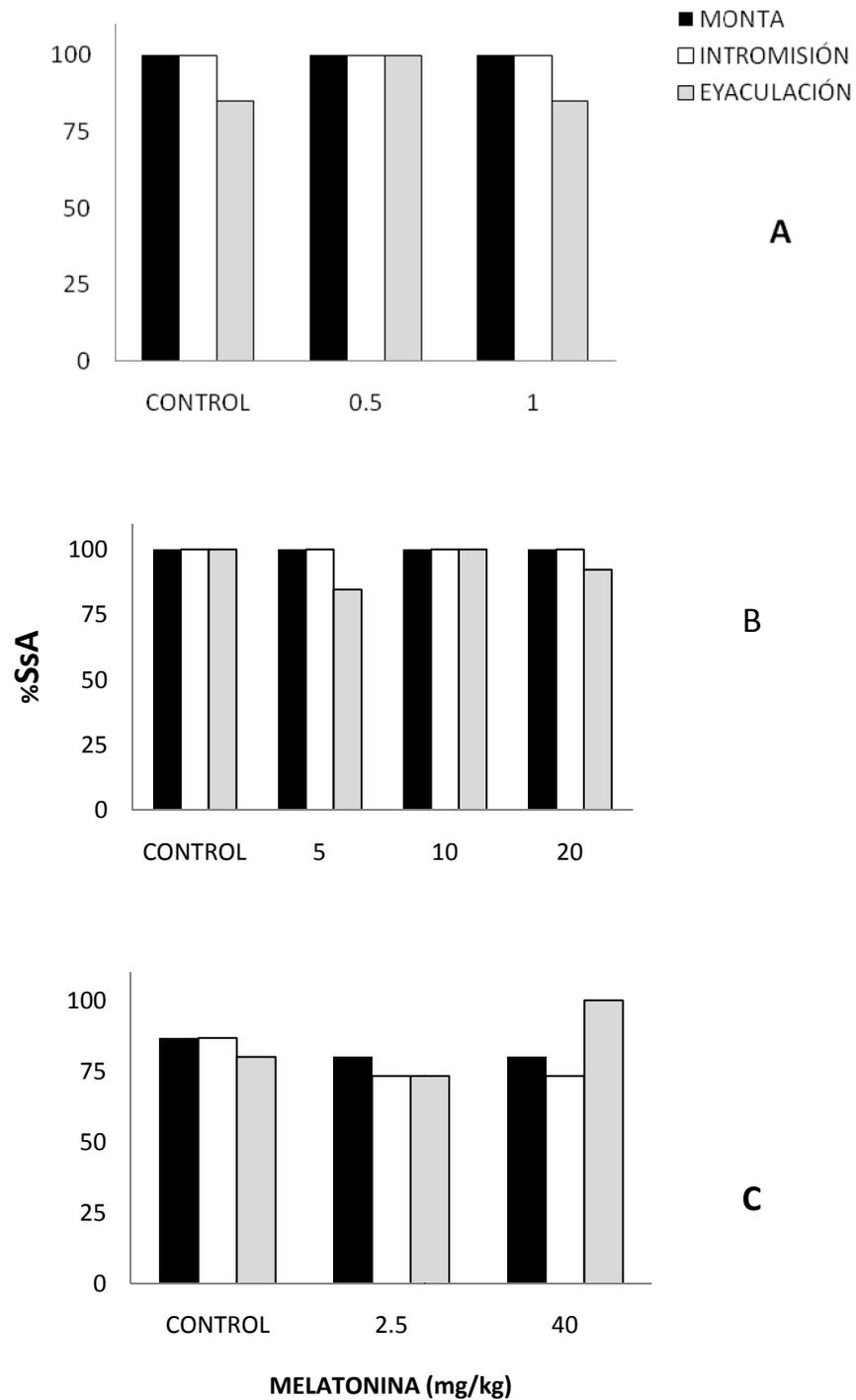


Fig. 7. Porcentaje de sujetos sexualmente activos (montan, intromiten y eyaculan), tratados de forma aguda con MEL en diferentes dosis. A. 0.5 y 1 mg/kg (n=13). B. 5, 10 y 20 mg/kg (n=13). C. 2.5 y 40 mg/kg (n=12). Para el grupo control, n=13, en cada experimento. El análisis estadístico con la prueba de, χ^2 no mostró diferencia significativa en ninguno de los parámetros.

6.2 Latencia de monta, intromisión y eyaculación.

Latencia de monta

Al comparar los promedios de LM obtenidos para los tres grupos experimentales (A, B y C), no se encontraron diferencias significativas en las LM [$F(38,2)=0.36$, $p=0.7$; $F(51,3)=0.785$, $p=0.51$, $(35,2)=1.74$, $p=0.2$], respectivamente (Fig.8).

Latencia de intromisión.

Al comparar los promedios de LI obtenidos para los tres grupos experimentales (A, B y C), no se encontraron diferencias significativas en las LI [$F(38,2)=0.36$, $p=0.7$; $F(51,3)=0.396$, $p=0.757$, $F(35,2)=1.4$, $p=0.26$ (Fig.9).

Latencia de eyaculación.

Al comparar los promedios de LE obtenidos para los tres grupos experimentales (A, B y C), no se encontraron diferencias significativas en las LE [$F(38,2)=0.12$, $p=0.88$, $F(51,3)=1.567$, $p=0.214$, $F(38,2)=0.06$, $p=0.94$] (Fig. 10).

