



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

**Analgesia copulatoria en machos de
distinto fenotipo eyaculatorio**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

Carlos Edmundo Aguilar Pérez

Co-directores de tesis

Dra. Rosa Angélica Lucio Lucio

Dr. Porfirio Gómora Arrati

Tlaxcala, Tlax.

Enero 2021



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

**Analgesia copulatoria en machos de
distinto fenotipo eyaculatorio**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

Carlos Edmundo Aguilar Pérez

Comité Tutorial

Dra. Rosa Angélica Lucio Lucio

Dr. Porfirio Gómora Arrati

Dr. Óscar González Flores

Dr. Julio César Morales Medina

Tlaxcala, Tlax.

Enero 2021

*“Casi todos piensan que una mente brillante
es la principal cualidad de un buen científico.*

No están en lo cierto: es su actitud”

-Albert Einstein-

El trabajo se realizó bajo la dirección de los Dres. Rosa Angélica Lucio y Porfirio Gómora Arrati. Se tuvo la asesoría de los Dres. Óscar González Flores y Julio César Morales Medina durante todo el trabajo.

Los experimentos se realizaron en el Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta de la Universidad Autónoma de Tlaxcala (UATx) y en el Centro de Investigación en Reproducción Animal Dr. Carlos Beyer Flores CINVESTAV-UATx.

El presente trabajo tuvo financiamiento parcial del Proyecto-CONACYT 1134291 (OGF) y PROMEP/103.5/09/1294. Además, de una beca del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT; CEAP, 434575).

El Doctorado en Ciencias Biológicas está registrado en el Programa Nacional de Posgrados de CONACYT (PNPC-CONACyT).

COORDINACIÓN DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA
PRESENTE

Los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del proyecto de tesis que **Carlos Edmundo Aguilar Pérez** realiza para la obtención del grado de **Doctor en Ciencias Biológicas**, expresamos que, habiendo revisado la versión final del documento de tesis, damos la aprobación para que ésta sea impresa y defendida en el examen correspondiente. El título que llevará es **“Analgésia copulatoria en machos de distinto fenotipo eyaculatorio”**.

Sin otro particular, aprovechamos para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
TLAXCALA, TLAX., ENERO 5 DE 2021



DR. OSCAR GONZÁLEZ FLORES



DR. JULIO CÉSAR MORALES MEDINA



DRA. YOLANDA CRUZ GÓMEZ



DR. RENÉ ZEMPOALTECA RAMÍREZ



DR. MARCOS GARCÍA JUÁREZ



**Universidad
Autónoma de
Tlaxcala**

*Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta
Secretaría de Investigación Científica y Posgrado
Coordinación de la División de Ciencias Biológicas*

**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
COMITÉ ACADÉMICO**

Estimados Miembros del Comité Académico:

Sirva este medio para hacer constar que después de la revisión por el Comité de Grado, la Tesis Doctoral “Analgesia copulatoria en machos de distinto fenotipo eyaculatorio” se sometió al Programa Turnitin. El resultado con fecha de 15 de Diciembre del 2020 evidenció 2% de similitud total, excluyendo la sección de referencias. Se trata de un porcentaje aceptable para este tipo de documentos. De este modo, se confirma que no se incurrió en ninguna práctica no deseable en la escritura de la mencionada Tesis del C. Carlos Edmundo Aguilar Pérez.

Sin más por el momento, reciban atentos saludos.

CORDIALMENTE
TLAXCALA, TLAX., A 8 DE ENERO DE 2021.

DRA. ROSA ANGÉLICA LUCIO
CO-DIRECTORA DE TESIS



Sistema Institucional de Gestión de la Calidad Certificado bajo la Norma:
ISO 9001:2015-NMX-CC-9001-IMNC-2015



AGRADECIMIENTOS

Al Posgrado en Ciencias Biológicas, del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta de la Universidad Autónoma de Tlaxcala de la Universidad Autónoma de Tlaxcala (UATx) por permitirme estudiar el Doctorado en Ciencias Biológicas.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por otorgar la beca #434575 (CEAP).

A CONACyT por el apoyo parcial con el proyecto CONACYT 1134291 (OGF)

Al Programa del Mejoramiento del Profesorado (PROMEP) por el apoyo parcial con el proyecto PROMEP/103.5/09/1294.

A mis codirectores de tesis Dres. Rosa Angélica Lucio y Porfirio Gómora Arrati, por su paciencia y apoyo a nivel profesional y personal. Su ayuda me ayudó a mejorar significativamente mi formación académica, muchas gracias.

A los Dres. Óscar González Flores y Julio César Morales Medina, por sus consejos y observaciones que contribuyeron a mejorar el proyecto.

A los Dres. Yolanda Cruz Gómez, René Zempoalteca Ramírez y Marcos García Juárez por su apoyo, observaciones y consejos que ayudaron en mi formación profesional. Así como por haber aceptado formar parte del jurado evaluador.

Al Dr. Ángel I Melo Salazar, por sus consejos personales y profesionales. Así como por la proporción de algunos sujetos experimentales que fueron fundamentales para concluir el proyecto.

Al Dr. Agustín, por su apoyo en el cuidado de mis animales cuando presentaron problemas de salud.

A mis compañeras de laboratorio por la buena convivencia y por compartirme sus conocimientos.

A Lupita, donde sea que se encuentre, gracias por sus palabras de aliento y apoyo moral ...

A mi novia Karla por su apoyo absoluto, paciencia y comprensión en todo momento, muchas gracias.

Principalmente, el agradecimiento a mi familia por todo lo que me han apoyado.

Dedico esta tesis a mi familia por
su apoyo incondicional y constante
en todo objetivo que me he planteado

RESUMEN

La analgesia definida como la ausencia de la percepción al dolor, puede deberse, entre otras causas a la cópula. Dicha analgesia se mantiene hasta por 60 minutos después del apareamiento en las ratas macho. Estos individuos presentan diferentes fenotipos eyaculatorios: rápido, intermedio o lento según la duración de sus latencias eyaculatorias (200-400, 700-900, 1200-1400 segundos, respectivamente). Además, de las diferencias en las latencias eyaculatorias, otros parámetros copulatorios también difieren. La conducta copulatoria como la analgesia son reguladas por neurotransmisores y estructuras nerviosas comunes. Así, podría suponerse que los eyaculadores rápidos tendrían mayor analgesia inducida por la cópula que los machos intermedios y lentos. Se utilizaron ratas macho Wistar con identificados como eyaculadores rápidos, intermedios y lentos para determinar si la analgesia copulatoria es distinta dependiendo del fenotipo eyaculatorio. En el experimento 1 se determinó la respuesta del Umbral de Vocalización al Choque Eléctrico a la cola (UVCE) durante las series eyaculatorias 1 y 2 (SE1, SE2) y en los intervalos post-eyaculatorios 1 y 2 (IPE1, IPE2). Al mismo tiempo, se registraron los parámetros copulatorios convencionales. En los experimentos 2 y 3 se evaluó el UVCE antes y a los 0, 5, 20 y 60 minutos posteriores al despliegue de cinco intromisiones o una eyaculación. Se encontró que los eyaculadores rápidos e intermedios presentaron mayor UVCE que los lentos en la SE1, SE2 e IPE2 ($p < 0.05$). Así mismo, los eyaculadores rápidos mostraron mayor UVCE que los intermedios en la SE1 ($p < 0.05$). Además, los machos rápidos presentaron el menor número de intromisiones, menor intervalo inter-intromisión (III) y menor latencia de eyaculación (LE) que los otros fenotipos en la SE1. En la SE2, los machos rápidos e intermedios mostraron menor III y LE que los machos lentos ($p < 0.05$). En el experimento 2 no se encontraron diferencias significativas en el UVCE entre los fenotipos eyaculatorios. En el experimento, 3 los machos rápidos mostraron mayor UVCE a los 5 y 20 minutos respecto a los machos lentos ($p < 0.05$). Además, los machos rápidos mostraron menor III y LE que los demás fenotipos eyaculatorios ($p < 0.05$), siendo los machos lentos los de mayor III y LE. Se concluye que la intensidad de analgesia copulatoria está relacionada con las características de la ejecución copulatoria en las ratas macho. Los hallazgos evidencian que a mayor actividad copulatoria, i.e., a mayor número de intromisiones por unidad de tiempo mayor es la analgesia producida. Esto podría deberse en parte a la liberación de neurotransmisores de 5-HT, opioides, oxitocina y GABA en las estructuras nerviosas implicadas en la cópula y analgesia, así como a una mayor densidad de los receptores correspondientes. Evolutivamente, la analgesia copulatoria de los machos rápidos podría proporcionar una ventaja adaptativa al reducir la sensación aversiva del pene, permitiendo así un mayor número de series eyaculatorias por unidad de tiempo.

ABSTRACT

Analgesia defined as the absence of pain perception, may be due among other causes to copulatory behavior. This analgesia is maintained for up to 60 minutes after mating in male rats. These individuals have different ejaculatory endophenotypes: rapid, intermediate or sluggish depending on the duration of their ejaculatory latencies (200-400, 700-900, 1200-1400 seconds, respectively). Besides the differences in ejaculatory latencies other copulatory parameters also differ. Copulatory behavior and analgesia are regulated by common neurotransmitters and neural structures. Thus, it could be assumed that rapid ejaculators would have greater analgesia induced by copulation than intermediate and sluggish males. Male Wistar rats identified as rapid, intermediate and sluggish ejaculators were used to determine if copulatory analgesia be unlike depending on the ejaculatory endophenotype. In experiment 1, the response of the Vocalization Threshold to Electric Shock to the tail (VTTS) was determined during the ejaculatory series 1 and 2 (ES1, ES2), and in the post-ejaculatory intervals 1 and 2 (PEI1, PEI2). At the same time, the conventional copulatory parameters were recorded. In experiments 2 and 3, VTTS was evaluated before and at 0, 5, 20 and 60 minutes after the execution of five intromissions or one ejaculation. It was found that the rapid and intermediate ejaculators presented higher VTTS than the sluggish ones in ES1, ES2 and PEI2 ($p < 0.05$). Likewise, the rapid ejaculators showed higher VTTS than the intermediate ones in ES1 ($p < 0.05$). In addition, rapid males had the lowest number of intromissions, shorter inter-intromission interval (III), and shorter ejaculation latency (EL) than the other endophenotypes in ES1. In ES2 the rapid and intermediate males showed shorter III and EL than the sluggish males ($p < 0.05$). In experiment 2 no significant differences were found in the VTTS among the ejaculatory endophenotypes. In experiment 3, rapid males showed higher VTTS at 5 and 20 minutes compared to sluggish males ($p < 0.05$). In addition, the rapid males showed shorter III and EL than the other ejaculatory endophenotypes ($p < 0.05$), being the sluggish males those with the highest III and EL. It is concluded that the intensity of copulatory analgesia is related to the characteristics of copulatory performance in male rats. This could be due in part to neurotransmitter release of 5-HT, opioids, oxytocin, and GABA in the neural structures involve in copulation and analgesia, and/or due to a higher density of the corresponding receptors. Evolutionarily, copulatory analgesia of rapid males could provide an adaptive advantage by reducing aversive penile sensation, thereby enabling a higher number of ejaculatory series per unit time.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Biología del dolor.....	1
1.1.1. Control central del dolor.....	6
1.1.2. Neuroquímica del dolor.....	7
1.1.3. Hiperalgesia.....	11
1.2. Vocalizaciones en la rata.....	12
1.3. Conducta copulatoria masculina.....	13
1.3.1. Eyacuación, función sexual con la que finaliza la cópula.....	16
1.3.2. Vías sensoriales del pene.....	17
1.3.3. Control nervioso de la erección y eyacuación.....	18
2. ANTECEDENTES	21
2.1. Analgesia inducida por la cópula	21
2.2. Fenotipos eyaculatorios en ratas	25
3. JUSTIFICACIÓN	28
4. HIPÓTESIS.....	28
5. OBJETIVO GENERAL	29
6. OBJETIVOS PARTICULARES	29
7. METODOLOGÍA	30
7.1. Animales	30
7.2. Pruebas copulatorias de entrenamiento sexual	30
7.3. Evaluación del UVCE	30
7.4. Diseño experimental.....	32
7.4.1. Experimento 1. Efecto del fenotipo eyaculatorio sobre el UVCE durante dos series eyaculatorias y en sus respectivos intervalos post-eyaculatorios	34
7.4.2. Experimento 2. UVCE a los 0, 5, 20 y 60 minutos después de 5 intromisiones, en machos de diferente fenotipo eyaculatorio	35
7.4.3. Experimento 3. UVCE a los 0, 5, 20 y 60 minutos después de la eyacuación, en machos de diferente fenotipo eyaculatorio	35
7.4.4. Análisis estadístico	37

8. RESULTADOS.....	38
8.1. Pruebas copulatorias de entrenamiento sexual	38
8.2. Experimento 1. Efecto del fenotipo eyaculatorio sobre el UVCE durante dos series eyaculatorias y en sus respectivos intervalos post-eyaculatorios	40
8.3. Experimento 2: UVCE después de 5 intromisiones, en machos de diferente fenotipo eyaculatorio	46
8.4. Experimento 3: UVCE después de 1 eyaculación, en machos de diferente fenotipo eyaculatorio	50
9. DISCUSIÓN	55
9.1. Experimento 1. Efecto del fenotipo eyaculatorio sobre el UVCE durante dos series eyaculatorias y en sus respectivos intervalos post-eyaculatorios	55
9.2. Experimento 2: UVCE después de 5 intromisiones, en machos de diferente fenotipo eyaculatorio	59
9.3. Experimento 3: UVCE después de 1 eyaculación, en machos de diferente fenotipo eyaculatorio	61
10. CONCLUSIONES	64
11. PERSPECTIVAS	64
12. REFERENCIAS	66
13. ANEXOS	80
14. PUBLICACIONES	96

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Biología del dolor

El dolor se define como “Una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada o similar a la asociada con daño tisular real o potencial” para alertar y proteger al individuo (Raja y cols. 2020). Es producido por procesos que dañan o son capaces de dañar los tejidos. Tiene la función de alertar sobre la existencia de una lesión que debe ser evitada o tratada (Kandel 2001).

El dolor puede clasificarse como agudo o crónico: El dolor agudo, es la consecuencia inmediata de la activación de los sistemas nociceptores por estimulación química, mecánica o térmica. Tiene la función de proteger al individuo. El dolor crónico, no posee una función de protección, es persistente puede perpetuarse por tiempo prolongado después de una lesión, e incluso en ausencia de la misma (Pedrajas y Molino 2008).

La intensidad mínima de un estímulo que provoca la sensación de dolor se conoce como umbral al dolor y puede variar de menor a mayor intensidad dependiendo del estado físico y psicológico del individuo (Parhizgar y Ekhtiari 2010, Kandel 2001). La transmisión de los estímulos dolorosos desde el sistema nervioso periférico hacia el sistema nervioso central se divide en 4 fases; transducción, transmisión, modulación y percepción.

Neuroanatomía del dolor

Transducción: Los nociceptores son las terminaciones nerviosas libres de las neuronas sensoriales que responden a los estímulos nocivos (Belmonte 1996, López-Antúnez 1997). Los nociceptores se encuentran en distintas partes del cuerpo, tanto en tejidos externos como internos (López-Antúnez 1997).

Se clasifican según el tipo de fibra que los constituye. Por ejemplo, los receptores A- δ y C corresponden a las fibras A- δ mielínicas (con 3-8 μ m de diámetro) y las fibras C (con 0.2-1.5 μ m de diámetro) son amielínicas, cuya velocidad de conducción es 10-30 metros/segundo y 0.5-2.3 metros/segundo, respectivamente. Ambos tipos de nociceptores se encuentran distribuidos de

manera profusa en el cuerpo, aunque, a nivel visceral predominan los receptores de tipo C. Los nociceptores transforman los estímulos mecánicos, químicos o térmicos relacionados con el daño de tejido a un potencial de acción, lo que se conoce como transducción (Kiernan y Rajakumar 2014).

Transmisión: Esta fase se produce cuando se activa al nociceptor, situados en la parte periférica del axón de una neurona sensorial (cuyo somas se localizan en los ganglios de la raíz dorsal de la médula espinal), generando así un potencial de acción, que es transmitido hacia la médula espinal.