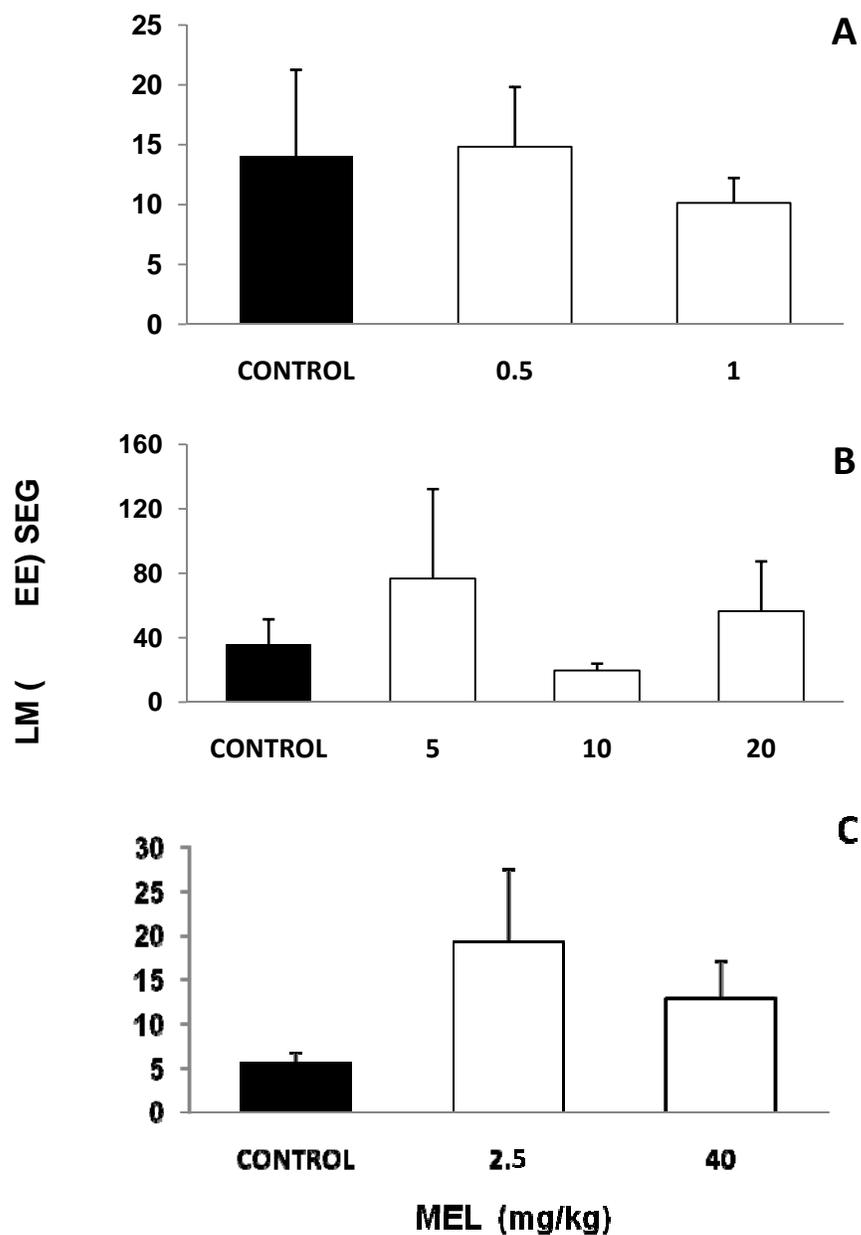


Fig. 8. Efecto de la administración aguda de MEL en diferentes dosis, sobre la latencia de monta de ratas macho adultas. A. 0.5 y 1 mg/kg (n=13). B. 5, 10 y 20 mg/kg (n=13). C. 2.5 y 40 mg/kg (n=12). Para el grupo control, n=13, en cada experimento. Los resultados se expresan como el $\bar{X} \pm EE$. ANOVA de medidas repetidas, seguida de la prueba LSD de Fisher (P<0.05).

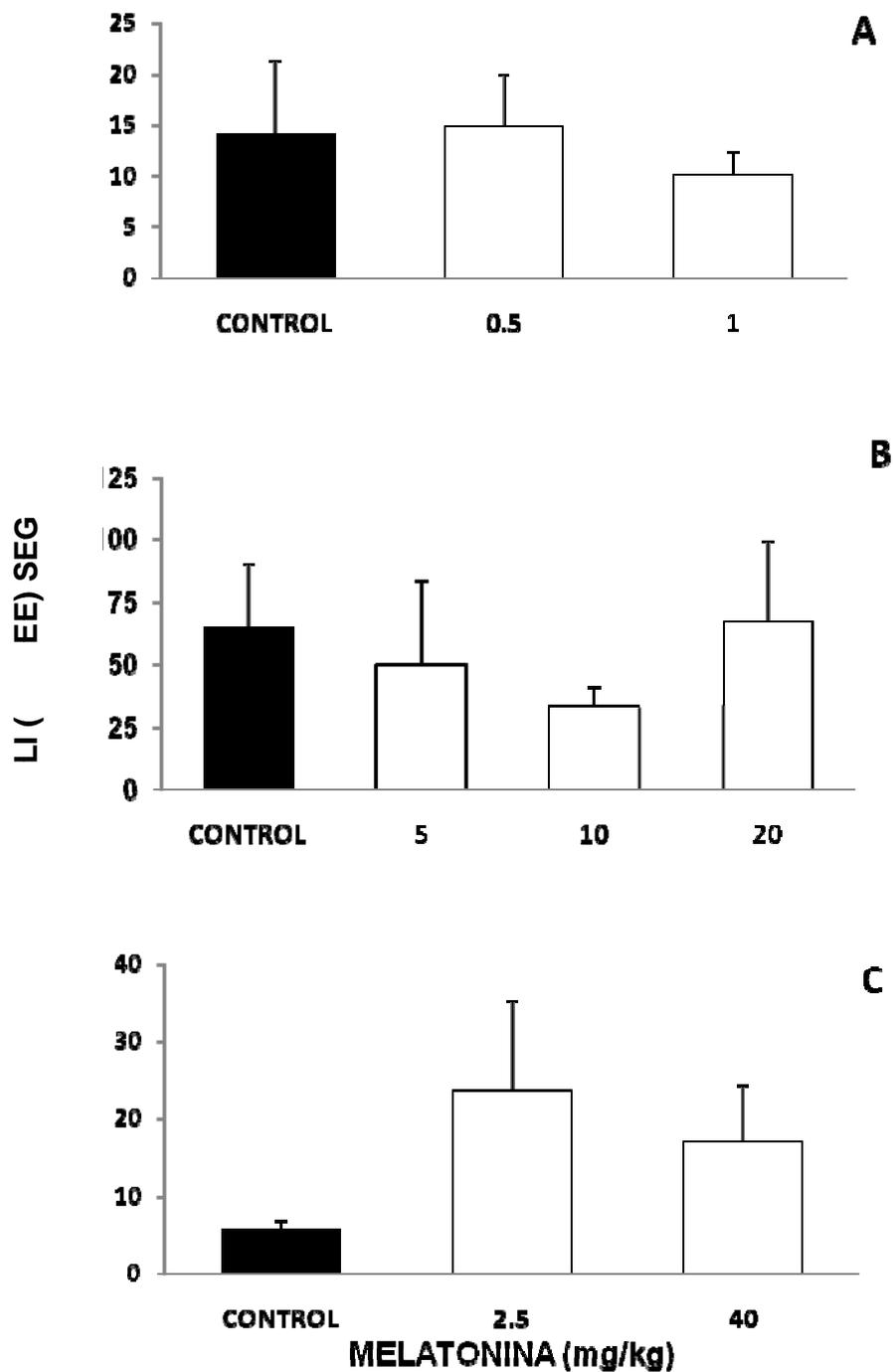


Fig. 9. Efecto de la administración aguda de MEL en diferentes dosis, sobre la latencia de intrusión de ratas macho adultas. A: 0.5 y 1 mg/kg (n=13). B: 5 (n=12), 10 y 20 mg/kg (n=13). C: 2.5 y 40 mg/kg (n=12). Grupo control, n=13, en A y B; n=12 en C. Los resultados se expresan como el $\bar{X} \pm EE$. ANOVA de medidas repetidas, seguida de la prueba LSD de Fisher ($P < 0.05$).