La médula espinal presenta segmentos que se encuentran delimitados por un par de nervios espinales. Por consiguiente, existe el mismo número de segmentos que pares de nervios, por ejemplo en el humano son: 7 cervicales, 12 torácicos, 5 lumbares, 5 y 1 coxígeo en el humano sacros (López-Antúnez 1997). En la rara son: 7 cervicales, 13 torácico, 6 lumbares, 4 sacros y 25 coxígeos (Popesko y cols. 1992). Por otro lado, en un corte transversal de médula espinal se puede observar dos distintos aspectos: en el centro, de color pardo se halla la sustancia gris y en la periferia se observa la sustancia blanca. La sustancia blanca forma los llamados cordones medulares: ventrales, laterales y dorsales (López-Antúnez 1997); mientras que, en la sustancia gris se distinguen diez regiones designadas con números romanos conocidas como láminas de Rexed (Rexed 1952). La numeración inicia en la punta del asta dorsal y continúa hacia el asta ventral. Las láminas I-VI forman el asta dorsal de la médula espinal y que están relacionadas con la integración de la sensación dolorosa.

Las fibras A- δ transmiten estímulos nocivos mecánicos y térmicos: mientras que las fibras C, todos los tipos de estímulos nocivos (López-Antúnez 1997, Kandel y cols. 2001, Kiernan y Rajakumar 2014). Así mismo, las fibras sensoriales A- δ y C ingresan a la médula espinal a través de las raíces dorsales y terminando en la sustancia gris del asta posterior, llegando así a las láminas de Rexed I, II y V (Basbaum y cols. 2009). A su vez, estas neuronas sensoriales, hacen sinapsis con motoneuronas de la lámina IX las cuales inervan a algún órgano efector. Además, esas fibras pueden hacer sinapsis con neuronas que envían el impulso nervioso ipsi o

contralateralmente hacia estructuras supraespinales a través de sus axones, neuronas que han sido llamadas como de segundo orden, y son las que constituyen principalmente las vías ascendentes (ver más adelante).

A pesar de que las fibras A- δ y C participan en la determinación de la localización e intensidad de los estímulos nocivos, requieren de la activación de las fibras A- β (30-80 metros/segundos de velocidad de conducción), las cuales no son nociceptivas, para que se produzca una percepción apropiada del dolor. De hecho, el bloqueo de la función de las fibras A- β se transduce en un dolor quemante y no localizable, independientemente de haber recibido un estímulo producido por un pinchazo, un pellizco o la aplicación de un trozo de hielo (Kandel y cols. 2001).

Modulación: En la médula espinal se modula la propagación de las señales nociceptivas provenientes de la periferia (Cervero 1986). Esta modulación resulta de procesos excitatorios e inhibitorios. Por ejemplo: en el proceso excitatorio, las fibras nerviosas transmiten el estímulo nocivo y liberan **neurotransmisores excitatorios como:** glutamato, aspartato y los péptidos como: la sustancia P, el péptido relacionado con el gen de la calcitonina o glutamato (Wimalawansa 1996, De Felipe y cols. 1998, Fundytus 2001). Durante un proceso inhibitorio se liberan **neurotransmisores inhibitorios como:** ácido gamma-aminobutírico, serotonina, glicina, dopamina u opioides, cuya función es inhibir total o parcialmente la información sensorial de acuerdo con el tipo de estímulo (nocivo o no-nocivo). Además, en la lámina II se localizan interneuronas que cuando llega un impulso nocivo de bajo umbral liberan ácido gamma-aminobutírico o glicina al espacio sináptico; por lo que, estos neurotransmisores se unen a los canales iónicos de la membrana postsináptica, facilitando el flujo del ion Cl⁻ hacia el espacio intracelular, y así disminuyendo el potencial de membrana de -60 a -90 mV generando que se produzca la hiperpolarización, es decir un aumento de las cargas negativas en el interior de la membrana de la neurona, suprimiendo o disminuyendo la actividad excitatoria de las neuronas presinápticas (Zafra y cols. 1997, Villarejo-Díaz y cols. 2000, Legendre 2001, Flórez y cols. 2008).

Percepción: La información nociceptiva es transmitida a la médula espinal en la sustancia gris, donde ocurren sinapsis con interneuronas o directamente con neuronas que proyectan al encéfalo a través de cinco vías ascendentes: los tractos espino-talámico, espino-reticular, espino-mesencefálico, cervico-talámico y espino-hipotalámico (Kandel y cols. 2001). El tracto espino-talámico comprende axones de las fibras nociceptivas de las láminas I, V y VII del asta dorsal de la médula espinal. Estos axones se proyectan al lado contralateral de la médula espinal y ascienden por el cordón ventral de la sustancia blanca formando el **tracto espino-talámico**, para terminar en el tálamo. El haz **espino-reticular** está formado por fibras nociceptivas de las láminas VII y VIII del asta ventral y fibras nociceptivas de la lámina I del asta dorsal. Esta vía asciende por el cordón ventral de la sustancia blanca **formando el tracto espino-reticular** en donde hace relevo en la formación reticular para terminar en el tálamo. Son tres núcleos tálamicos involucrados con el dolor: a) el núcleo posterior del tálamo, implicado en la identificación de estímulos nocivos, b) el núcleo ventroposterolateral, el cual se encarga de la localización del sitio en el que se aplicó el estímulo doloroso, c) el núcleo ventroposteromedial, que comprende el componente afectivo siendo el productor de la estimulación nociva (Kiernan y Rajakumar 2014). El tálamo transmite la información hacia la corteza cerebral, generando así la percepción sensorial consciente del dolor. Estas dos vías ascendentes son las más representativas (López-Antúnez 1997, Kandel 2001; Figura 1). Las neuronas de la corteza cerebral somatosensorial primaria y la corteza insular responden de manera selectiva a las señales nociceptivas (López-Antúnez 1997, Kandel 2001, Apkarian y cols. 2005).

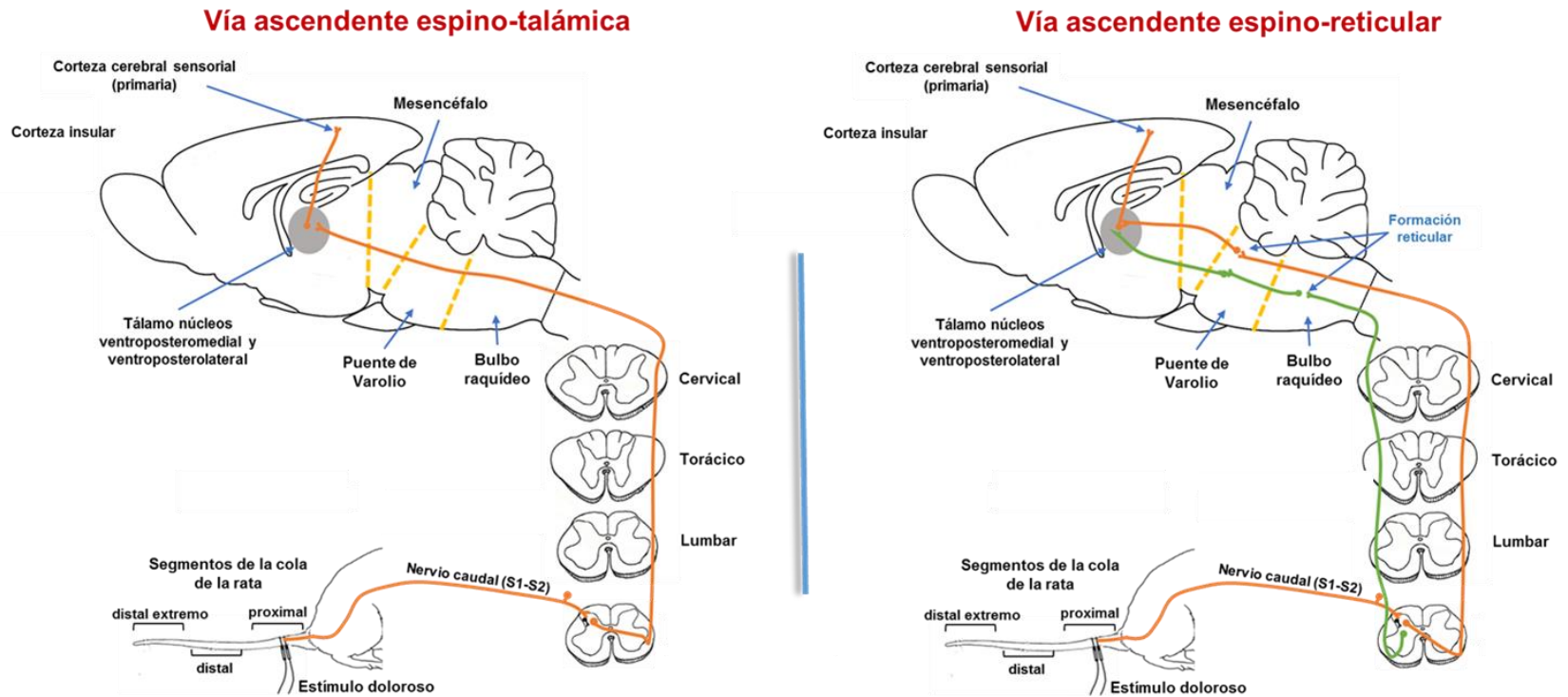


Figura 1. Vías ascendentes. **A.** Tracto espino-talámico, **B.** Tracto espino-reticular (modificada de Kiernan y Rajakumar 2014). Esquematización de la estimulación nociva de la parte proximal de la cola de una rata (modificado de Hebel 1986, Schaumburg y cols. 2010).

1.1.1. Control central del dolor

La analgesia se define como “la ausencia de dolor en respuesta a una estimulación que es percibida normalmente como dolorosa” (International Association for the Study of Pain 1986). Los organismos tienen la capacidad de suprimir el dolor al liberar neurotransmisores inhibitorios como: ácido gamma-aminobutírico, glicina, dopamina y serotonina, o péptidos como las endorfinas (Basbaum y cols. 2009).

Así, las vías descendentes, cortico-espinal y rafe-espinal, modifican la actividad de las vías ascendentes nociceptivas y son importantes para modular las respuestas conscientes y reflejas de los estímulos nocivos (Kiernan y Rajakumar 2014). Por otro lado, **la vía cortico-espinal** tiene origen en el lóbulo parietal y finaliza en el asta dorsal (Figura 2) mientras que **la vía del rafe-espinal** surge de neuronas de los núcleos del rafe de la formación reticular del bulbo raquídeo, principalmente del núcleo magno del rafe. Los axones de este haz son amielínicos y atraviesan la parte dorsal del cordón lateral de la médula espinal (Figura 2), liberando serotonina en las láminas I, II y V (Kiernan y Rajakumar 2014, Kandel y cols. 2001). La lámina II, de la médula espinal, presenta la mayor densidad de terminales sinápticas que contienen serotonina. El núcleo magno del rafe, a su vez, recibe influencia de las fibras descendentes que proceden de la sustancia gris periacueductal del mesencéfalo (Kiernan y Rajakumar 2014).

Vías descendentes inhibitorias

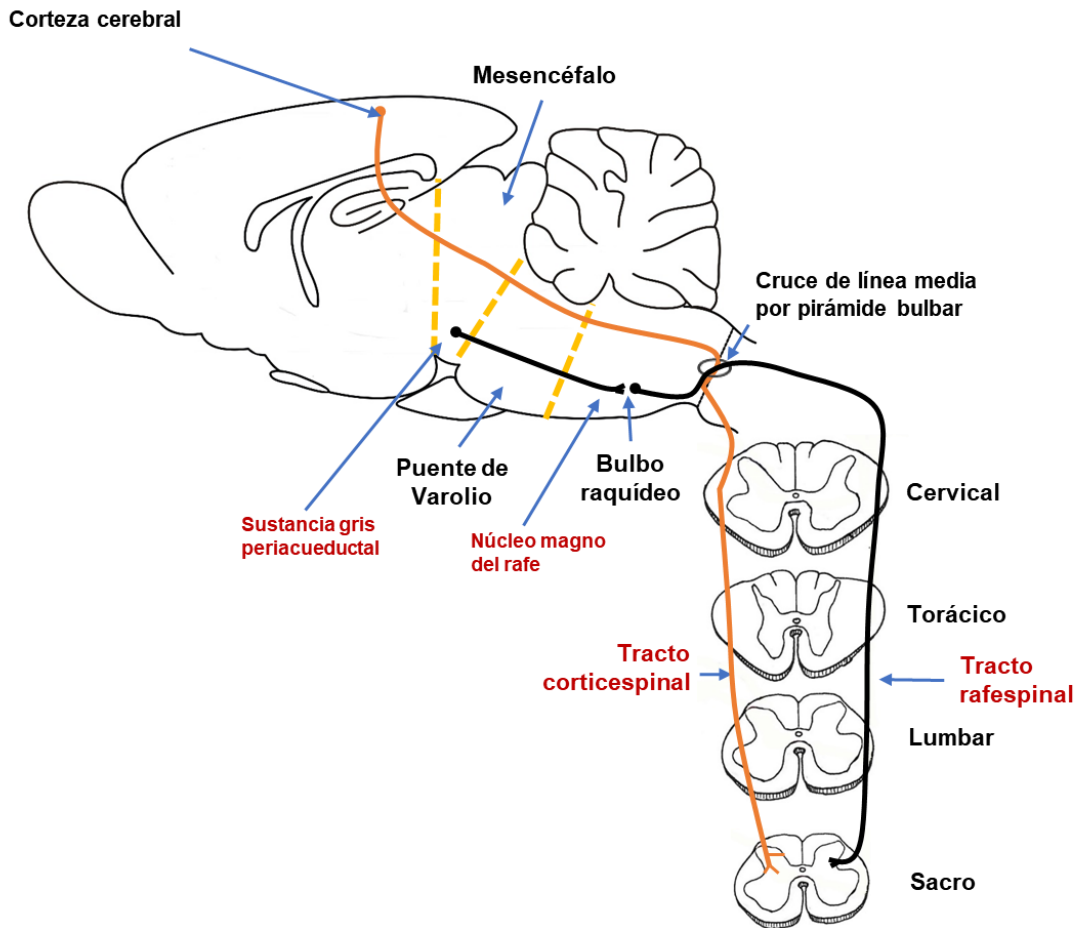


Figura 2. Esquema de las vías descendentes cortico-espinal, resaltado en color naranja y rafe-espinal, resaltado en color negro (modificada de Kiernan y Rajakumar 2014).

1.1.2. Neuroquímica del dolor

Neurotransmisores excitatorios

Glutamato: El glutamato es un aminoácido no esencial que se encuentra en todo el cerebro, la médula espinal y en el sistema nervioso periférico con funciones excitatorias. El glutamato es liberado en respuesta a la estimulación nociceptiva y cuando existe una lesión del tejido o nervios, por lo que se le ha relacionado con la transmisión de los estímulos nocivos (Johnson 1978, Sluka y cols. 1998, Omote y cols. 1998, Fundytus 2001).

La transmisión de los estímulos nocivos esta mediada principalmente por sus receptores ionotrópicos (AMPA, NMDA y kaínicos), y en menor medida por los receptores metabotrópicos (Neira y Ortega 2004). Por lo tanto, una amplia cantidad de estudios señalan la participación de glutamato en la transmisión del dolor en la rata. Así, la inhibición del glutamato a través de la administración intratecal de lamotrigina (bloqueador de canales de sodio que inhibe la liberación de glutamato), atenúa la hiperalgesia debida a la inflamación previamente inducida en la extremidad anterior de la rata (Klamt 1998). Además, la inyección de glutamato en la cavidad de la articulación de la rodilla, induce hiperalgesia (Lawand y cols. 1997) mientras que la estimulación eléctrica de las fibras sensoriales A- δ y C induce la liberación de glutamato en la médula espinal (Kangra y Randic 1991).

Péptidos excitatorios

Sustancia P: La sustancia P es un péptido de 11 aminoácidos de cadena corta el cual pertenece a la familia de las taquicinas (Barbosa-Cobos y cols. 2005, Zhang y cols. 2006, O'Connor y cols. 2014). Esta sustancia es principalmente sintetizada en el cuerpo celular de las fibras nociceptivas y es liberada en la médula espinal por la activación de las terminales nociceptivas, que provocan su unión con el receptor metabotrópico neurocinina-1 (Hershey y Krause 1990, Richardson y Vasko 2002).

La sustancia P es un potente vasodilatador que al incrementar la permeabilidad capilar desencadena la inflamación del tejido así como la hipersensibilidad de diferentes órganos, un proceso denominado como inflamación neurogénica (De Felipe y cols. 1998, Richardson y Vasko 2002). La estimulación periférica intensa provoca la liberación de la sustancia P en la médula espinal, promoviendo la hiper-excitabilidad central y una mayor sensibilidad al dolor (Hershey y Krause 1990, De Felipe y cols. 1998).

Ratones genéticamente modificados (quienes se les han eliminado el gen que codifica la síntesis y producción del receptor neurocinina-1), presentan menor analgesia ante estímulos nocivos

crónicos con respecto a los ratones intactos. Esto indica que la sustancia P participa en la analgesia inducida por el estrés (De Felipe y cols. 1998).

Péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP): El CGRP es un péptido de 37 aminoácidos localizado en fibras sensoriales A- δ y C. Es importante en la regulación del tanto en el sistema cardiovascular así como en la mediación de la inflamación neurogénica o en la modulación de los impulsos nocivos (Benarroch 2011). Además, tiene la capacidad de excitar el sistema trigémino-vascular, por lo que es muy usado en el estudio de la fisiopatología de la migraña (Russo 2015). El CGRP se expresa en los cuerpos neuronales de las fibras C y A- δ perivasculares, en los ganglios de la raíz dorsal, en los ganglios trigeminal y vagal, los cuales responden a los estímulos nociceptivos térmicos y viscerales (Wimalawansa 1996, Poyner y cols. 2002). En humanos se ha mostrado, que los niveles plasmáticos y salivales de CGRP se elevan después de un episodio de migraña (Goadsby y cols. 1990, Bellamy y cols. 2006, Cady y cols. 2009), lo que corrobora su participación en este fenómeno.

Neurotransmisores inhibitorios

Ácido gamma amino butírico (GABA): El GABA es un aminoácido, sintetizado en neuronas denominadas GABAérgicas las cuales se encuentran distribuidas en todo el sistema nervioso central, ejerciendo importantes efectos inhibitorios. Muchos de los procesos de transmisión de señales de carácter inhibitorio en el sistema nervioso se deben a la inducción de corrientes de cloro (Cl^-), a través del canal del receptor GABA-A y así produciéndose una inhibición presináptica o postsináptica debido a la electronegatividad que ejerce ese ión sobre la membrana neuronal. Además, el GABA puede operar a través de un receptor metabotrópico unido a proteína G (Go α Gi α), el receptor GABA-B asociado a canales de Ca^+ y de K^+ por proteínas tipo G (Flórez y cols. 2008).

Dopamina: Las neuronas dopaminérgicas (es decir, las neuronas cuyo neurotransmisor primario es la dopamina) están presentes mayoritariamente en el área ventral tegmental del mesencéfalo, la sustancia negra y el núcleo arcuato del hipotálamo. La dopamina desempeña un papel importante en la cognición, actividad motora, así como en la motivación y recompensa. Además,

juega un papel fundamental en la transmisión de estímulos dolorosos en ciertas partes del cerebro incluyendo la ínsula, el tálamo, los ganglios basales, la corteza anterior del cíngulo y en la sustancia gris periacueductal (Wood 2008). Se han descrito 5 receptores de dopamina (D1 al D5) todos acoplados a proteína G tipo $G_{i\alpha}$. Los receptores D1 y D5 son miembros de la familia D1 con función excitadora. Mientras que los receptores D2, D3 y D4 forman parte de la familia D2 con función inhibitoria (Savasta y cols. 1986, Khan y cols. 2000, Clement y cols. 2011).

El área tegmental ventral (VTA) contiene la mayor abundancia de neuronas dopaminérgicas, al igual que la sustancia negra y el hipotálamo. Los axones de las neuronas de estas áreas utilizan 4 vías para comunicarse con el resto del cerebro:

Vía mesocortical: Transporta la dopamina desde el área tegmental ventral hasta la corteza frontal.

Vía mesolímbica: Transporta la dopamina desde el área tegmental ventral hasta el núcleo accumbens.

Vía nigrostriatal: Transporta la dopamina desde la sustancia negra hasta el cuerpo estriado. Asociada sobre todo al sistema motor.

Vía tuberoinfundibular: Transporta la dopamina desde el hipotálamo hasta la hipófisis.

Serotonina: La serotonina o 5-hidroxitriptamina es una sustancia neurotransmisora localizada en grandes concentraciones en las células enterocromafines de la mucosa gastrointestinal, las plaquetas y cerebro. La serotonina interviene en la transmisión nerviosa a distintos niveles y por diferentes mecanismos. Por ejemplo, a nivel periférico, activa las fibras nociceptivas y a nivel central, participa la modulación inhibitoria del dolor. Se ha mostrado que la destrucción del núcleo magno del rafe o la administración (intratecal) de metisergida (antagonistas serotonina) reducen la analgesia inducida por fármacos o factores conductuales (González-Mariscal y cols. 1994, Altamirano y Montano 1996).

Glicina: La glicina es un aminoácido distribuido principalmente en zonas caudales del sistema nervioso central, como el tallo cerebral, la zona pontino-cerebelosa y la médula espinal (Harvey

y cols. 2004). La glicina participa en la supresión de las señales nociceptivas en la médula espinal (Beyer y cols. 1985, Mechoulam y cols. 1995). La inhibición del estímulo doloroso es debida a la interacción directa de la glicina con el receptor ionotrópico sensible a estricnina (GlyR) asociado a canales de Cl^- pertenecientes igualmente a los receptores de $\text{GABA}_{A/B}$ (Zafra y cols. 1997).

Neuropéptido

Opioides: Los opioides endógenos son péptidos producidos en el sistema nervioso central relacionados con la modulación de la temperatura corporal, el hambre, dolor y funciones reproductivas. Se han clasificado en: encefalinas, endorfinas y dinorfinas, capaces de activar tres tipos de receptores (μ , δ y κ), los cuales muestran mecanismos de acción tanto a nivel presináptico como postsináptico (Villarejo-Díaz 1998, Reisine y Pasternak 1993). Por ejemplo, a nivel presináptico inhiben la liberación de la sustancia P, así como inhibir la liberación de dopamina, noradrenalina y acetilcolina en el sistema nervioso central. Por otro lado, a nivel postsináptico, disminuyen la actividad de la adenilciclase y por ende la producción d AMPc, produciendo la inhibición del disparo eléctrico inducido por la estimulación nerviosa nociceptiva que reducen la velocidad de la descarga neuronal e inhiben la despolarización postsináptica. La morfina, un potente opioide, es capaz de antagonizar los efectos de la sustancia P que ha sido administrada por vía exógena y que ejerce acciones inhibitorias postsinápticas sobre las interneuronas, y sobre las neuronas de salida del haz espinotalámico que transmiten la información nociceptiva hacia los centros superiores del cerebro (Villarejo-Díaz y cols. 2000).

1.1.3. Hiperalgnesia

La hiperalgnesia se refiere a un “incremento sostenido de la sensibilidad al dolor” (International Association for the Study of Pain 1986). En la mayoría de los casos, la hiperalgnesia se produce por la sensibilización de las fibras nerviosas periféricas causada por lesiones focales que provocan respuestas de tipo inflamatorio o alérgico, y que aumentan la liberación de sustancias químicas relacionadas con el dolor (Sandkühler 2009). Los cambios en el umbral al dolor pueden producirse por diversos factores, entre ellos, la cópula. De hecho, se han realizado

algunos trabajos en la rata en los que se ha mostrado que la actividad copulatoria modifica la sensibilidad al dolor (Komisaruk y Larsson 1971, Komisaruk 1972, Komisaruk y Wallman 1977, Forsberg y cols. 1987, González-Mariscal y cols. 1992, Gómora y cols. 1994).

1.2. Vocalizaciones en la rata

Las vocalizaciones son fundamentales para la comunicación entre los mamíferos. Su función es transmitir información importante sobre el estado reproductivo y social, el estado afectivo, la ubicación y la identidad del individuo, así como la presencia de comida, parientes, depredadores o dolor. La vocalización requiere fonación, articulación y respiración coordinadas que implica una red nerviosa que se extiende por el prosencéfalo y el tallo cerebral (Jürgens, 2002, 2009; Simonyan, 2014). Una región de gran importancia, para la fonación es la sustancia gris periacueductal, que sirve como sitio de relevo obligatorio para el control vocal en primates, gatos y roedores (Jürgens 2002, 2009). Se ha mostrado que las lesiones bilaterales de la sustancia gris periacueductal provocan mutismo (Esposito y cols. 1999, Jürgens 1994, 2002, 2009), y que su estimulación eléctrica o química puede provocar vocalizaciones (Bandler y Carrive 1988, Jürgens y Ploog 1970, Kyuhou y Gemba 1998, Lu y Jürgens 1993, Waldbillig 1975).

Existen tres diferentes tipos de señales sonoras: los infrasonidos, los sonidos audibles y los ultrasonidos, estos son producidos por las diferentes especies de la escala animal. Ciertas especies, entre ellas la rata, emiten vocalizaciones ultrasónicas (Portfors, 2007). El rango de frecuencia, de las vocalizaciones ultrasónicas, dependen de las condiciones que las rodeen.

El rango de frecuencia, de las vocalizaciones ultrasónicas, dependen de las condiciones que las rodeen. Dentro de estas frecuencias de pueden englobar las situaciones o estados apetitivos (rango de frecuencia alta, 50-75 kHz) y por otro situaciones aversivas (rango de frecuencia baja, 20-22 kHz; Knutson 2002). Dentro de las situaciones o estados apetitivos se encuentran juego social entre congéneres, drogas de abuso, estimulación eléctrica cerebral, conducta sexual, etc. (Burgdorf y cols. 2000, 2001, Knutson y cols 1998). Mientras algunos ejemplos de situaciones aversivas son el recibimiento de shocks, encuentros físicos agonistas, etc. (Burgdorf y cols. 2001; Knutson y cols. 1999).

Generalmente, en estudios de dolor se consideran la vocalización audible como un indicador de la percepción a los estímulos nocivos (Szechtman y cols. 1981, González-Mariscal y cols. 1992, 1994).

1.3. Conducta copulatoria masculina

La conducta copulatoria está compuesta por la manifestación de diferentes patrones motores copulatorios que permitirán aparearse a una pareja. Esta conducta es importante para la supervivencia de las especies animales ya que impedirá la extinción de la especie (Larsson 1956). La fase inicial de la conducta copulatoria masculina es la excitación sexual, seguida de la fase consumatoria (Sachs 2007). La excitación sexual ocurre al momento en que el macho se encuentra con una hembra receptiva. Por su parte, la hembra realiza conductas de solicitud de cópula o proceptivas que incluyen pequeños saltos, desplazamientos bruscos en zigzag y movimientos rápidos de la cabeza, mientras que el macho responde olfateando e inspeccionando la región genital de la hembra. Durante la fase consumatoria, el macho presenta montas e intromisiones intercaladas que culminan con la eyaculación.

Patrones motores copulatorios

Durante la ejecución de la conducta copulatoria masculina de la rata se pueden identificar tres patrones motores estereotipados: monta, intromisión y eyaculación (Figura 3). Durante la monta, el macho sujeta a la hembra con sus miembros anteriores palpando sus flancos, además, realiza movimientos pélvicos repetitivos del alta frecuencia hacia adelante y hacia atrás sobre la grupa femenina, seguidos de la desmonta lenta. El patrón de intromisión inicia como el de la monta, aunque la serie de movimientos pélvicos terminan con un movimiento rápido y profundo hacia adelante que coincide con la inserción del pene en la vagina, el cual es seguido de la desmonta brusca y el auto-acicalamiento del pene. Después de varias montas e intromisiones intercaladas, el macho realiza el patrón motor eyaculatorio. Dicho patrón incluye los movimientos pélvicos e inserción vaginal que culminan con la expulsión del fluido seminal, durante el cual se observa un movimiento pélvico más profundo y sostenido que el que se presenta durante la intromisión y siendo seguido de un movimiento lateral lento de los miembros anteriores y con la elevación del tronco. Después de esa desmonta lenta, ocurre el auto-

acicalamiento peneano (Larsson 1956). El conjunto de montas e intromisiones, que culminan con la eyaculación, se conoce como serie eyaculatoria (SE). Una vez que se produce la eyaculación, se presenta un intervalo post-eyaculatorio (IPE) por un lapso de cinco a diez minutos, durante el cual el macho permanece refractario a la estimulación sexual pero posteriormente, se reanuda la cópula. Los patrones copulatorios se pueden distinguir (Larsson 1956), registrar (Moralí y cols. 2003) y cuantificar (Larsson 1956, Manzo y cols. 2002, Lucio y Tlachi-López 2008).

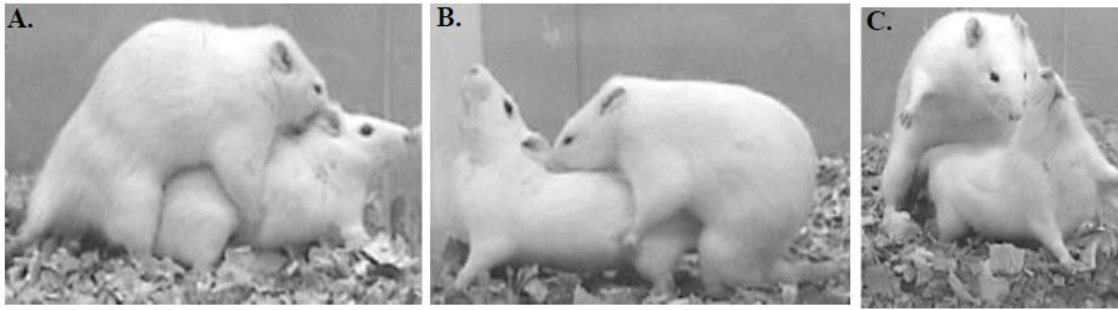


Figura 3. Patrones conductuales copulatorios. **A.** Patrón conductual de monta, **B.** Patrón conductual de intromisión. **C.** Patrón conductual de eyaculación (modificada de Lucio y Tlachi-López 2008).

El curso temporal de estas respuestas motoras estereotipadas permite analizar cuantitativamente la cópula mediante los parámetros copulatorios:

“*Latencia de Monta (LM)*. Intervalo de tiempo en segundos que transcurre desde que se introduce a la rata hembra en el redondel, donde se encuentra el macho, hasta que éste realiza el primer patrón de monta. La latencia de monta es considerada como una medida para evaluar la motivación sexual masculina ya que no se requiere la erección peneana o que la hembra adquiera alguna postura que permita que la inserción peneana ocurra. Se ha propuesto que entre más corta es la latencia de monta, más motivado se puede encontrar el macho” (Lucio y Tlachi-López 2008).

“*Latencia de Intromisión (LI)*. Intervalo de tiempo en segundos que transcurre desde que se introduce a la hembra en el redondel, donde se encuentra el macho, hasta que realiza el primer patrón conductual de intromisión. La latencia de intromisión puede reflejar la rapidez que tiene el macho para presentar la primera erección que le permitirá insertar el pene en la vagina” (Lucio y Tlachi-López 2008).

“*Latencia de Eyaculación (LE)*. Intervalo de tiempo en segundos que transcurre entre el primer patrón conductual de intromisión y el patrón conductual de eyaculación. La latencia de eyaculación de un macho intacto y con experiencia sexual, puede ser corta o larga sin que ello implique que sea más o menos efectivo, simplemente, hay machos que eyaculan más rápido que otros” (Lucio y Tlachi-López 2008).

“*Número de Montas (NM)*. Número de veces que el macho despliega este patrón conductual en una serie eyaculatoria. El número de montas puede tener un significado ambiguo ya que si es elevado podría interpretarse como una motivación sexual incrementada, sin embargo, también podría estar relacionado con el decrecimiento en la sensibilidad del pene o la combinación de estos y otros factores” (Lucio y Tlachi-López 2008).

“*Número de Intromisiones (NI)*. Número de veces que el macho despliega este patrón conductual por serie eyaculatoria. El número de intromisiones es considerado como una medida de la sensibilidad para alcanzar el umbral de eyaculación. Sin embargo, no puede decirse que un macho que realiza tres intromisiones antes de eyacular es más o menos potente que otro macho que realiza trece o más intromisiones” (Lucio y Tlachi-López 2008).