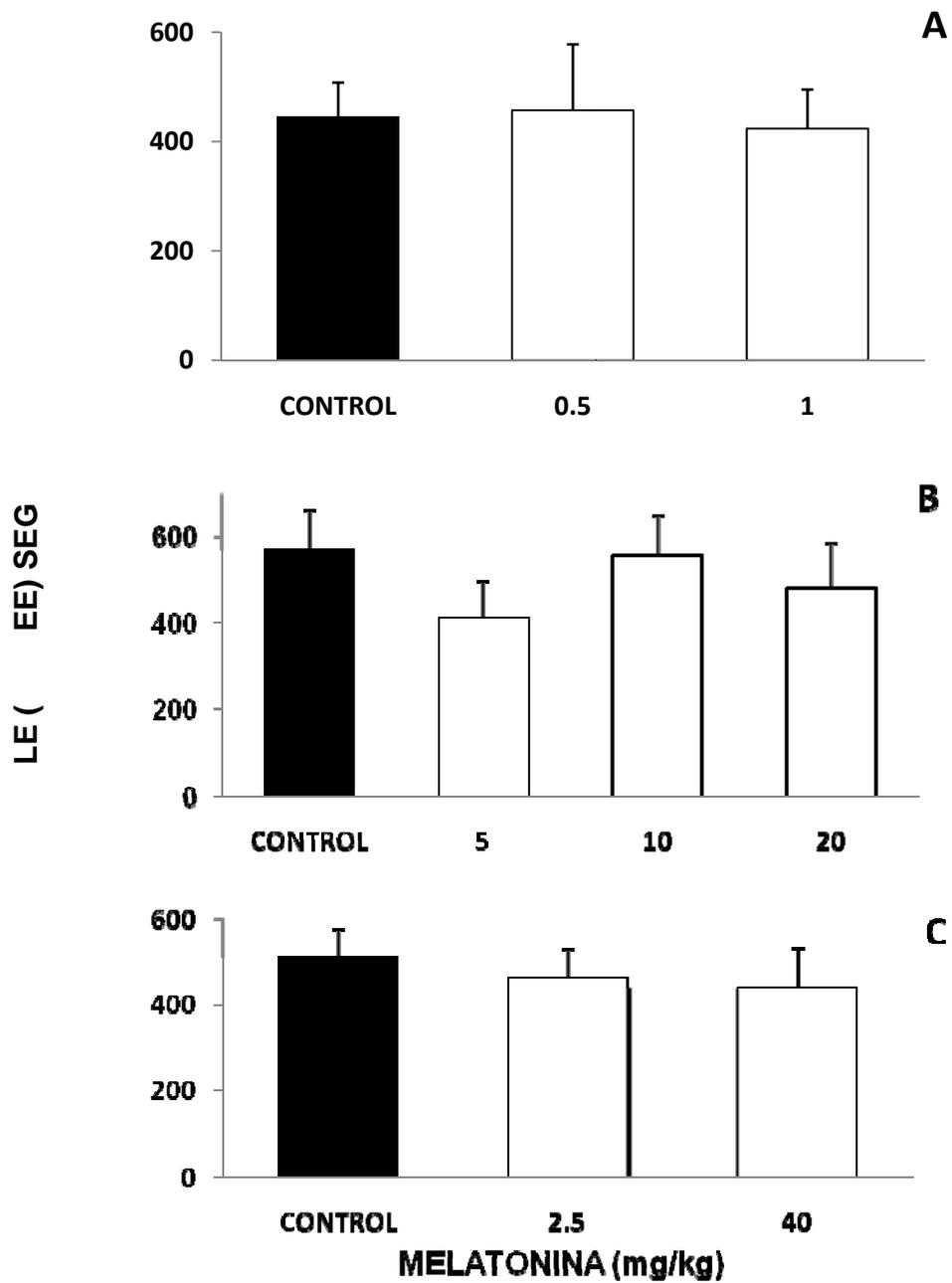


Fig. 10 Efecto de la administración aguda de MEL en diferentes dosis, sobre la latencia de eyaculación de ratas macho adultas. A: 0.5 y 1 mg/kg (n=11 y 12). B: 5, 10 y 20 mg/kg (n=11, 13, 12). C: 2.5 y 40 mg/kg (n=11 y 12). Grupo control, n=11, en A y C; n=12 en B. Los resultados se expresan como el $\bar{X} \pm EE$. ANOVA de medidas repetidas, seguida de la prueba LSD de Fisher ($P < 0.05$).

6.3 Frecuencia de eyaculación.

Al comparar los promedios de las FE obtenidos para los tres grupos experimentales (A, B y C), se encontró una diferencia significativa, con la dosis de 0.5 mg/kg, respecto al control [$F(38,2)= 3.27$, $p= 0.056$ ANOVA de medidas repetidas, LSD-Fisher $*p<0.05$] (Fig. 11; A).

6.4 Número de intromisiones.

Al comparar los promedios del NI obtenidos para los tres grupos experimentales (A, B y C), no se encontraron diferencias significativas en los NI, de los grupos A y C (Fig. 12; A, C). Sin embargo, en el grupo B (Fig. 12; B), se observa una disminución significativa en el NI de las ratas macho, tratadas de forma aguda con MEL 5mg/kg [$F(51,3)=3.82$, $p=0.0178$; $p<0.05$]. La dosis 5 es diferente a las dosis 10** y 20* ($*p<0.05$, $**p<0.01$).

6.5 Número de montas.

Al comparar los promedios del NM obtenidos para los tres grupos experimentales (A, B y C), no se encontraron diferencias significativas en los NM [$F(38,2)=0.1$, $p=0.9$, $F(51,3)=2.08$, $p=0.12$, $F(38,2)=1.6$, $p=0.22$] (Fig. 13).

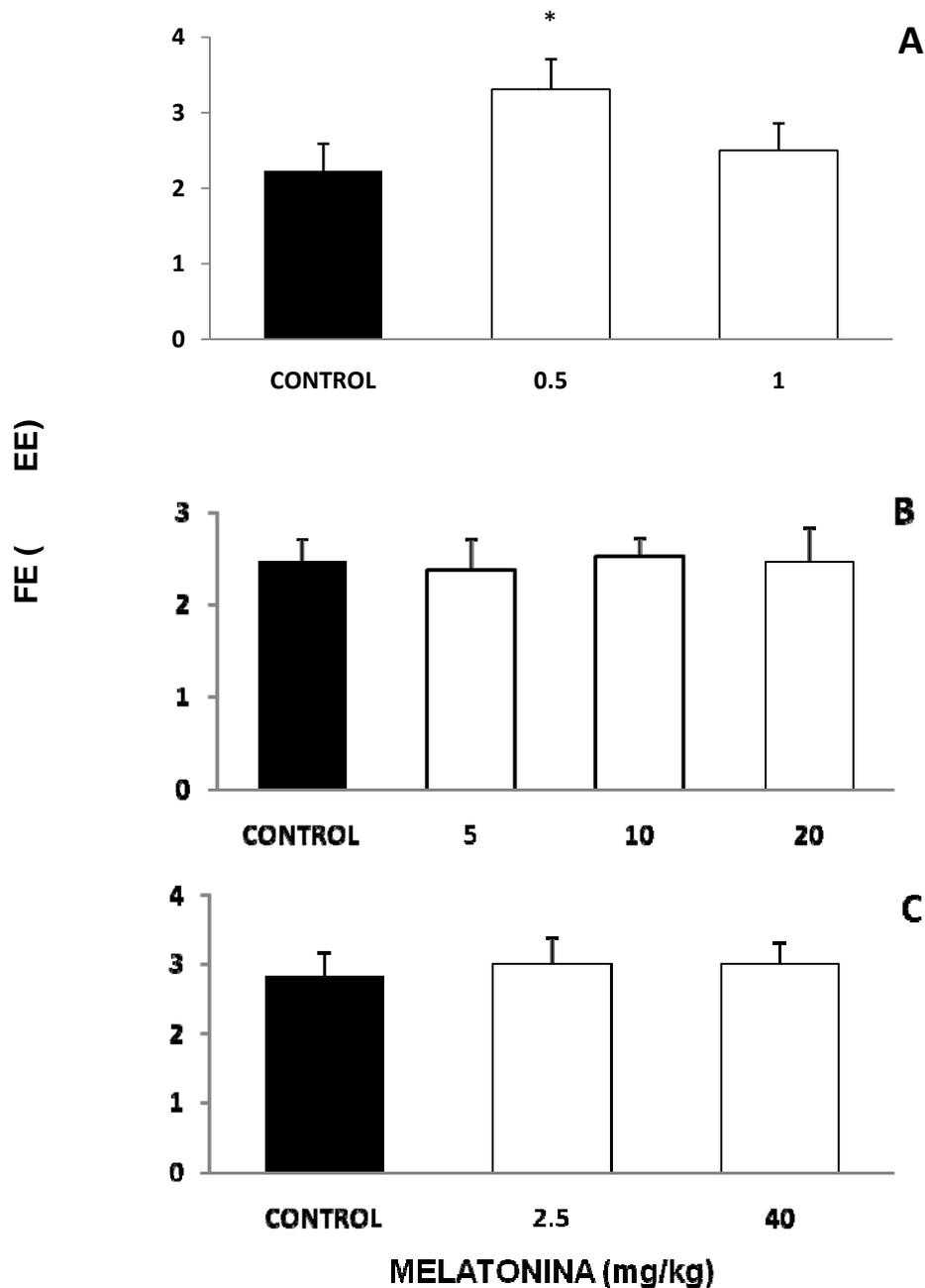


Fig. 11. Efecto de la administración aguda de MEL en diferentes dosis, sobre la frecuencia de eyaculación de ratas macho adultas. A. 0.5 y 1 mg/kg (n=13 Y 12). B. 5, 10 y 20 mg/kg (n=13). C. 2.5 y 40 mg/kg (n=12). Para el grupo control, n=13, en cada experimento. Los resultados se expresan como el $\bar{X} \pm EE$. ANOVA, de medidas repetidas, seguida de la prueba LSD de Fisher (*P<0.05).

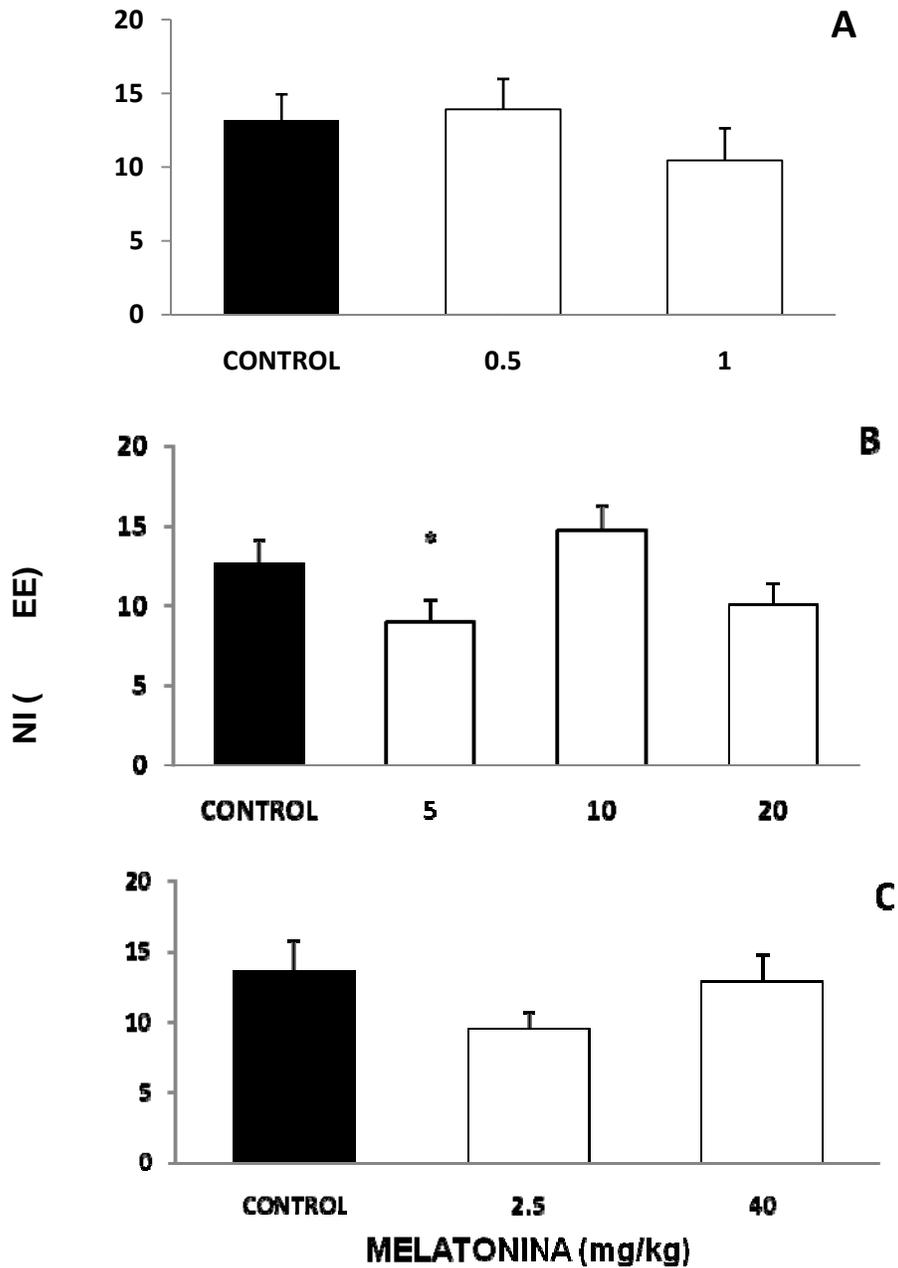


Fig. 12. Efecto de la administración aguda de MEL en diferentes dosis, sobre el número de intrusiones de ratas macho adultas. A: 0.5 y 1 mg/kg (n=13). B: 5, 10 y 20 mg/kg (n=13). C: 2.5 y 40 mg/kg (n=12). Para el grupo control, n=13 en A y B; n=12 en C. Los resultados se expresan como el $\bar{X} \pm EE$. ANOVA de medidas repetidas, seguida de la prueba LSD de Fisher (*P<0.05).

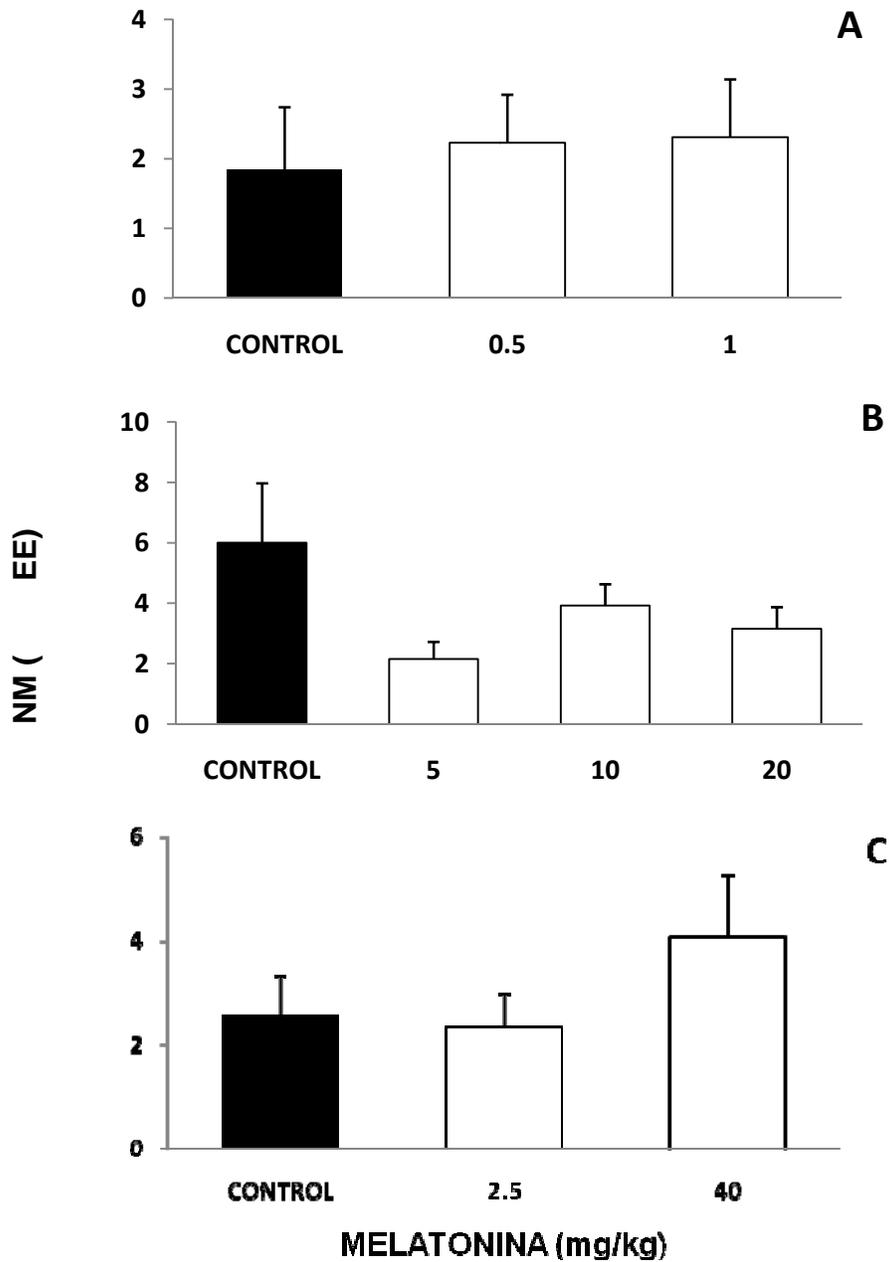


Fig. 13. Efecto de la administración aguda de MEL en diferentes dosis, sobre el número de montas de ratas macho adultas. A. 0.5 y 1 mg/kg (n=13). B. 5, 10 y 20 mg/kg (n=13). C. 2.5 y 40 mg/kg (n=12). Para el grupo control, n=13 en A y B; n=12 en C. Los resultados se expresan como el $\bar{X} \pm EE$. ANOVA de medidas repetidas, seguida de la prueba LSD de Fisher (P<0.05).