Además de los parámetros copulatorios convencionales se pueden calcular otras mediciones utilizando dichos parámetros:

“*Intervalo Inter Intromisión (III)*. Número de intromisiones dividido entre la latencia eyaculatoria, medido en segundos (Larsson 1956).

III=NI/LE

En general, los machos conforme ganan experiencia sexual acortan las LM y LI (Larson 1956). Además, a medida que los machos adquieren experiencia sexual, pueden ir reduciendo la LE, mientras que otros, mantienen latencias largas a pesar de la experiencia.

1.3.1. Eyaculación, función sexual con la que finaliza la cópula

La eyaculación comprende dos fases: la primera es la emisión que consiste en el cierre del cuello vesical, la confluencia de las secreciones de las diferentes glándulas sexuales accesorias en la uretra proximal y el transporte de los espermatozoides por el vaso deferente desde la cauda epididimaria y en la uretra prostática. Las secreciones de las glándulas constituyen el plasma seminal: que en conjunto con los espermatozoides conforman el fluido seminal, también

llamado semen. El plasma contiene diversas enzimas, azúcares, lípidos, oligoelementos y otras sustancias que proporciona a los espermatozoides un medio nutritivo y protector para su supervivencia y desplazamiento durante su recorrido por el tracto reproductor femenino hasta encontrarse con el óvulo. Las secreciones glandulares son provistas en una secuencia específica en la uretra-prostática, a través de contracciones fásicas de las glándulas y conductos respectivos (Clément y Giuliano 2011). La segunda fase de la eyaculación es la de expulsión seminal. Se refiere a la salida del líquido seminal hacia el exterior por el meato urinario. Durante esta fase, la actividad electromiográfica del bulboesponjoso es de alta duración, amplitud y frecuencia respecto a la actividad que tiene durante la monta e intromisión (Holmes y cols. 1991). Posteriormente, las contracciones de la musculatura estriada del isquiocavernoso y bulboesponjoso favorecen la contracción de los divertículos uretrales. Estas contracciones expulsan el semen (espermatozoides y plasma seminal) por el meato urinario hacia el exterior (Lucio y cols. 2013).

1.3.2. Vías sensoriales del pene

El nervio dorsal del pene es una rama del nervio pudendo que inerva al pene, originado de los segmentos L6 y S1 de la médula espinal, tiene función sensitiva (térmica, mecánica, química y nociceptiva), motora y parasimpática (McKenna y Nadelhaft 1985, Hull y cols. 2006).

El glande del pene contiene terminales nerviosas encapsuladas, denominadas corpúsculos de Krause, mientras que el resto del pene contiene terminaciones nerviosas libres (Halata y Munger 1986). Esos corpúsculos son terminales nerviosas encapsuladas sensibles a estímulos de temperatura o de tacto (López-Antúnez 1997). Así, los estímulos son transmitidos a través de fibras sensoriales a las láminas I-IV, VI, VII y IX de los segmentos L6 y S1 de la médula espinal (Hull y cols. 2006). Mientras que la información sensorial se retransmite a los sitios supraespinales a través de vías espinotalámica y espinoreticular. La vía espinotalámica transmite principalmente los potenciales de acción provenientes de fibras mielínicas de alta velocidad que están relacionadas con las terminaciones nerviosas encapsuladas del pene. Las fibras ascendentes terminan en el núcleo posterolateral del tálamo y se retransmite al tálamo medial. La vía espino-reticular contiene fibras de menor velocidad de transmisión que la vía

espinotalámica y terminan en la formación reticular del tallo cerebral que a su vez envían proyecciones al área preóptica media (Carlson 2000, Hull y cols. 2006). En la rata macho se ha mostrado activación de la proteína c-Fos (proteína expresada durante la actividad nerviosa) en el área tegmental ventral, después de la exposición a una hembra sexualmente receptiva. Esta área contiene las neuronas dopaminérgicas que conforman el sistema dopaminérgico mesolímbico, se encuentra implicado en el sistema de recompensa (Baum y Everitt 1992). El área preóptica media, situada en el área rostral del hipotálamo, es la región cerebral con mayor importancia para la conducta sexual masculina. La estimulación eléctrica de éste área provoca la ejecución de montas e intromisiones (Malsbury 1971) y la eyaculación (Marson y McKenna 1994).

1.3.3. Control nervioso de la erección y eyaculación

La erección del pene es el resultado de mecanismos tanto nerviosos centrales y periféricos, como vasculares, psicológicos y endocrinológicos. Las principales estructuras cerebrales implicadas en la erección son el área preóptica media y el núcleo paraventricular en el hipotálamo (Tang y cols. 1998). La erección peneana se produce por la estimulación parasimpática derivada de los segmentos sacros S2-S4 de la médula espinal, en humanos (Lue y cols. 1984), mientras que, en la eyaculación participan los sistemas nerviosos simpático, parasimpático y motor (Clement y Giuliano 2011). Los somas de las neuronas preganglionares simpáticas se encuentran en el asta lateral de los segmentos T12-L1, en el núcleo intermediolateral (Morgan y cols. 1986). Los cuerpos celulares parasimpáticos preganglionares se localizan en el núcleo sacroparasimpático (S2-S4). Los axones de las neuronas del núcleo sacroparasimpático constituyen el nervio pélvico que hacen sinapsis con las neuronas posganglionares ubicadas en el plexo pélvico (Nadelhaft y Booth 1994).

Las neuronas motoras implicadas en la eyaculación se localizan en el núcleo de Onuf en humanos (Schroder 1981), y en el núcleo del bulbocavernoso en la rata (Schroder 1985), ubicado en la médula espinal lumbo-sacra, que proyecta fibras a través del nervio pudendo (L5-S1 en humanos y L6-S1 en ratas) a los músculos bulbospongioso, isquiocavernoso así como al esfínter externo de la uretra (Schroder 1985). El área preóptica media envía proyecciones a otras

regiones cerebrales involucradas con la eyaculación tales como el núcleo paraventricular, la sustancia gris periacueductal y el núcleo paragigantocelular de la médula oblonga (Simerly y Swanson 1988). El núcleo paraventricular en ratas proyecta axones hacia las neuronas motoras de los nervios pudendos, además de las neuronas preganglionares autónomas en la médula espinal lumbosacra (Nadelhaft y Booth 1984). Así mismo, el núcleo paraventricular proyecta axones al núcleo paragigantocelular que, a su vez envía proyecciones descendentes a la médula espinal (Bancila y cols. 1999).

Durante la excitación sexual se activa al eje hipotálamo-hipófisis-testículo provocando un incremento en la concentración de testosterona en sangre (Amstislavskaya y Popova 2004). Por lo tanto, la conducta copulatoria de la rata macho depende de testosterona secretada por las células de Leydig de los testículos y metabolizados en las células diana a estradiol (por aromatización) o bien se metaboliza a dihidrotestosterona (por reducción) (Hull y Domínguez 2007). De la misma forma, durante la excitación sexual, la dopamina también es liberada en los tres sistemas integradores que son: el nigroestriatal, el mesolímbico y preóptico medial.

El sistema nigroestriatal mejora la integración de estímulos sensoriales (Robbins y Everitt 1992, Salamone 1992). La dopamina es liberada en el cuerpo estriado solo durante la conducta copulatoria lo que indica su importancia para los aspectos motrices de la cópula, pero no para la motivación sexual (Damsma y cols. 1992). El sistema mesolímbico es crucial para que se expresen las conductas apetitivas ya que se activa antes o durante una variedad de conductas motivadas que incluyen el comer, beber, copular y la autoadministración de drogas (Ikemoto y Panksepp 1999, Kiyatkin 2002). Finalmente, el sistema preóptico medial participa en la presencia de los reflejos peneanos, así como la motivación sexual y el despliegue de patrones motores copulatorios (Hull y cols. 1995, 1999). Durante la excitación sexual se libera dopamina en el área preóptica la cual es influenciada por la acción de las hormonas gonadales. Este dato es apoyado debido a que los machos castrados no presentan esta liberación de dopamina y son incapaces de iniciar la cópula (Hull y cols. 1995). Por lo tanto, el neurotransmisor dopamina es importante para que se realice el despliegue de la conducta copulatoria. En ratas, la activación de los receptores a D2 inducen la eyaculación (Ferrari y Giuliani 1994, 1995) incluso en ratas

anestesiadas (Clément y cols. 2006, Stafford y Coote 2006). La inyección sistémica de 7-OH-DPAT, agonista del receptor D3, induce la eyaculación en ratas sin afectar la excitación (Ferrari y Giuliani 1983, Ahlenius y Larsson 1995).

2. ANTECEDENTES

2.1. Analgesia inducida por la cópula

Se ha evidenciado que la rata macho presenta analgesia durante e incluso hasta 60 minutos después de la cópula (Szechtman y cols. 1981, Forsberg y cols. 1987, González-Mariscal y cols. 1992). Con el propósito de estudiar la analgesia producida por la cópula, se han utilizado una serie de estrategias como el administrar estímulos eléctricos de alta intensidad durante y después de la cópula (Szechtman y cols. 1981), o bien estímulos térmicos nocivos después de la cópula (Forsberg y cols. 1987) o estímulos eléctricos nocivos durante y después de la cópula (González-Mariscal y cols. 1992).

Uno de los equipos de investigadores que han evaluado la analgesia copulatoria es Szechtman y cols. (1981) que administraron choques eléctricos a los flancos de las ratas macho mediante un par de electrodos (Barfield y Sachs 1968). Los choques eléctricos se administraron pasados 30 segundos de la segunda intromisión, con duración de 0.5 segundos e intensidad de 5-8 mA (n=6), así hasta 50 choques eléctricos. Los resultados indicaron que las ratas control (aquellas que no tuvieron la oportunidad de copular) vocalizaron en el $98\pm 1\%$ de las pruebas. Sin embargo, las ratas macho durante la cópula vocalizaron el $61\pm 6\%$ de las pruebas. Lo que indica que el despliegue conductual del macho durante la cópula induce analgesia. Otro equipo de investigación es el de Forsberg y cols. (1987) que permitieron que ratas macho copularan hasta la eyaculación, dentro de una arena copulatoria, e inmediatamente después los animales fueron retirados de la arena copulatoria y colocados en jaulas con piso de aluminio a 54°C . Así, esos machos mostraron una mayor latencia de retiro y lamido de sus extremidades anteriores con respecto a los machos control (aquellos que no tuvieron la oportunidad de copular). Este dato indica que la eyaculación, como la estimulación vagino-cervical también produce analgesia. Sin embargo, tras el periodo refractario, la latencia de retiro y lamido de las extremidades anteriores fueron menor con respecto al control, lo que indica la existencia de un proceso hiperalérgico. Cabe mencionar que haber retirado al animal de la arena copulatoria y luego colocarlo en la jaula con piso caliente pudo influir en la analgesia adquirida tras la cópula. Debido a esos datos, en nuestro laboratorio se diseñó un método muy novedoso para evitar que la manipulación

pudiere ejercer un efecto analgésico y que no fuera ejercido por la propia cópula (González-Mariscal y cols. 1992). Inclusive, dicho método permite la evaluación de la analgesia durante la ejecución copulatoria con el animal en libre movimiento descrita como respuesta del Umbral de Vocalización al Choque Eléctrico a la cola (UVCE) el cual nos permite evaluar el cambio en la intensidad del choque eléctrico a la cual la rata vocaliza durante la cópula (UVCE-Experimental) respecto a su propio umbral basal (antes de la cópula; UVCE-Basal), este cambio se transforma a porcentaje (porcentaje de cambio).

La vocalización emitida por el animal, al evaluar el UVCE, debe ser escuchada por el propio oído humano, lo que indica que la rata siente dolor debido al estímulo nocivo inducido por el choque eléctrico. Por lo tanto, con ese método se puede evaluar el porcentaje de cambio del UVCE-Experimental durante la primera y segunda serie eyaculatoria (SE1 y SE2, respectivamente) y en ambos intervalos post-eyaculatorios (IPE1 e IPE2, respectivamente) respecto al UVCE-Basal. Si dicho porcentaje de cambio es positivo, indica analgesia, si es negativo indica hiperalgesia. Así, en trabajos anteriores se mostró que el UVCE-Experimental incrementa significativamente respecto al UVCE-Basal, es decir, se aumenta el 40% en la SE1 y se incrementa en un 60% en la SE2. Así como, 28% en el IPE1 y el 60% en el IPE2. Estos datos sugieren fuertemente que durante y después de la actividad copulatoria se induce analgesia (González-Mariscal y cols. 1992; Figura 4). En otro experimento (González-Mariscal y cols. 1992), se evaluó el efecto de la cópula completa (montas, intromisiones incluyendo la eyaculación), o de la ejecución de solo 5 intromisiones o bien de solo 5 montas sobre la analgesia copulatoria. Por lo que se determinó el porcentaje de cambio del UVCE-Experimental respecto al UVCE-Basal a los 0, 5, 20 y 60 minutos posteriores los criterios anteriormente mencionados. Así mismo, se ha observado que después de la eyaculación, el UVCE aumentó significativamente el 33% a los 0 minutos, el 40% a los 5 minutos, 50% a los 20 minutos siendo el máximo porcentaje de cambio y disminuyó 20% a los 60 minutos posteriores a la eyaculación. Los machos que ejecutaron 5 intromisiones ó 5 montas, mostraron respuesta similar de analgesia con menor intensidad. Esto indica que la analgesia inducida por la eyaculación, por 5 intromisiones ó 5 montas tiene duración de hasta 60 minutos posteriores a la actividad sexual. Finalmente, los autores utilizaron el diseño experimental anterior con la diferencia de que

posterior a la eyaculación, 5 intromisiones ó bien 5 montas se retiró al macho de la arena copulatoria y se colocó dentro de un restrictor de plexiglas para aplicarle un estímulo nocivo con luz incandescente en la cola y se evaluó la latencia del movimiento de la cola o bien, solo se evaluó el UVCE. En ambas pruebas se observó ligera analgesia inmediatamente después de la eyaculación, de cinco intromisiones o de 5 montas, posteriormente solo presentaron hiperalgesia que son valores menores al umbral-basal (González-Mariscal y cols. 1992).

La Figura 5 muestra los resultados del UVCE. Estos datos sugieren que la manipulación de un animal después de la cópula que implica retirarlo de la arena copulatoria y trasladarlo al sistema de registro de analgesia influye sobre la analgesia copulatoria. Además, se ha mostrado que la administración intratecal de antagonistas de los receptores opioides, ácido gamma-aminobutírico y serotonina disminuye significativamente el UVCE (González-Mariscal y cols. 1994). Indicando la participación de estos neurotransmisores en la analgesia copulatoria. Algunos autores han sugerido que la analgesia copulatoria previene que el contacto entre el pene y la vagina sea un estímulo nocivo para los individuos (Forsberg y cols. 1987, Beyer y Macías 2003). Además, en otro trabajo se mostró que la micro-inyección de GBR-12935 (inhibidor de recaptura de dopamina) en la corteza insular, **aumenta el umbral al dolor** ante un estímulo térmico y disminuye la expresión de c-Fos en neuronas de la médula espinal (láminas I y III), después de la inyección de formalina, respecto al grupo control (Burkey y cols 1999).

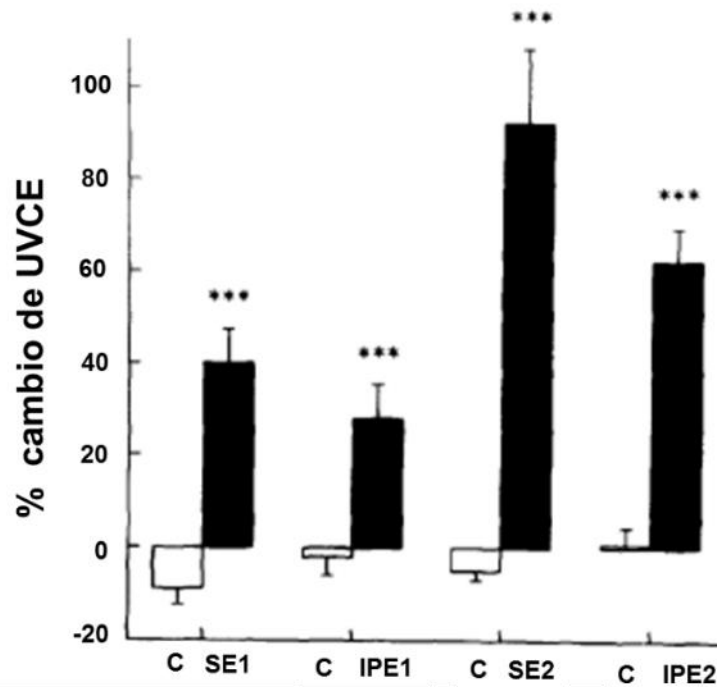


Figura 4. Porcentaje de cambio del Umbral de Vocalización al Choque Eléctrico (UVCE). Durante la primera y segunda serie eyaculatoria (SE1 y SE2, respectivamente), el primero y segundo intervalo post-eyaculatorio (IPE1 e IPE2, respectivamente). Prueba “t” de Student *** $p < 0.01$ comparados con el correspondiente grupo control. Los datos se muestran en media \pm error estándar (modificada de González-Mariscal y cols. 1992).