6.6 Parámetros de la conducta posteyaculatoria: PE1, III, IIC y TA.

Una vez que el registro conductual se concluyó, se calcularon los valores para cada uno de los parámetros descritos en la tabla 1. La administración aguda de la MEL a distintas concentraciones (0.5, 1, 2.5, 5, 10, 20 y 40 mg/kg), no modificó significativamente ninguno de los parámetros de la conducta posteyaculatoria.

TABLA 1
Efecto agudo de distintas dosis de MEL, sobre los parámetros de la conducta sexual de las ratas macho adultas.

MEL (mg/kg)	PE1	III	IIC	TA	Experimento
CONTROL	239.45±18.66	32.054±2.88	29.30±3.08	0.91±0.03	A
0.5	319.09±24.88	102.99±77.82	100.06±78.05	0.90±11.72	
1	354.36±16.58	34.05±5.03	34.14±6.17	0.72±0.1	
CONTROL	399.15±18.32	46.69±5.5	32.08±2.88	0.91±0.03	B
5	360.54±20.18	38.75±7.35	31.85±5.62	0.90±11.72	
10	362.46±25.43	38.48±4.87	29.74±3.34	0.72±0.1	
20	364.75±21.06	43.21±6.79	32.20±4.98	0.71±0.06	
CONTROL	345±20.04	40.04±7.36	32.95±5.5	0.81±0.04	C
2.5	302.18±10.65	45.21±5.04	37.65±4.6	0.79±0.03	
40	323.1±22.32	36.37±6.4	28.12±4.86	0.79±0.03	

Los valores están expresados como la el $\bar{X} \pm EE$.

7. DISCUSIÓN.

La MEL, en asociación con otras entidades químicas, de origen neuroendócrino, regulan el proceso reproductivo, actuando directamente en las estructuras anatómicas involucradas en la fisiología del mismo.

Se ha comprobado, que el factor modulador de la fisiología reproductiva que actúa inhibiendo la liberación de las GnHR a través de la inducción de la expresión de su antagonista (GnIH), es la MEL, lo cual apoya la hipótesis de que esta hormona interviene en la regulación negativa de muchos procesos estacionales incluyendo la actividad gonadal (Bentley, GE., et al., 2006).

Recientemente se han descubierto una gran variedad de receptores a MEL, en el eje reproductivo y en estructuras anatómicas asociadas a éste, en algunas aves y mamíferos, principalmente en el APOm, el núcleo NPV del hipotálamo, área septal, y eminencia media entre otros (Tsutsui, K., y K., Ukena, 2006; Tsutsui, K., 2009).

Cabe destacar que pese a que estas estructuras están relacionadas con la expresión de la CS, el papel de la MEL en este proceso, aún continúa siendo controvertido (Brotto, L.A., 2000).

Teniendo como antecedente, el efecto antigonadal de la MEL y su participación en la reproducción de tipo estacional (Underwood, H., 1977; Reiter, R.J., 1980; Johnson. L.Y., et al., 1982) en la década de 1990, se presentan las primeras evidencias científicas sólidas, vinculadas a la influencia de la MEL específicamente, en la supresión del “apetito copulatorio” de la rata macho,

especulando que este efecto, pudiese estar regulado via la MEL a nivel del hipotálamo o el sistema límbico (Yamada, K et al., 1992).

Es importante enfatizar el hecho de al iniciarse la parte experimental de este estudio, se apoyaba la hipótesis de que la MEL, disminuía la CS en la rata macho cuando se administraba de manera crónica (14 y 30 días) con dosis altas (1 mg/kg y 8.0 mg/kg, respectivamente), inhibiendo algunos patrones de la CS masculina en ratas pinealectomizadas y normales (Yamada, K., et al., 1992; Drago, F., et al., 1999).

Por lo anterior, se decidió evaluar el efecto de distintas dosis de MEL, administradas de forma aguda, en la CS.

Los datos obtenidos, muestran que la administración aguda de las dosis de MEL evaluadas, no tuvieron efecto significativo en la mayoría de los componentes de la CS de la rata macho, ni en el porcentaje de los sujetos sexualmente activos, considerando dentro de éstos los que montan, intromiten y eyaculan.

Un análisis a priori de los resultados, indica que, en general, la MEL administrada de manera crónica en dosis altas, no interviene en la modulación de los componentes motivacionales y ejecutorios de la CS.

Sin embargo, se observó un incremento significativo en la FE, con la dosis menor (0.5 mg/kg), sin alterar la LE, LM o LI.

Estos resultados, apoyan la evidencia de que dosis bajas de MEL, facilitan la expresión del componente ejecutor de la CS más que el motivacional (Brotto, LA y B. Gorzalka, 2000), como ocurre en el caso de los experimentos realizados a largo plazo en donde se ha demostrado que se puede restablecer completamente el patrón

conductual en ratas impotentes; mientras que en ratas que presentan CS, previa al tratamiento con MEL, ésta, promueve un efecto facilitador de la CS, principalmente en el componente motivacional, más que motor. Lo anterior, se apoya en el hecho de que estas ratas expresan pocos movimientos espontáneos al momento de evaluar su comportamiento (Drago, F. y L. Busa, 2000).

Se ha propuesto que la regulación conductual de la MEL a corto plazo, puede deberse a su efecto antagonista a nivel de los receptores 5-HT_{2A} (Foreman, M., et al., 1989) de la vía serotoninérgica, debido a que previamente se ha demostrado su interacción en estructuras como el estriado, núcleo accumbens, y núcleos del raquí dorsal y medio, en donde prevalece esta vía (Miguez, JM., et al., 1987).

Por otro lado, en nuestros resultados, obtuvimos una disminución en el NI, con una dosis 5 mg/kg, lo cual sustenta aún más la hipótesis de que a dosis altas se inhibe el componente motor y/o ejecutor de la CS.

Pese a las evidencias anteriores, en las que se corrobora que el efecto de la MEL en dosis bajas, favorece la CS tanto en su aspecto motivacional como ejecutor, aún no queda claro el mecanismo de acción a corto y largo plazo, debido a que, en experimentos realizados para evaluar la conducta sexual a corto plazo con dosis bajas (10, 50 y 100µg), se ha reportado el restablecimiento total del patrón copulatorio favoreciendo sus dos componentes.

Mientras que en estudios realizados de forma crónica, el incremento en la CS, no puede explicarse en función de una facilitación general en la actividad motora relacionada con el componente ejecutor.

A pesar de las evidencias anteriores, el efecto de la MEL en la conducta sexual de animales cuya reproducción no está sincronizada con el fotoperiodo -tal es el caso de algunos mamíferos-, particularmente de la rata macho, debe continuarse evaluando, con la finalidad de obtener datos contundentes que permitan esclarecer sin lugar a dudas, el papel de la MEL en la CS.

Asimismo, es importante considerar, la hora de administración de la MEL, y determinar con mayor precisión la dosis administrada, con la finalidad de evitar efectos colaterales, en otras de las funciones que regula esta hormona.

Lo anterior, tiene implicaciones de suma importancia para el estudio de la CS en humanos, particularmente en lo que se refiere al mejoramiento del libido y la potencia en el hombre.

8. CONCLUSIONES.

Con fundamento en los resultados experimentales, reportados en el presente estudio, así como las evidencias documentadas respecto al efecto de la MEL en la conducta sexual de la rata macho, podemos concluir lo siguiente:

Las distintas dosis de MEL, administradas de forma aguda, no mostraron un incremento o decremento significativo en el patrón completo de la CS.

Únicamente la dosis baja de MEL (0.5 mg/kg), incrementó uno de los componentes ejecutores de la CS.

La administración aguda de MEL, con una dosis mayor (5 mg/kg), inhibió otro de los componentes motores de la CS, tal es caso del NI.