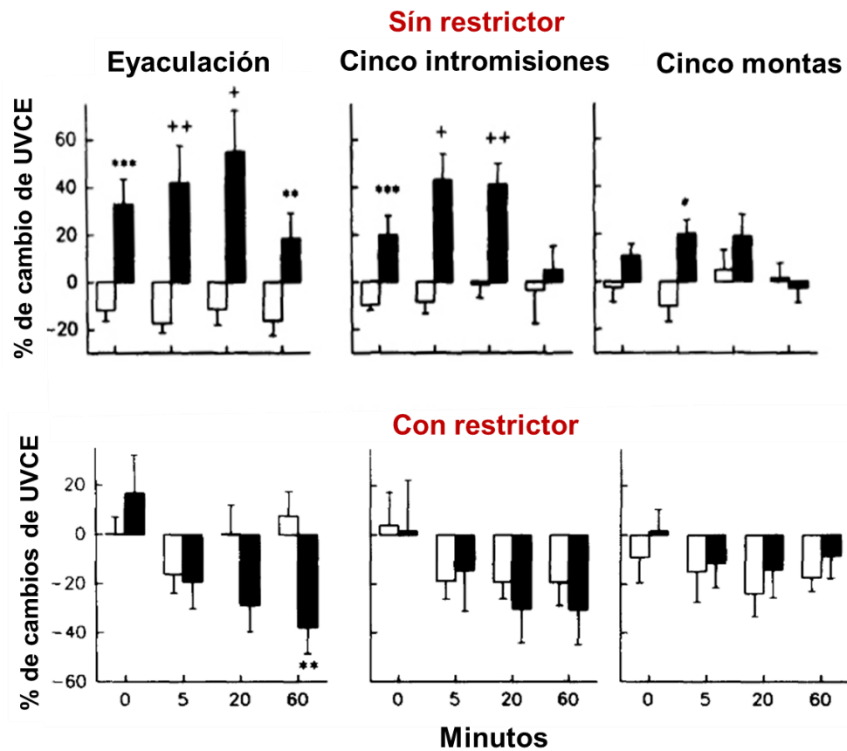


Figura 5. Umbral de Vocalización al Choque Eléctrico (UVCE). A los 0, 5, 20 y 60 minutos después de la eyaculación, cinco intromisiones o cinco montas. En la parte superior se muestran machos que se les evaluó el UVCE dentro de la arena de registro y en la parte inferior los machos fueron colocados dentro de un restrictor de plexiglas para evaluar el UVCE. Los datos se muestran en media +/- error estándar (modificada de González-Mariscal y cols. 1992).

2.2. Fenotipos eyaculatorios en ratas

Tanto en el hombre como en la rata macho muestran latencias de eyaculación rápida, lenta o intermedia, de ahí que se hayan identificado tres distintos fenotipos eyaculatorios (Olivier y cols. 2006). Experimentos realizados en las ratas, pueden servir para explorar las disfunciones sexuales, tales como la eyaculación precoz y la eyaculación retardada. Para poder determinar dichos fenotipos las ratas macho fueron sometidas a 6 pruebas copulatorios con duración de 30 minutos cada una. En la Figura 6 se muestra el número de eyaculaciones que se van desde ninguna hasta 5, durante la cuarta prueba copulatoria de una población de 546 ratas. La mayoría de las ratas realizó de 2 a 3 eyaculaciones (machos de fenotipo intermedio) durante los 30 minutos, otros machos no presentaron eyaculación o sólo una (machos de fenotipo lento) y otros

más realizaron de 4 a 5 eyaculaciones (machos de fenotipo rápido). Con estos resultados se determinó que alrededor del 10% de la población de ratas macho muestra el fenotipo eyaculatorio lento, otro porcentaje similar manifestó el fenotipo rápido y el 80%, el fenotipo intermedio. Además, en otro grupo de ratas fueron registrados los parámetros copulatorios de la primera serie eyaculatoria NM, NI, LM LI y LE en la sexta prueba copulatoria; así como el número de eyaculaciones (NE) durante 30 minutos. Estos parámetros se compararon entre los fenotipos eyaculatorios. Se encontraron diferencias significativas en el NM, NE, LI y LE entre los machos de distinto fenotipo; $p < 0.05$. Los machos de fenotipo rápido mostraron la menor LE (247 ± 45 , segundos) seguidos de los intermedios y lentos (717 ± 133 y 1697 ± 80 segundos respectivamente). El mismo comportamiento de los datos se observa en los parámetros de NM y LI; $p < 0.05$ (Tabla 1) (Pattij y cols. 2005, Olivier y cols. 2006). Cabe mencionar que los autores no determinaron el III el cual podría ser significativamente diferente entre los fenotipos lento, intermedio y rápido. Utilizando los datos de la Tabla 1 se obtiene que el III es 303.04, 94.32 y 66.76 segundos, para los machos de fenotipo lento, intermedio y rápido, respectivamente modificada de (Olivier y cols. 2006).

Interesantemente, se mostró que la dopamina, opiáceos y serotonina acortan la latencia de eyaculación (Ahlenius y cols 1982, Agmo y Paredes 1988, Mos y cols. 1990, Mos y cols. 1991, Olivier y cols. 2006). Por ejemplo, la administración de pergolida (agonista dopaminérgico) redujo el número de intromisiones y disminuyó la latencia de la eyaculación respecto a un grupo control (360seg a 120 seg, respectivamente; Ahlenius y cols 1982). Además, la administración de morfina (opiáceo) disminuye la latencia de eyaculación respecto a un grupo control (249 y 930 seg, respectivamente; Agmo y Paredes 1988). Mientras que la administración de 8-OH-DPAT, flesinoxan, bupiriona o ipsapirona (agonistas serotoninérgicos) redujo la latencia de eyaculación (238 y 869 seg; 281 y 854 seg; 502 y 860 seg respectivamente; Mos y cols. 1990, Mos y cols. 1991, Olivier y cols. 2006). Cabe señalar, que los resultados de algunos de estos trabajos, los machos mostraron fenotipo eyaculatorio intermedio pero el tratamiento modificó dicho fenotipo a rápido. Además, como se mencionó anteriormente que la dopamina, opiáceos y serotonina inducen analgesia copulatoria en la rata macho. Por lo anterior, en el presente estudio se evaluará la relación entre los fenotipos copulatorios y la analgesia eyaculatoria.

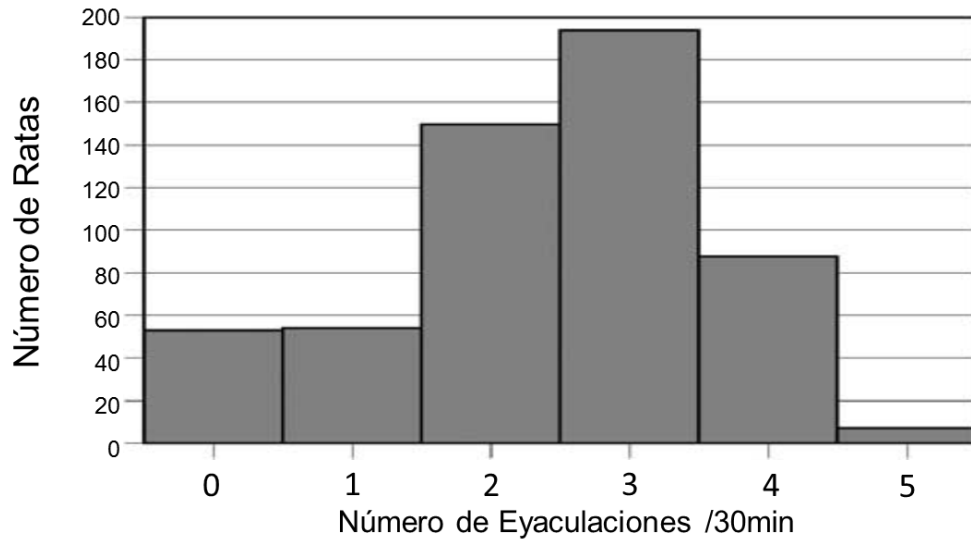


Figura 6. Histograma que muestra el número de eyaculaciones y la latencia de la primera eyaculación de una prueba copulatoria de 30 min, en una población de 546 ratas macho Wistar. Datos de la cuarta prueba copulatoria (modificada de Olivier y cols. 2006).

Tabla 1. Parámetros copulatorios de una población de 100 ratas macho Wistar agrupados en fenotipos eyaculatorios lento, intermedio y rápido.

Parámetro copulatorio	Lento	Intermedio	Rápido	ANOVA
NM	42.0±4.0	23.0±4.0*	8.2±1.8*.*.**	F _(2,35) =23.1; p<0.001
NI	5.6±1.4	7.6±0.9	7.5±1.0	F _(2,35) =1.1; NS
NE	0.2±0.1	1.9±0.3*	3.7±0.2*.*.**	F _(2,35) =70.3; p<0.001
LM (s)	47.6±30.6	6.5±0.8	13.6±7.7	F _(2,35) =1.5; NS
LI (s)	544.0±197.0	46.6±12.3	20.8 ± 6.1*	F _(2,35) =6.6; p<0.005
LE(s)	1697±80	717±133*	247±45*.*.**	F _(2,35) =62.7; p<0.001

Los datos representan la media ± error estándar. Los parámetros fueron registrados durante la primera serie eyaculatoria de la sexta prueba copulatoria, el número de eyaculaciones se registró durante los 30 minutos que duró el experimento. NM, número de montas; NI, número de intromisiones; NE, número de eyaculaciones; LM, latencia de monta en segundos (s); LI, latencia de intromisión (s). *.*.**p<0.05 en comparación con fenotipo lento; **p<0.05 en comparación con fenotipo intermedio (modificada de Pattij y cols. 2005).

3. JUSTIFICACIÓN

Con base en los resultados de estudios anteriores sabemos que la rata macho presenta analgesia durante y después de la cópula. Adicionalmente, también conocemos que debido a las diferentes latencias de eyaculación se pueden identificar tres fenotipos eyaculatorios rápido, intermedio y lento. En el entendido de que algunos neurotransmisores (dopamina y serotonina) y opioides en las áreas cerebrales (corteza insular, tálamo, sustancia gris periacueductal, médula espinal, área tegmental ventral y sustancia negra) están relacionadas con el acortamiento de la eyaculación y la analgesia, es posible sugerir que la analgesia entre los machos de distinto fenotipo sea diferente debido a la diferente latencia de eyaculación.

4. HIPÓTESIS

La analgesia producida durante la cópula y post-cópula es diferente entre los machos de distinto fenotipo eyaculatorio, por lo que los machos de menor latencia de eyaculación (fenotipo rápido) tendrán mayor analgesia copulatoria que los otros fenotipos.

5. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la analgesia copulatoria en machos de diferente fenotipo eyaculatorio durante y después de la cópula.

6. OBJETIVOS PARTICULARES

- Establecer el umbral al dolor en ratas machos de diferente fenotipo eyaculatorio (rápido, intermedio y lento) durante y después de la ejecución de dos series eyaculatorias.
- Evaluar el umbral al dolor en machos de diferente fenotipo eyaculatorio (rápido, intermedio y lento) después de solamente 5 intromisiones.
- Determinar el umbral al dolor en machos de diferente fenotipo eyaculatorio (rápido, intermedio y lento) después de solamente una eyaculación.

7. METODOLOGÍA

7.1. Animales

Se utilizaron (N=115) ratas macho de la cepa Wistar sexualmente maduras de 3 meses de edad (300 gramos de peso corporal al inicio del estudio). Los animales fueron mantenidos en condiciones de bioterio con temperatura de $20\pm 2^{\circ}\text{C}$, con ciclo invertido de luz-oscuridad (12:12) con acceso libre al agua y alimento (Rodent Laboratory Chow). Las hembras (200 gramos de peso corporal) fueron ovariectomizadas e inducidas hormonalmente el estro (10 microgramos de benzoato de estradiol y 2 miligramos de progesterona; vía subcutánea a las 44 y 4 horas respectivamente, antes de la prueba copulatoria).

7.2. Pruebas copulatorias de entrenamiento sexual

Los machos sexualmente inexpertos fueron colocados dentro de una arena copulatoria 50 x 50 centímetros (diámetro x altura) durante 5 minutos para su habituación. Transcurrido este tiempo, una hembra receptiva sexualmente fue introducida e inició el registro conductual. Las pruebas terminaron a los 15 minutos si el macho sólo realizaba montas, permanecía inmóvil o indiferente a la hembra; a los 30 minutos después de la primera intromisión, aunque no eyaculara, o bien cuando eyaculara. Se registraron latencia de monta (LM), de intromisión (LI) y de eyacuación (LE), así como el número de montas (NM) y de intromisiones (NI). Además, se calculó el intervalo inter-intromisión (III). El entrenamiento copulatorio fue de 6 pruebas con intervalo de 2-3 días entre ellas. Sólo fueron seleccionados aquellos machos que mantuvieron estables su LE en las últimas cuatro pruebas de entrenamiento. Se distinguieron los fenotipos eyaculatorios en lento, intermedio o rápido según la duración de sus LE (247 ± 45 , 717 ± 133 y 1697 ± 80 segundos, respectivamente), de acuerdo con lo previamente mostrado (Olivier y cols. 2006).

7.3. Evaluación del UVCE

La medición del UVCE se realizó fijando un par de electrodos en la base de la cola, que estaban conectados en su extremo opuesto a un estimulador de corriente directa Nuclear Chicago que a su vez, fue conectado a un osciloscopio en donde se observó si la rata recibió el choque eléctrico. Después de cinco minutos dentro del redondel, para que la rata se adaptará a los electrodos, se

evaluó el UVCE, aplicando un tren de choques eléctricos con pulsos cuadrados de 60 Hz, durante 300 milisegundos a 0.1 mA de intensidad. Se inició en orden creciente comenzando con 0 mA (el intervalo entre los pulsos eléctricos fue de 10 segundos) hasta que el animal emitió una vocalización audible. Cuando el animal vocalizó se dieron choques en orden decreciente de intensidad, hasta que el animal no vocalizó. Este procedimiento se repitió tres veces, para obtener tres datos de intensidad de corriente en los cuales la rata vocalizó. Los valores obtenidos fueron promediados (Figura 7).

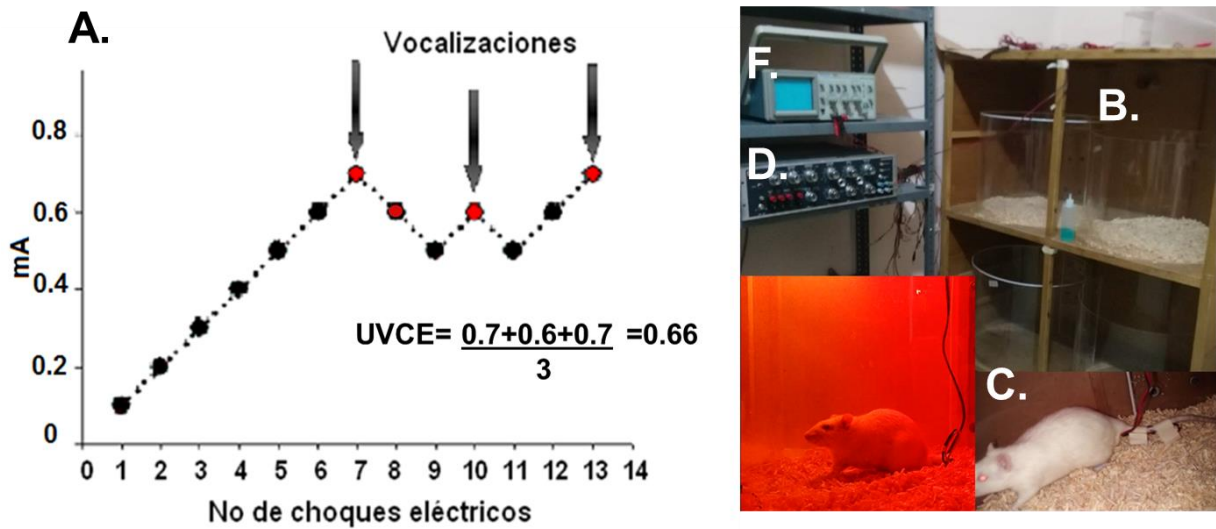


Figura 7. Evaluación del umbral de vocalización al choque eléctrico (UVCE). **A.** ejemplo de evaluación de UVCE. Los círculos negros representan el momento en que la rata macho recibió el choque eléctrico sin emitir una vocalización audible, mientras que en los círculos rojos emitió una vocalización audible. **B.** Arena copulatoria. **C.** Rata macho con par de electrodos fijados en la base de la cola. **D.** Generador de corriente eléctrica. **F.** Osciloscopio.