Los resultados obtenidos, permiten inferir un efecto dosis-dependiente de la MEL, en algunos de los parámetros evaluados. Sin embargo, estos resultados deben ser confirmados con estudios posteriores, para evitar hacer especulaciones, sobre el efecto de esta hormona en la conducta sexual de otros organismos.

9. BIBLIOGRAFÍA.

Angeli, A; Gatti, G., Sartori, M.L., Maserà, R.G. (1992). Chronobiological aspects of the neuroendocrine-immune network. Regulation of human natural killer (NK) cell activity as a model. *Chronobiologia*. 19(3-4):93-110.

Arimura, A., Matsuo, H., Baba, Y., Debeljuk, L., Sandow, J., Schally, A.V. 1972. Stimulation of release of LH by synthetic LH-RF in vivo. I. A comparative study of natural and synthetic hormones. *Endocrinology*. 90(1):163-8.

Arteaga-Silva, M. 2002. "Regulación farmacológica de la conducta sexual en el hamster macho (*Mesocricetus auratus*)". Tesis doctoral, Universidad Autónoma Metropolitana.

Arteaga, M., Motte-Lara, J., Velázquez-Moctezuma, J. 2002. Effects of yohimbine and apomorphine on the male sexual behaviour pattern of the golden hamster (*Mesocricetus auratus*). *Eur Neuropsychopharmacol*. 12(1):39-45.

Barrenetxe J, Delagrangre P, Martínez JA. 2004. Physiological and metabolic functions of melatonin. *J Physiol Biochem*. 60(1):61-72.

Bentley, G.E, Ubuka T., McGuire, N.L., Chowdhury V.S., Morita, Y., Yano, T., Hasunuma, I., Binns, M., Wingfield, J.C., Tsutsui, K. 2008. Gonadotropin-inhibitory hormone and its receptor in the avian reproductive system. *Gen Comp Endocrinol*. 156(1):34-43.

Bentley, G.E., Jensen, J.P., Kaur, G.J., Wacker, D.W., Tsutsui, K., Wingfield, J.C. 2006. Rapid inhibition of female sexual behavior by gonadotropin-inhibitory hormone (GnIH). *Horm Behav.* 49(4):550-555.

Blask, D.E.; Lemus-Wilson, A.M.; Wilson, S.T. 1992. Breast cancer: a model system for studying the neuroendocrine role of pineal melatonin in oncology. *Biochem Soc Trans.* 20(2):309-311.

Breedlove, S.M., Arnold, A.P. 1980. Hormone accumulation in a sexually dimorphic motor nucleus of the rat spinal cord. *Science.* 210:564-566.

Broadwell, R.D. 1975. Olfactory relationships of the telencephalon and diencephalon in the rabbit. I. An autoradiographic study of the efferent connections of the main and accessory olfactory bulbs. *J Comp Neurol.* 163(3):329-45.

Bronson, F. H., Heideman, P. D. 1994. Seasonal Regulation of Reproduction in Mammals. En "The Physiology of Reproduction", (Ed. Knobil, E., Neill, J. D.). Raven Press. New York. pp. 541–583.

Brotto, L. A., Gorzalka, B.B. 2000. Melatonin enhances sexual behavior in the male rat. *Physiol. Behav.* 68:483–486.

Brzezinski, A., Wurtman, R.J. 1988. The pineal gland: its possible roles in human reproduction. *Obstet Gynecol Surv* 43(4):197-207.

Cameron, O.G., Nesse, R.M. 1988. Systemic hormonal and physiological abnormalities in anxiety disorders. *Psychoneuroendocrinology*. 13(4):287-307.

Chamberlain, R.S. Herman, B.H. 1990. A novel biochemical model linking dysfunctions in brain melatonin, proopiomelanocortin *Biol Psychiatry*. 28(9):773-93.

Chuang, J.I., Lin, M.T. 1994. Pharmacological effects of melatonin treatment on both locomotor activity and brain serotonin release in rats. *J. Pineal Res*. 17:11–16.

Dahlöf, L.G., Larsson, K. 1980. Hormones and sex behavior. *Lakartidningen*. 77(39):3400-3.

Dawson, D., Encel, N. 1993. Melatonin and sleep in humans. *J Pineal Res*. 15(1):1-12.

Devor, M. 1976. Fiber trayectories of olfactory bulb efferents in the hamster. *J. of comparative neurol*. 166:31-48.

Dewsbury, D. A. 1972. Patterns of copulatory behavior in male mammals. *Q Rev Biol. Mar*. 47(1):1-33.

Dewsbury, D.A., Oglesby, J.M., Shea, S.L., Connor, J.L. 1979. Inbreeding and copulatory behavior in house mice: a further consideration. *Behav Genet*. May; 9(3):151-63.

Di Paolo, T., Poyet, P., Labrie, F. 1982. Prolactin and estradiol increase striatal dopamine receptor density in intact, castrated and hypophysectomized rats. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 6(4-6):377-382

Drago, F., Busa, L. 2000. Acute low doses of melatonin restore full sexual activity in impotent male rats. *Brain Research*. 878(1-2):98-104

Drago, F., Busà, L., Benelli, A., Bertolin, A. 1999. Acute low doses of melatonin stimulate rat sex behavior: the role of serotonin neurotransmission. *European Journal of Pharmacology*. 385(1):1-6.

Garratt, P.J., Tsotinis A. 2007. Synthesis of compounds as melatonin agonists and antagonists. *Mini Rev Med Chem*. 7(10):1075-88

Goldman, B.D. 2001. Mammalian photoperiodic system: formal properties and neuroendocrine mechanisms of photoperiodic time measurement. *J Biol Rhythms*. 16(4):283-301.

Graziadei P.P.C. 1977. Functional anatomy of the mammalian chemoreceptor system. En: *Chemical Signals in Vertebrates*. (Müller-Schwarze D, Mozell MM, eds.).

Guardiola-Lemaître B. Toxicology of melatonin. 1997. *J Biol Rhythms*. Dec;2(6):697-706. Review

Guerrero, J. M., Carrillo-Vico, A., Lardone, P. J. 2007. La melatonina. *Investigación y Ciencia*. Octubre, pp. 30-38.

Hardeland, R., Balzer, I., Poeggeler, B., Fuhrberger, B., Uria, H., Behmann G., Wolf, R., Meyer, T.J. Reiter, R.J. 1995. On the primary functions of melatonin in evolution: mediation of photoperiod signals in a unicell, photooxidation and scavenging of free radicals: *J. Pineal Res.* 18:104-111.

Hart BL. 1968. Sexual reflexes and mating behavior in the male rat. *J Comp Physiol Psychol.* 65(3):453-60.

Hart, B.L., Melese-d'Hospital, P. 1983. Penile mechanisms and the role of the striated penil muscles in penile reflexes. *Physiology and Behavior.* 31:807-813.

Hastings MH, Herbert J, Martensz ND, Roberts AC. 1985. Annual reproductive rhythms in mammals: mechanisms of light synchronization. *Ann N Y Acad Sci.* 453:182-204.

Hawkins, L. 1992. Seasonal affective disorders: the effects of light on human behaviour. *Endeavour* 16(3):122-127.

Heimer, L. 1968. Synaptic distribution of centripetal and centrifugal nerve fibers in the olfactory system of the rat: An experimental anatomical study. *J. of Anatomy.* 103:413-432.

Hirata F, Hayaishi O, Tokuyama T, Seno S. 1974. In vitro and in vivo formation of two new metabolites of melatonin. *J Biol Chem.* 249(4):1311-3.

Huether, G., Poeggeler, B., Reimer, A., George, A. (1992). Effect of tryptophan administration on circulating melatonin levels in chicks and rats: evidence for stimulation of melatonin synthesis and release in the gastrointestinal tract. *Life Sci.* 51, 945-953.

Hull, E.M., Lumley, L.A., Matuszewich, L., Dominguez, J., Moses, J., Lorrain, D.S. 1994. The roles of nitric oxide in sexual function of male rats. *Neuropharmacology.* Nov;33(11):1499-504.

Johnson, M.A., Tsutsui, K., Fraley, G.S. 2007. Rat RFamide-related peptide-3 stimulates GH secretion, inhibits LH secretion, and has variable effects on sex behavior in the adult male rat. *Horm Behav.* 51(1):171-80.

Jung, I., Baulieu, E.E. 1972. Testosterone cytosol "receptor" in the rat levator ani muscle. *Nature-New Biology.* 237:24-6.

King, J.A., Millar, R.P. 1982. Structure of chicken hypothalamic luteinizing hormone-releasing hormone. I. Structural determination on partially purified material. *J Biol Chem.* 257(18):10722-8.

King, J.A., Millar, R.P. 1982. Structure of chicken hypothalamic luteinizing hormone-releasing hormone. II. Isolation and characterization. *J Biol Chem.* 257(18):10729-32.

Kitchell, R.L., Gilanpour, H., Johnson, R.D. 1982. Electrophysiologic studies of penile mechanoreceptors in the rat. *Experimental Neurology.* 75: 229-244.

Koyama T., Yamashita, I. 1992. Prog Biological markers of depression
Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 16(6):791-796.

Larsson, K., Swedin, G. 1971. The sexual behavior of male rats after bilateral section of the hipogastric nerve and removal of the accesory genital glands. *Phisiology and Behavior*. 6: 251-253.

Larsson, K. 1969. Failure of gonadal and gonadotropic hormones to compensate for impaired sexual function in anosmic male rats. *Physioloy and Behavior*. 4:733-737.

Larsson, K. 1979. Features of neuroendocrine regulation of masculine sexual behavior. En: *Endocrine Control of sexual behavior*, Beyer, C. ed.

Luttge, W.G. 1975. Stimulation of estrogen induced copulatory behavior in castrate male rats with the serotonin biosynthesis inhibitor P-chlorophenylalanine. *Behav Biol*. 14(3):373-8.

Luttge, W.G., Hall, N.R., Wallis, C.J., Campbell, J.C. 1975. Stimulation of male and female sexual behavior in gonadectomized rats with estrogen and androgen therapy and its inhibition with concurrent anti-hormone therapy. *Physiol Behav*. 14(1):65-73.

Malmnäs, C.O. 1973. Copulatory behavior in the male rat after impaired monoaminergic neurotransmission. *Acta Physiol Scand Suppl*. 400:69-95.

Malmnäs, C.O. 1973. Effects of LSD-25, clonidine and apomorphine on copulatory behavior in the male rat. *Acta Physiol Scand Suppl*. 400:96-116.

Malmnäs, C.O. 1973. Monoamine precursors and copulatory behavior in the male rat. *Acta Physiol Scand Suppl.* 400:47-68.

Malmnäs, C.O. 1973. Monoaminergic influence on testosterone-activated copulatory behavior in the castrated male rat. *Acta Physiol Scand Suppl.* 395:1-128.

Malmnäs, C.O. 1973. Testosterone-activated copulatory behavior in the castrated male rat. *Acta Physiol Scand Suppl.* 400:9-46.

Malpoux, B., Thiéry, J.C., Chemineau, P. 1999. Melatonin and the seasonal control of reproduction. *Reprod Nutr Dev.* 39(3):355-66.

Malpoux, B., 2006. En *Physiology of reproduction*(*Knobil,Ed. 2006*). Elsevier.

Markey S.; S. Higa; M. Shih; DN Danforth; Tamarkin, L. 1985. The correlation between human plasma melatonin levels and urinary 6-hydroxymelatonin excretion. *Clin Chem Acta Aug 30; 150 (3): 221-5.*

Martinez D, Lenz Mdo C, Menna-Barreto L. 2008. Diagnosis of circadian rhythm sleep disorders. *J Bras Pneumol.* 34(3):173-80

Matsuo H, Baba Y, Nair RM, Arimura A, Schally AV. 1971. Structure of the porcine LH- and FSH-releasing hormone. I. The proposed amino acid sequence. *Biochem Biophys Res Commun.* 43(6):1334-9

Maurizi, C.P. 1984. Disorder of the pineal gland associated with depression, peptic ulcers, and sexual dysfunction. *South Med J.* 77(12):1516-8.

Meissel, R., Sachs, B. 1994. The physiology of male sexual behavior. En Knobil, E.; Neil, J., eds. The physiology of reproduction. New York: Raven Press.

Mendlewicz J. 2009. Disruption of the circadian timing systems: molecular mechanisms in mood disorders. CNS Drugs. 23 Suppl 2:15-26.

Meyerson, B. J.; Malmnäs, C. O.; Everitt, B. J. 1985. Neuropharmacology, neurotransmitters, and sexual behavior in mammals. En *Handbook of behavioral neurobiology, vol.7 Reproduction* (Ed. N. Adler, D. Pfaff, R. W. Goy), pp. 495-536. Plenum Press, N.Y.

Miano S, Ferri R. 2010. Epidemiology and management of insomnia in children with autistic spectrum disorders. Paediatr Drugs;12(2):75-84.

Mirunalini S, Subramanian P. 2005. Temporal oscillations of thyroid hormones in long term melatonin treated rats. Pharmazie. 60(1):52-6.

Miyamoto, K., Hasegawa, Y., Minegishi, T., Nomura, M., Takahashi, Y., Igarashi, M., Kangawa, K., Matsuo, H. 1982. Isolation and characterization of chicken hypothalamic luteinizing hormone-releasing hormone. Biochem Biophys Res Commun. 107(3):820-7.

Morales-Otal, A. 2002. Efecto de la desmasculinización neonatal sobre la regulación de la conducta sexual en ratas macho adultas. Tesis doctoral, Universidad Autónoma Metropolitana.

Morales-Otal, A., Ferreira-Nuno, A., Velazquez-Moctezuma, J. 2002. Monoaminergic and cholinergic stimulation of masculine sexual behavior in neonatally demasculinized male rats. *Pharmacol Res.* 46(1):61-6.

Olivares, A.N., Valladares, L.E., Bustos-Obregon, E., Nunez, S.M. 1989. Testicular function of sexually immature rats chronically treated with melatonin. *Arch Biol Med Exp (Santiago)* 22(4):387-93.

Pacchierotti, C. 2001. Melatonin in Psychiatric Disorders: A Review on the Melatonin Involvement in Psychiatry *Frontiers in Neuroendocrinology*, 22(1):18-32.

Poon, A.M., Liu, Z.M., Pang, C.S., Brown, G.M., Pang, S.F. (1994). Evidence for a direct action of melatonin on the immune system. *Biol Signals.* 3(2):107-17.

Powers, J.B., Fields, R.B., Winnas, S.S. 1979. Olfactory and vomeronasal system participation in male hamsters' attraction to female vaginal secretions. *Physiology and Behavior.* 22: 77-84.

Price, J.L. 1973. An autoradiographic study of complementary laminar patterns of termination of afferent fibers to the olfactory cortex. *J Comp Neurol.* 150(1):87-108.

Ralph MR, Foster, RG, Davis FC, and Menaker, M. 1990. Transplanted suprachiasmatic nucleus determines circadian period. *Science* 247:975-978

Reiter, R.J., 1980. The Pineal gland: A regulator of regulators. *Progress on Psychobiol and physiol Psychol.* 9:323-355.

Reiter RJ. 1987 The melatonin message: duration versus coincidence hypotheses. *Life Sci* 40:2119–2131.

Reiter, R.J. 1991. Pineal Melatonin: Cell biology of its synthesis and its physiological interactions. *Endocr Rev*, 12, 151-80.

Reiter, R.J.1993. Interactions of the pineal hormone melatonin with oxygen-centered free radicals: a brief review. *Braz J Med Biol Res* 26(11),1141-55.

Reiter RJ, Tan DX, Osuna C, and Gitto E 2000. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. A Review. *J Biomed Sci* 7:444–458.