7.4. Diseño experimental

Después del entrenamiento copulatorio, pruebas 1-6, las ratas macho ya identificadas con algún fenotipo eyaculatorio fueron trasladadas del Centro Tlaxcala Biología de la Conducta al Centro de Investigación en Reproducción Animal. Se mantuvieron una semana en condiciones de bioterio para su adaptación. Después los machos se dividieron en nueve grupos experimentales constituidos por tres subgrupos, cada uno para los distintos fenotipos (rápido, intermedio y lento). Un grupo de cada fenotipo fue asignado en alguno de los siguientes experimentos; Experimento 1. UVCE durante dos series eyaculatorias y en sus respectivos intervalos post-eyaculatorios (SE1, SE2, IPE1 e IPE2); Experimento 2. UVCE a los 0, 5, 20 y 60 minutos después de la eyaculación; Experimento 3. UVCE a los 0, 5, 20 y 60 minutos después de 5 intromisiones. Los machos del experimento 1 fueron sometidos a 4 pruebas (7-10). Los machos de los experimentos 2 y 3 fueron sometidos a 3 pruebas (7-9). Éstas tuvieron intervalo de 7 días entre ellas (Figura 8).

Diseño experimental

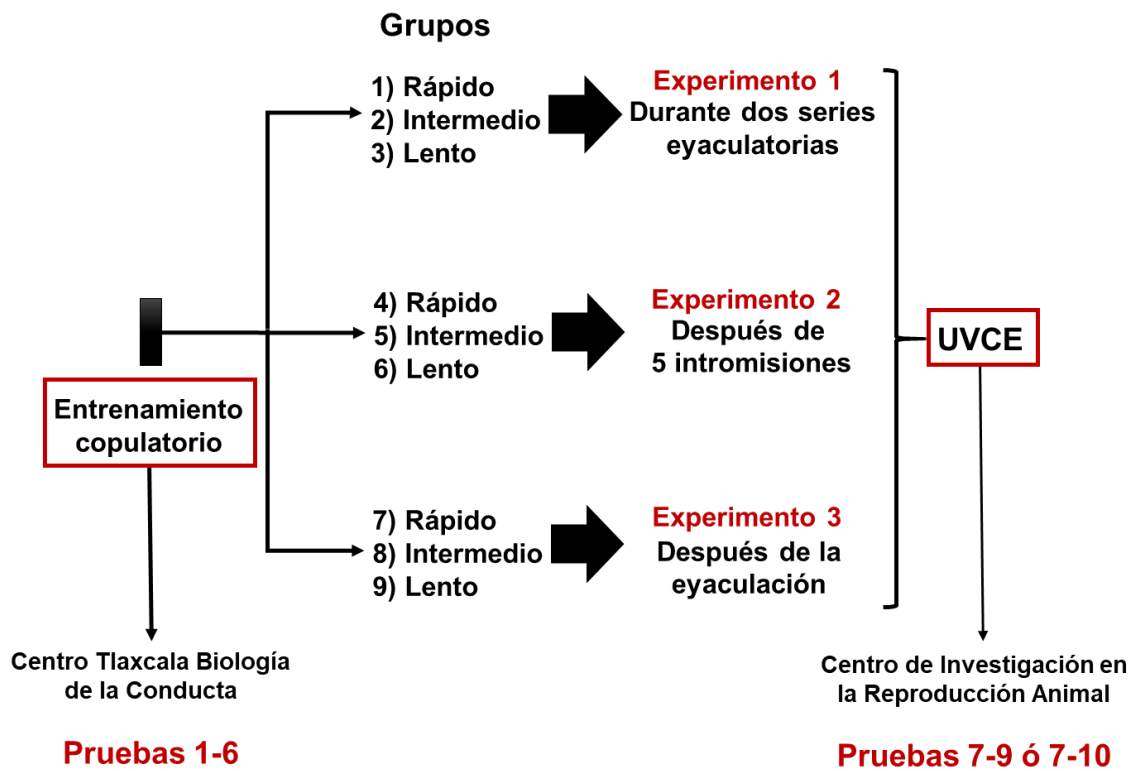


Figura 8. Diseño experimental para distinguir los fenotipos eyaculatorios y evaluar el Umbral de Vocalización al Choque Eléctrico (UVCE).

7.4.1. Experimento 1. Efecto del fenotipo eyaculatorio sobre el UVCE durante dos series eyaculatorias y en sus respectivos intervalos post-eyaculatorios

En la prueba 7 se evaluó la actividad copulatoria de una serie eyaculatoria para descartar cambios en los fenotipos eyaculatorios debidos al traslado. En la prueba 8 a los machos de cada fenotipo se les fijó un par de electrodos en el segmento proximal de la cola, luego fueron introducidos a la arena copulatoria durante 5 minutos para su habituación. Inmediatamente después se les evaluó el UVCE-Basal-Experimental (sin hembra), posteriormente se introdujo a la arena copulatoria una hembra receptiva. Durante la SE1 (después de la primera intromisión) se comenzó la evaluación del UVCE-Experimental (con una hembra receptiva). Se evaluó nuevamente el UVCE-Experimental durante el IPE1 (inmediatamente después de la eyaculación). Se replicó lo anterior durante la SE2 e IPE2. Los datos obtenidos fueron transformados a porcentaje de cambio (%C) utilizando la siguiente formula: $\%C = (\text{UVCE Experimental} / \text{UVCE Basal}) (100) - 100$. En la prueba 9, se evaluaron los parámetros copulatorios de una serie eyaculatoria para descartar cambios en los fenotipos eyaculatorios debidos al choque eléctrico. Finalmente, en la prueba 10 se evaluó el UVCE-Basal y UVCE-Experimental de la misma forma que en la prueba 8 y con los mismos lapsos de tiempo, pero sin hembra presente (UVCE-Basal-Control y UVCE-Control, respectivamente), esto para obtener valores comparables con los valores obtenidos durante la prueba 8 (Figura 9).

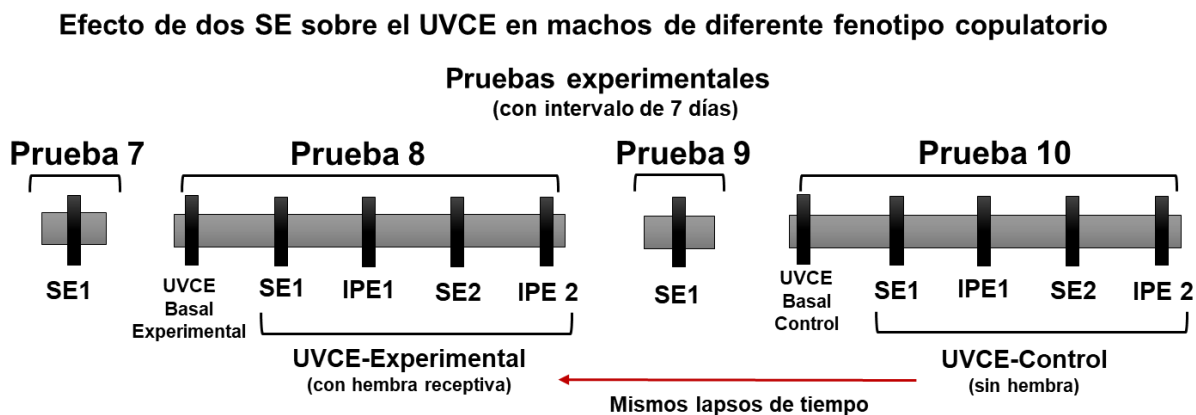


Figura 9. Diseño del experimento 1. Los rectángulos grises representan las pruebas experimentales. Los rectángulos negros representan las pruebas a que fueron sometidos los ratos macho; Series Eyaculatorias 1 y 2 (SE1 y SE2, respectivamente); Intervalos Post-Eyaculatorios 1 y 2 (IPE1 e IPE2, respectivamente); Umbral de Vocalización al Choque Eléctrico al ser expuesto a una hembra receptiva (UVCE-Experimental) o no (UVCE-Control).

7.4.2. Experimento 2. UVCE a los 0, 5, 20 y 60 minutos después de 5 intromisiones, en machos de diferente fenotipo eyaculatorio

En la prueba 7 se evaluó la actividad copulatoria de una serie eyaculatoria para descartar cambios en los fenotipos eyaculatorios debidos al traslado. En la prueba 8 a los machos de cada fenotipo se les fijó un par de electrodos en el segmento proximal de la cola, luego fueron introducidos a la arena copulatoria durante 5 minutos para su habituación. Inmediatamente después se les evaluó el UVCE-Basal-Experimental, luego se introdujo en la arena copulatoria a una hembra receptiva. Posteriormente, se les permitió copular hasta realizar 5 intromisiones momento en cual se retiró la hembra. Se evaluó el UVCE-Experimental a los 0, 5, 20 y 60 minutos después de las 5 intromisiones. Finalmente, en la prueba 9 se evaluó una serie eyaculatoria para descartar cambios en el fenotipo debido a los choques eléctricos (Figura 10).

7.4.3. Experimento 3. UVCE a los 0, 5, 20 y 60 minutos después de la eyaculación, en machos de diferente fenotipo eyaculatorio

En la prueba 7 se evaluó una serie eyaculatoria para descartar cambios en los fenotipos eyaculatorios debidos al traslado. En la prueba 8 a los machos de cada fenotipo se les fijó un par de electrodos en el segmento proximal de la cola, luego fueron introducidos a la arena copulatoria durante 5 minutos para su habituación. Inmediatamente después se les evaluó el UVCE-Basal, luego se introdujo en la arena copulatoria a una hembra receptiva. Posteriormente, se les permitió copular hasta la eyaculación y se retiró la hembra. Se evaluó el UVCE-Experimental a los 0, 5, 20 y 60 minutos después de la eyaculación. Finalmente, en la prueba 9 se evaluó una serie eyaculatoria para descartar cambios en el fenotipo debido a los choques eléctricos (Figura 10).

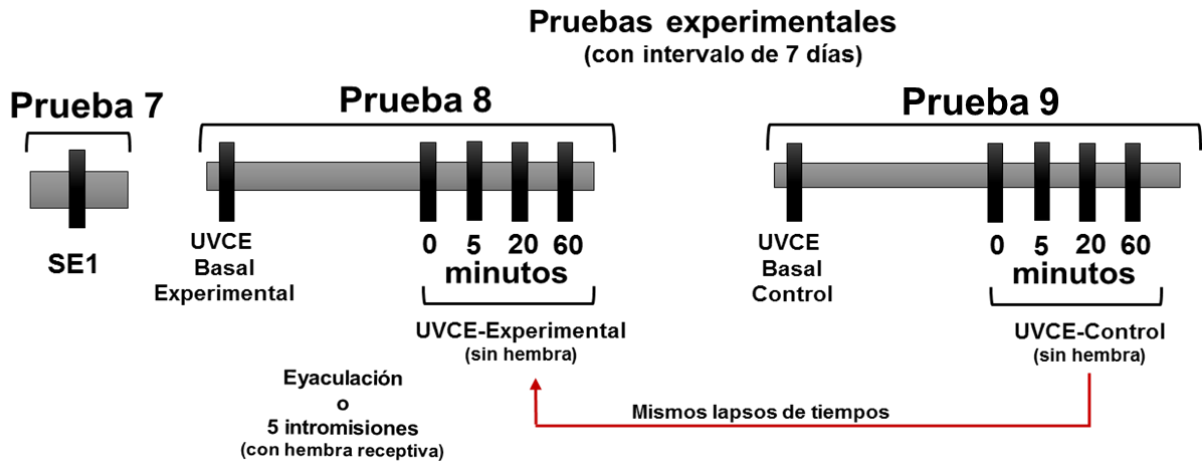


Figura 10. Diseño de experimentos 2 y 3. Los rectángulos grises representan las pruebas experimentales. Los rectángulos negros representan las pruebas a que fueron sometidos las ratas macho; Serie Eyaculatoria 1 (SE1); Umbral de Vocalización al Choque Eléctrico (UVCE).

7.5. Análisis estadístico

En cada fenotipo eyaculatorio se comparó el UVCE evaluado en 4 tiempos diferentes, durante la misma prueba. Se ocupó la prueba de Friedman, para medidas repetidas no paramétricas, seguida de Bonferroni corregida, como post-hoc. El nivel de significancia fue de $p < 0.05$.

La comparación entre fenotipos eyaculatorios del parámetro de UVCE, así como de los parámetros copulatorios se utilizó la prueba para datos no paramétricos de Kruskal-Wallis, seguida de U de Mann-Whitney corregida, como post-hoc. El nivel de significancia fue de $p < 0.05$.

La comparación entre el UVCE-Experimental (UVCE con hembra) y UVCE-Control (sin hembra), se realizó con una prueba para datos no paramétricos de “U de Mann-Whitney”, $p < 0.05$.

Se realizó la correlación de Spearman para evaluar la correlación entre los datos UVCE con los parámetros copulatorios. El nivel de significancia fue de $p < 0.05$.

8. RESULTADOS

8.1. Pruebas copulatorias de entrenamiento sexual

Durante las pruebas del entrenamiento copulatorio se registró la LE y se promediaron las 4 últimas pruebas para agrupar a los machos en fenotipo rápido, intermedio o lento. Una vez realizado esto, se obtuvo la media±error estándar de los fenotipos rápido, intermedio y lento, de los machos experimentales, que fueron de 223.95 ± 16.95 , 798.16 ± 155.99 y 1742.67 ± 109.78 , respectivamente. En la figura 11 se muestra la distribución de la LE de todos los machos de fenotipo rápido (n=21), intermedio (n=20) y lento (n=8). La LE se registró durante las pruebas de entrenamiento (1-6) y las pruebas experimentales (7-9). Se puede observar que a partir de la prueba 3 de entrenamiento, se manifiesta el fenotipo y se mantiene, excepto en los machos de fenotipo lento que lo presentan en la prueba 7.

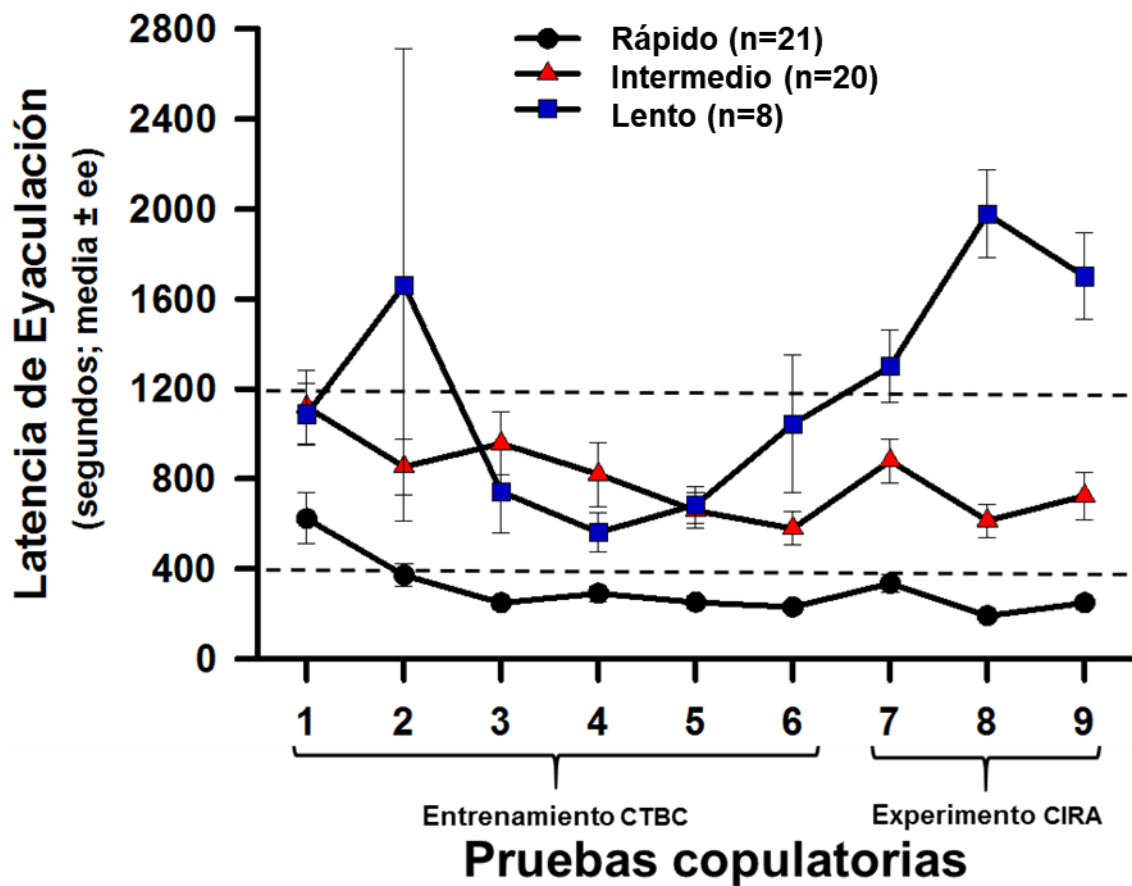


Figura 11. Latencia de eyaculación de machos rápidos, intermedios y lentos durante las pruebas de entrenamientos (1-6) y las pruebas experimentales (7-9). Los machos rápidos e intermedios mantienen su latencia de eyaculación después de la prueba 3. Los machos de fenotipo lento manifiestan su latencia eyaculación hasta la prueba 7. Las líneas punteadas acotan la duración mínima y máxima de las latencias de eyaculación según los fenotipos copulatorios: rápido, intermedio y lento (223.95 ± 16.95 , 798.16 ± 155.99 , 1742.67 ± 109.78 segundos; respectivamente). Se expresa la media \pm error estándar.

8.2. Experimento 1. Efecto del fenotipo eyaculatorio sobre el UVCE durante dos series eyaculatorias y en sus respectivos intervalos post-eyaculatorios

Se evaluó el porcentaje de cambio de UVCE de todos los machos, rápido+intermedio+lento (n=34) mostraron significativamente mayor porcentaje de cambio en la SE1 [$Z_{(1, 47)}=5.45$; $p=0.001$], SE2 [$Z_{(1,47)}=3.07$; $p=0.001$], IPE1 [$Z_{(1, 47)}=5.47$; $p=0.001$] e IPE2 [$Z_{(1, 47)}=2.59$; $p=0.009$], respecto a su grupo control (Figura 12). Posteriormente, se diferenciaron estos machos en rápidos (n=21), intermedios (n=20) y lentos (n=8) y se realizaron comparaciones entre los fenotipos eyaculatorios. Los machos de fenotipo rápido muestran significativamente mayor porcentaje de cambio en la SE1 [$Z_{(1, 24)}=3.22$; $p=0.001$], SE2 [$Z_{(1, 24)}=1.92$; $p=0.050$], IPE1 [$Z_{(1, 24)}=2.50$; $p=0.011$] e IPE2 [$Z_{(1, 24)}=2.44$; $p=0.012$] respecto a los machos lentos. Así mismo, los machos rápidos mostraron mayor porcentaje de cambio en el SE1 [$Z_{(1, 26)}=2.15$; $p=0.031$] respecto a los intermedios (Figura 14). Los machos intermedios muestran significativamente mayor porcentaje de cambio en la SE1 [$Z_{(1, 27)}=1.90$; $p=0.05$], SE2 [$Z_{(1, 27)}=1.98$; $p=0.049$], e IPE2 [$Z_{(1, 27)}=2.18$; $p=0.028$] respecto a los machos lentos.

Se evaluaron los parámetros copulatorios de NI, III y LE (se evaluaron estos parámetros debido a que están relacionados con la eyaculación) de cada uno de los fenotipos en la SE1 y SE2 de la prueba 8 (prueba donde se determinó el UVCE). En la SE1 los machos de fenotipo rápidos presentan menor NI ($Z_{(1, 25)}=2.17$; $p=0.28$), III ($Z_{(1, 25)}=3.37$; $p=0.001$) y LE ($Z_{(1, 25)}=3.43$; $p=0.001$) respecto a los lentos. Además, los machos rápidos mostraron menor III ($Z_{(1, 27)}=3.56$; $p=0.001$) y LE ($Z_{(1, 27)}=3.94$; $p=0.001$) respecto a los intermedios. Los machos intermedios muestran significativamente menor LE ($Z_{(1, 27)}=4.34$; $p=0.001$) respecto a los lentos. En la SE2 los machos de fenotipo rápido presentaron menor III ($Z_{(1,25)}=2.40$; $p=0.013$) y LE ($Z_{(1, 25)}=2.87$; $p=0.002$) respecto a los lentos. Así mismo, en la SE2 los machos de fenotipo lento presentaron significativamente mayor LE respecto a los intermedios ($Z_{(1,25)}=4.06$; $p=0.001$) y rápidos ($Z_{(1,25)}=4.09$; $p=0.001$; Figura 15).

Se realizó una regresión lineal para determinar la correlación entre los parámetros copulatorios de NM, III y LE con el porcentaje de cambio de UVCE. En la figura 15 se muestra la regresión lineal del porcentaje de cambio de UVCE de la SE1 con los parámetros copulatorios de la misma

SE1 (n=59). Solo existe correlación entre el III y LE con el porcentaje de cambio de UVCE de la SE1 ($p=0.002$; $p=0.001$, respectivamente; Figura 16).

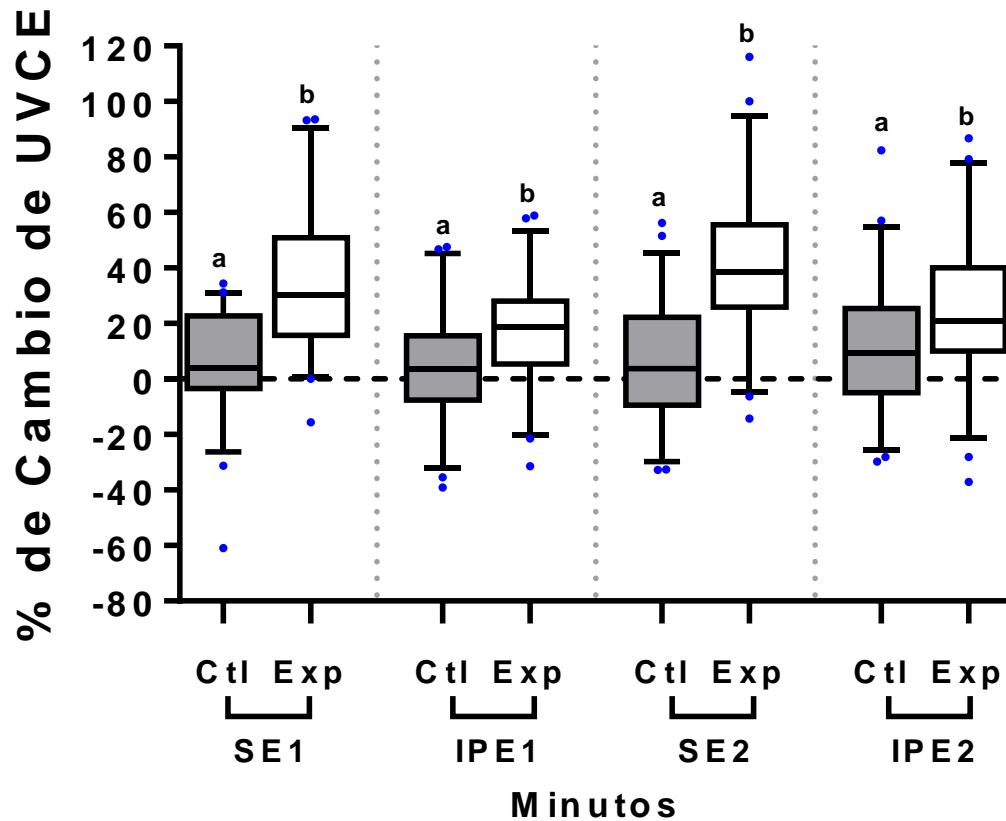


Figura 12. Umbral de vocalización al choque eléctrico (UVCE). Los machos experimentales tienen mayor UVCE respecto a los controles, en las series eyaculatorias. Sujetos experimentales, evaluados después de la primera monta y la eyaculación de cada serie eyaculatoria; sujetos control sin cópula, mismos sujetos experimentales evaluados una semana después, en los mismos intervalos de tiempo que en la prueba anterior (N=49). SE1=serie eyaculatoria 1; IPE1=intervalo post-eyaculatorio 1; SE2=serie eyaculatorias 2; IPE2=intervalo post-eyaculatorio 2. U de Mann-Whitney $p<0.05$. Letras diferentes muestran diferencias significativas. Se muestran las medianas y los rangos intercuartiles.

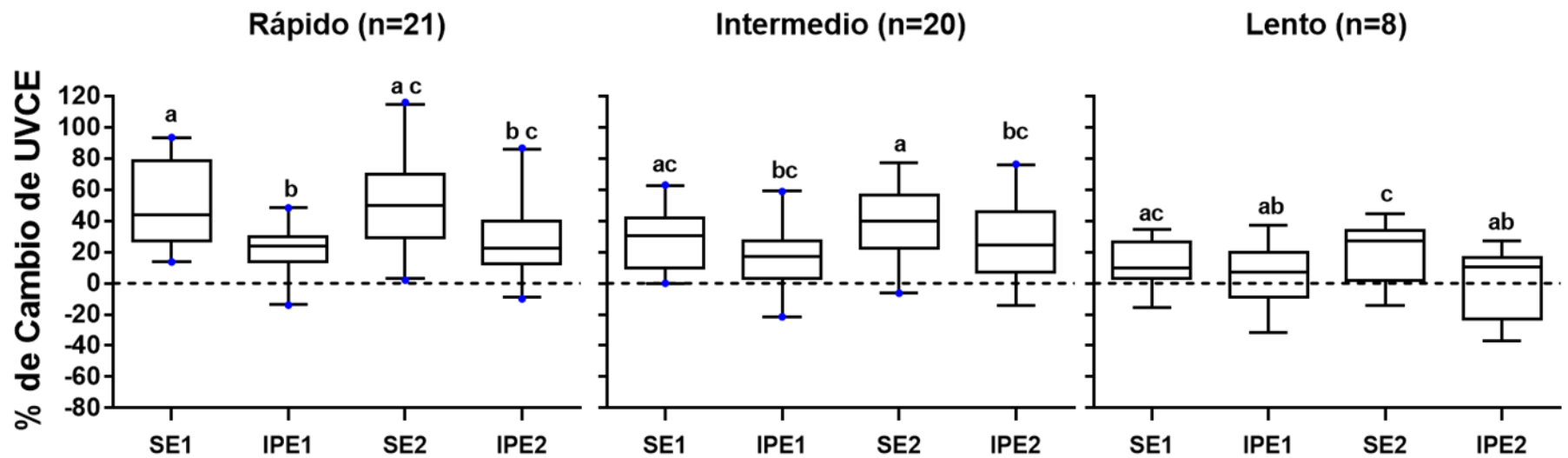


Figura 13. Umbral de vocalización al choque eléctrico (UVCE). Se evaluó el UVCE después de la primera intromisión y la eyaculación de cada serie eyaculatoria. Los tres fenotipos muestran mayor porcentaje de cambio durante sus dos series eyaculatorias respecto a los intervalos inter-intromisión. Siendo los lentos los de menor porcentaje de cambio. SE1=serie eyaculatoria 1; IPE1=intervalo post-eyaculatorio 1; SE2=serie eyaculatorias 2; IPE2=intervalo post-eyaculatorio 2. Friedman seguida de Bonferroni corregida como post-hoc $p < 0.05$. Letras diferentes muestran diferencias significativas. Se muestran las medianas y los rangos intercuartiles.

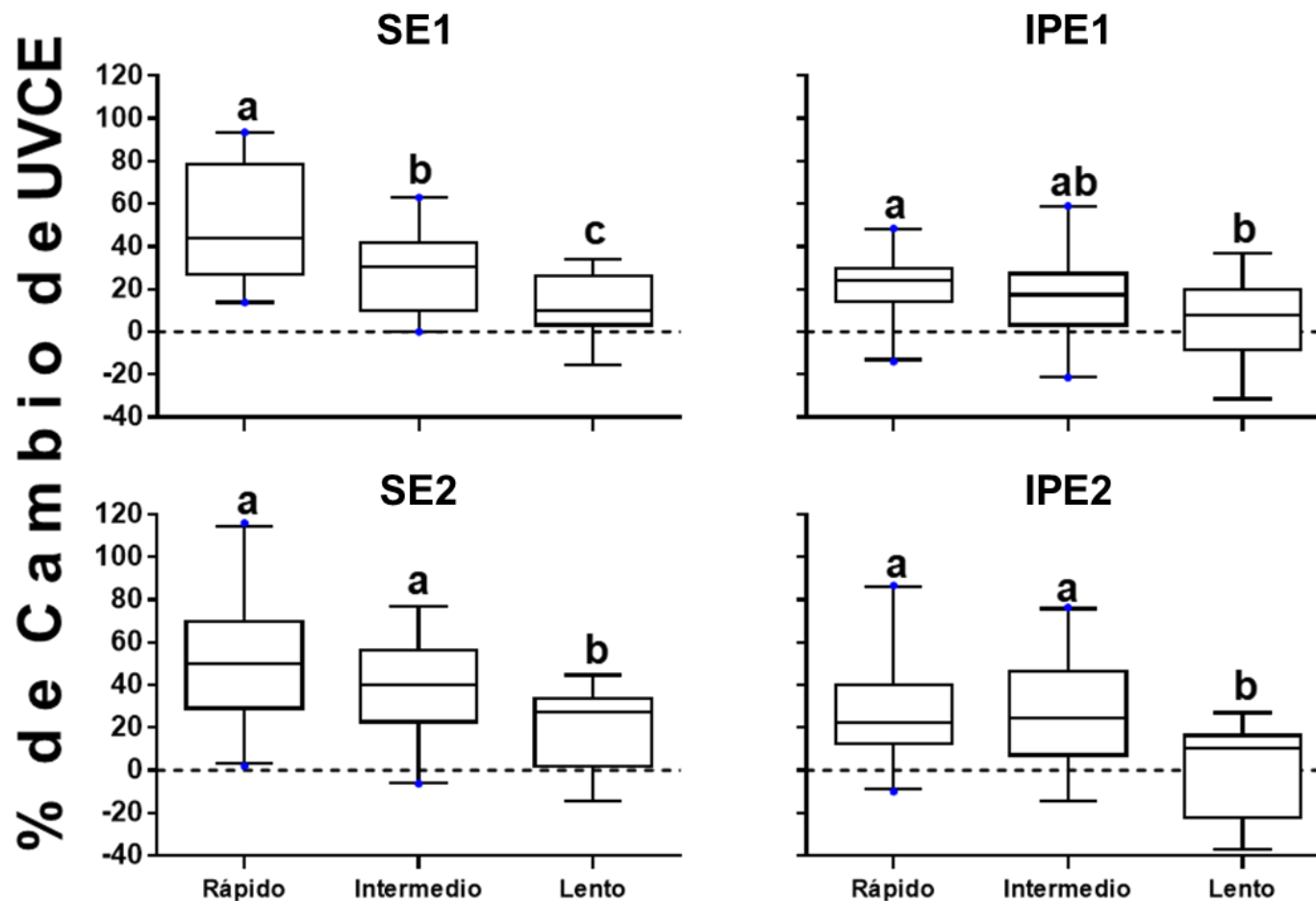


Figura 14. Umbral de vocalización al choque eléctrico (UVCE) evaluados en las series eyaculatorias 1 y 2 (SE1 y SE2, respectivamente) con sus respectivos Intervalos post-eyaculatorios (IPE1 e IPE2, respectivamente), de los fenotipos eyaculatorios rápido (n=21), intermedio (n=20) lento (n=8). Se observa diferencias significativas en la mayoría de las evaluaciones, siendo los machos de fenotipo rápido los de mayor UVCE. Parámetros obtenidos en la prueba 8, cuando se evaluó el UVCE basal y experimental. Kruskal-Wallis seguida de U de Mann-Whitney como post-hoc, $p < 0.05$. Letras diferentes muestran diferencias significativas. Se muestran las medianas y los rangos intercuartiles.