Rennie K, De Butte M, Pappas BA.2009. Melatonin promotes neurogenesis in dentate gyrus in the pinealectomized rat. *J Pineal Res*. Nov;47(4):313-7. Epub Oct 1
Epub Oct 1

Retana.Márquez, S., Velázquez-Moctezuma, J. 1997. Cholinergic-Androgenic Interaction in the Regulation of Male Sexual Behavior in Rats. *J. Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 56(3):373-378.

Retana-Marquez, S., Salazar, E.D., Velazquez-Moctezuma, J. 1993. Muscarinic and nicotinic influences on masculine sexual behavior in rats: effects of oxotremorine, scopolamine, and nicotine. *Pharmacol Biochem Behav*. 44(4):913-7.

Revel, F.G., Saboureau, M., Pévet, P., Simonneaux, V., Mikkelsen, J.D. 2008. RFamide-related peptide gene is a melatonin-driven photoperiodic gene. *Endocrinology*. 149(3):902-12.

Rubbel, PK; Reiter, R.J. 1980. Influence of a skeleton photoperiod on reproductive organ atrophy in male golden hamster. *J Reprod Fertil*, Nov;60(2):279-83.

Saarela, S., Reiter, R.J. 1994. Function of melatonin in thermoregulatory processes. *Life Sci* 54(5):295-311.

Sachs, B.D. 1982. Role of striated penile muscles in penile reflexes, copulation, and induction of pregnancy in the rat. *J Reprod Fertil*. 66(2):433-43.

Sandyk, R. 1992. The pineal gland and the menstrual cycle. *Int J Neurosci* 63(3-4):197-204.

Sandyk, R., Anastasiadis, P.G., Anninos, P.A., Tsagas, N. 1992a. Is the pineal gland involved in the pathogenesis of endometrial carcinoma. *Int J Neurosci*. 62(1-2):89-96.

Sandyk, R., Anastasiadis, P.G., Anninos, P.A., Tsagas, N. 1992b. Is postmenopausal osteoporosis related to pineal gland functions? *N Int J Neurosci*. 62(3-4):215-25.

Sandyk R. 1992c. The pineal gland and the menstrual cycle. *Int J Neurosci*. 63(3-4):197-204

Sandyk, R., Awerbuch, G.I. 1993. Nocturnal melatonin secretion in multiple sclerosis patients with affective disorders. *Int J Neurosci*. 68(3-4):227-40.

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

Schillo, J. K.K., Hall, J.B., Hileman, S.M. 1992. Effects of nutrition and season on the onset of puberty in the beef heifer. *Anim Sci.* 70(12):3994-4005.

Sherwood NM, Sower SA, Marshak DR, Fraser BA, Brownstein MJ. 1986. Primary structure of gonadotropin-releasing hormone from lamprey brain. *J Biol Chem.* 986 Apr 15;261(11):4812-9.

Sherwood N, Eiden L, Brownstein M, Spiess J, Rivier J, Vale W. 1983. Characterization of a teleost gonadotropin-releasing hormone. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 80(9):2794-8.

Shillito, E.E. 1970. The effect of parachlorophenylalanine on social interaction of male rats. *Br J Pharmacol.* 38(2):305-15

Simonneaux, V., Ribelayga, 2003. C. Generation of the Melatonin Endocrine Message in Mammals: A Review of the Complex Regulation of Melatonin Synthesis by Norepinephrine, Peptides, and Other Pineal Transmitters. *Pharmacol Rev* 55:325–395.

Silman, R. 1991. Melatonin and the human gonadotrophin-releasing hormone pulse generator. *J Endocrinol* 128(1):7-11.

Srinivasan V, Smits M, Spence W, Lowe AD, Kayumov L, Pandi-Perumal SR, Parry B, Cardinali DP. 2006. Melatonin in mood disorders. *World J Biol Psychiatry*. 7(3):138-51.

Stevens, R.G., Davis, S. Thomas, D.B. Anderson, L.E. Wilson, B.W. 1992. Electric power, pineal function, and the risk of breast cancer. *FASEB J*. 6(3):853-60.

Swedin, G. 1971. Studies on neurotransmission mechanisms in the rat and guinea-pig vas deferens. *Acta Physiol Scand Suppl*. 369:1-34.

Tagliamonte, A., Fratta, W., Del Fiacco, M., Gessa, G.L. 1974. Possible stimulatory role of brain dopamine in the copulatory behavior of male rats..*Pharmacol Biochem Behav*. 2(2):257-60.

Tagliamonte, A., Fratta, W., Gessa, G.L. 1974. Aphrodisiac effect of L-DOPA and apomorphine in male sexually sluggish rats. *Experientia*. 30(4):381-2.

Tamarkin L., Baird, C.J., Almeida, O.F. 1985. Melatonin: a coordinating signal for mammalian reproduction?.*Science*. .227(4688):714-20.

Tarzia G, Diamantini G, Spadoni G. 1999. Indole melatonin agonists and antagonists derived by shifting the melatonin side chain from the C-3 to the N-1 or to the C-2 indole position. *Biol Signals Recept*. 8(1-2):24-31.

Tijmes, M.; Pedraza, R.; Valladares, L. 1996. Melatonin in the rat testis: evidence for local synthesis. *Steroids* 61: 65-68.

Toglia, J.U. 1986. Is migraine due to a deficiency of pineal melatonin? *Ital J Neurol Sci.* 7(3):319-23.

Tsutsui K, Ukena K, Usui M, Sakamoto H, Takase M. 2000a. Novel brain function: biosynthesis and actions of neurosteroids in neurons. *Neurosci Res.* 6(4):261-73.

Tsutsui, K., Saigoh, E., Ukena, K., Teranishi, H., Fujisawa, Y., Kikuchi, M., Ishii, S., Sharp, P.J. 2000b. A novel avian hypothalamic peptide inhibiting gonadotropin release. *Biochem Biophys Res Commun.* 275(2):661-7.

Tsutsui, K. 2009a. A new key neurohormone controlling reproduction, gonadotropin inhibitory hormone (GnIH): Biosynthesis, mode of action and functional significance. *Prog Neurobiol.* 88(1):76-88.

Tsutsui K, Saigoh E, Yin H, Ubuka T, Chowdhury VS, Osugi T, Ukena K, Sharp PJ, Wingfield JC, Bentley GE. 2009b. A new key neurohormone controlling reproduction, gonadotrophin-inhibitory hormone in birds: discovery, progress and prospects. *J Neuroendocrinol.* 21(4):271-5.

Tsutsui, K. Bentley, G. E., Bedecarrats, G., Osugi, T., Ubuka, T., Kriegsfeld, L. 2010. Gonadotropin-inhibitory hormone (GnIH) and its control of central and peripheral reproductive function. *Front Neuroendocrinol.* Mar 4

Turek, F., McMillan, J., Menaker, M. 1976. Melatonin: effects on the circadian locomotor rhythm of sparrows. *Science* 194:1441-1443.

Ubuka, T., Kim, S., Huang, Y.C., Reid, J., Jiang, J., Osugi, T., Chowdhury, V.S., Tsutsui, K., Bentley, G.E. 2008. Gonadotropin-inhibitory hormone neurons interact directly with gonadotropin-releasing hormone-I and -II neurons in European starling brain. *Endocrinology*. 149(1):268-78. Erratum in: *Endocrinology*. 149(8):4229.

Warren WS, Cassone VM. 1995. The pineal gland: photoreception and coupling of behavioral, metabolic, and cardiovascular circadian outputs. *J Biol Rhythms*. 10(1):64-79.

Weissbluth, L., Weissbluth, M. 1992. Infant colic: the effect of serotonin and melatonin circadian rhythms on the intestinal smooth muscle. *Med Hypotheses*. 39(2):164-7.

Wysocki, C.J., 1979. Neurobehavioral evidence for the involvement of the vomeronasal system in mammalian reproduction. *Neurosci Biobehav Rev*. 3(4):301-41

Yamada, K., Maruyama, K., Mogami, S., Miyagawa, N. and Tsuboi, M. 1992. Influence of melatonin on reproductive behavior in male rats. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* 40:2222–2223.