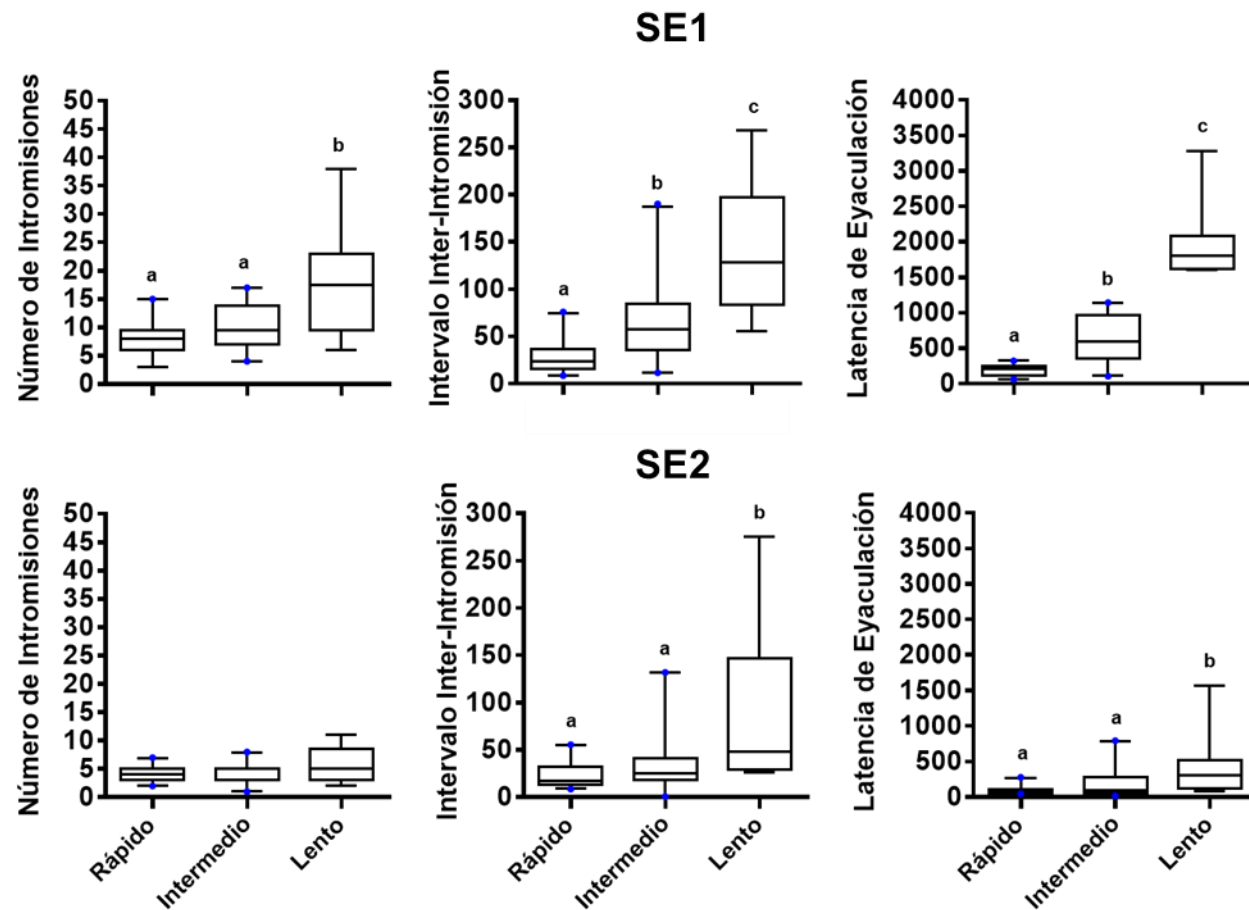


Figura 15. Parámetros copulatorios de número de montas, intervalo inter-intromisión y latencia de eyaculación de las Series Eyaculatorias 1 y 2 (SE1, SE2, respectivamente), de los fenotipos eyaculatorios rápido (n=21), intermedio (n=20) lento (n=8). Se observa diferencias significativas en la mayoría de las evaluaciones, siendo los machos de fenotipo rápido los de menor intervalo y latencia. Parámetros obtenidos en la prueba copulatoria 8, cuando se evaluó el UVCE basal y experimental. Kruskal-Wallis seguida de U de Mann-Whitney como post-hoc, $p < 0.05$. Letras diferentes muestran diferencias significativas. Se muestran las medianas y los rangos intercuartiles.

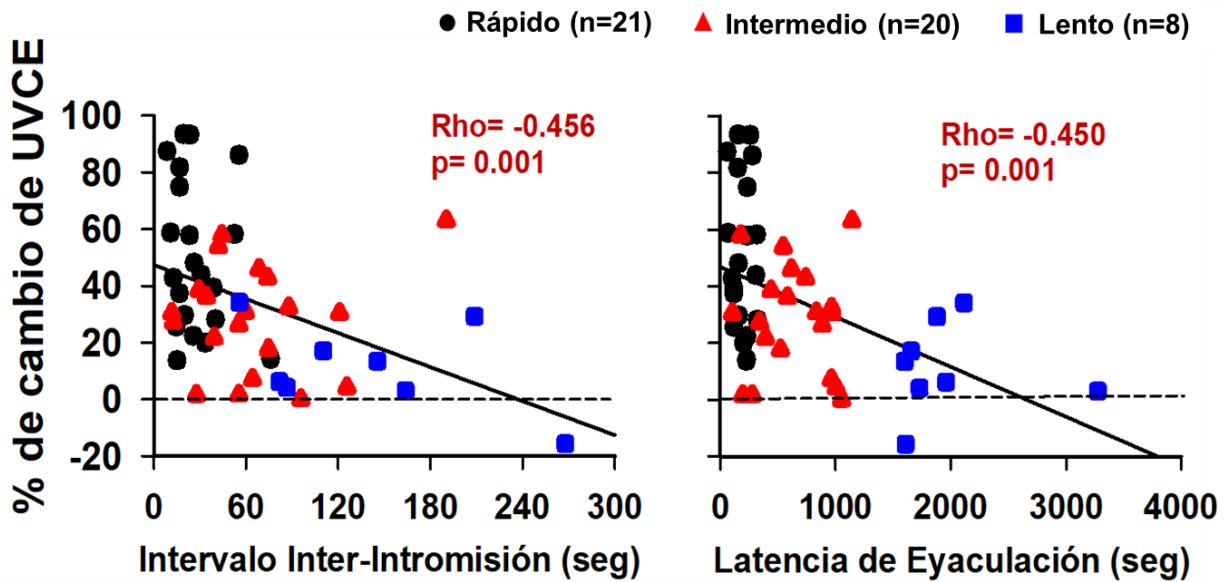


Figura 16. Correlación de Spearman de los parámetros copulatorios de intervalo inter-intromisión y latencia de eyaculación con el porcentaje de cambio del Umbral de Vocalización al Choque Eléctrico (UVCE), de la Serie eyaculatoria 1. Datos de todos los sujetos experimentales (n=49). Existe correlación entre LE e III con el porcentaje de cambio de la SE1. Se muestran con puntos negros los machos de fenotipo rápido; triángulo rojo, fenotipo intermedio; cuadro azul, fenotipo lento.

8.3. Experimento 2: UVCE después de 5 intromisiones, en machos de diferente fenotipo eyaculatorio

Se evaluó el porcentaje de cambio del UVCE a los 0, 5, 20, y 60 minutos después de 5 intromisiones, de todos los machos sin identificar fenotipos eyaculatorios. Se observó mayor porcentaje de cambio de los experimentales respecto a los controles solamente a los 0 minutos después de las 5 intromisiones [$Z_{(1, 26)}=3.102$; $p=0.002$; Figura 17]. Posteriormente se realizó una comparación en los diferentes tiempos entre los machos de fenotipo eyaculatorio rápido ($n=9$), intermedio ($n=6$) y lento ($n=8$), no hubo diferencias significativas (Figura 18). Así mismo, en cada fenotipo copulatorio se comparó el porcentaje de cambio entre las cuatro evaluaciones hechas a los diferentes tiempos. Los machos de fenotipo rápido mostró menor porcentaje de cambio a los 60 minutos respecto a los 0, 5 y 20 minutos [$Z_{(1, 8)}=1.722$; $p=0.005$; $Z_{(1, 8)}=1.440$; $p=0.018$; $Z_{(1, 8)}=1.944$; $p=0.001$; respectivamente]. Los machos de fenotipo intermedio solamente mostraron mayor porcentaje de cambio a los 0 minutos respecto a los 60 minutos [$Z_{(1, 8)}=2.100$; $p=0.010$]. En contraste, los machos de fenotipo lento mostraron mayor porcentaje de cambio a los 0 y 5 minutos respecto a los 60 minutos [$Z_{(1, 8)}=2.100$; $p=0.010$; $Z_{(1, 8)}=1.700$, respectivamente; $p=0.037$; Figura 19].

Se evaluó el III de las 5 intromisiones precedidas a la evaluación del UVCE de cada fenotipo eyaculatorio. Los machos de fenotipo rápido mostraron menor III que los lentos (mediana=48, máximo=56.55, mínimo=9.60; mediana=283, máximo=575.63, mínimo=112.76, respectivamente; $Z_{(1,8)}=2.76$; $p=0.017$). Así mismo, los machos de fenotipo intermedio mostraron menor III que los lentos (mediana=283, máximo=57.82, mínimo=23.90 ; mediana=283, máximo=575.63, mínimo=112.76, respectivamente; $Z_{(1,25)}=2.76$; $p=0.017$).

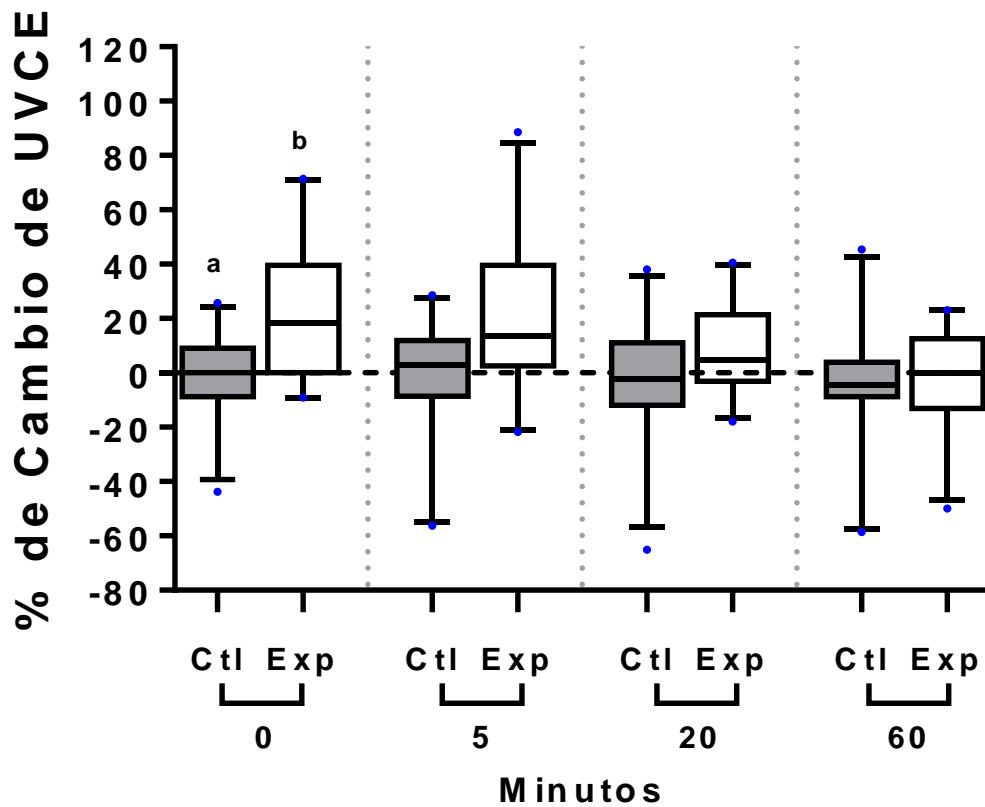


Figura 17. Umbral de vocalización al choque eléctrico (UVCE). Sujetos experimentales (Exp), evaluados a los 0, 5, 20 y 60 minutos después de 5 intromisiones; sujetos control (Ctl) sin cópula, mismos sujetos experimentales evaluados una semana después, en los mismos intervalos de tiempo que anteriormente (N=27). U de Mann-Whitney $p < 0.05$. Letras diferentes muestran diferencias significativas. Se muestran las medianas y los rangos intercuartiles.

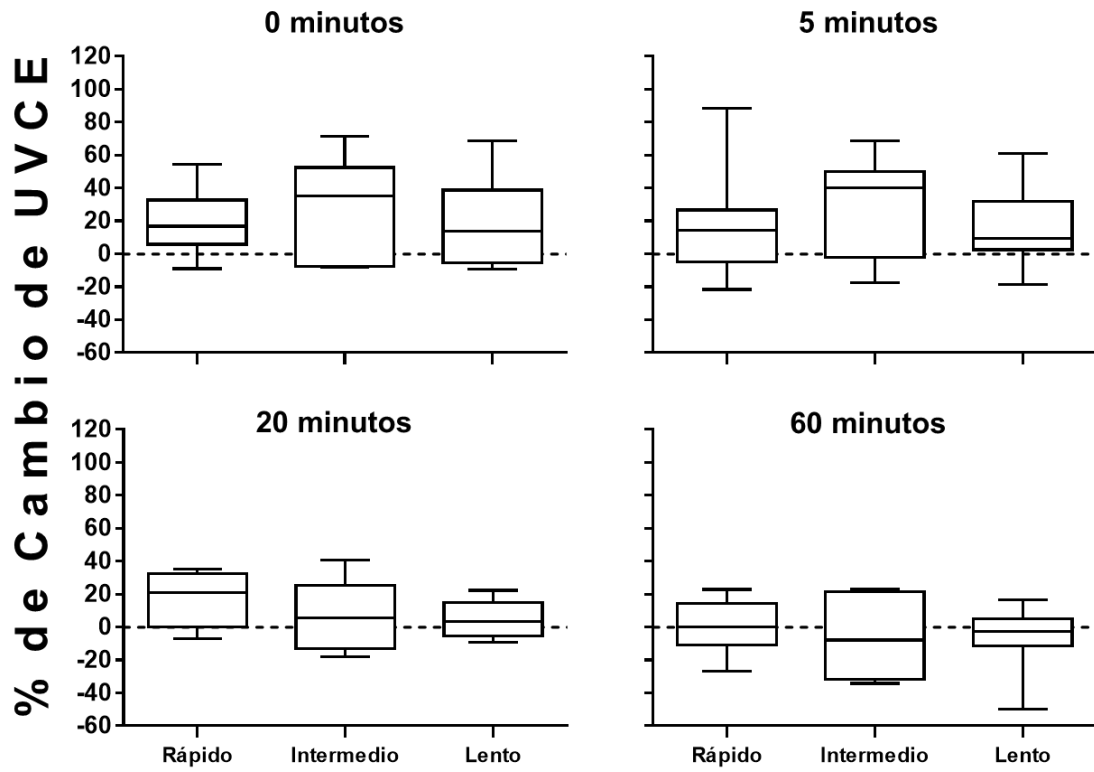


Figura 18. Umbral de vocalización al choque eléctrico (UVCE) de cada fenotipo eyaculatorio. Sujetos experimentales, evaluados a los 0, 5, 20 y 60 minutos después de 5 intromisiones; rápido (n=9), intermedio (n=9), lento (n=9). Kruskal-Wallis seguida de U de Mann-Whitney como post-hoc, $p < 0.05$. Se muestran las medianas y los rangos intercuartiles.

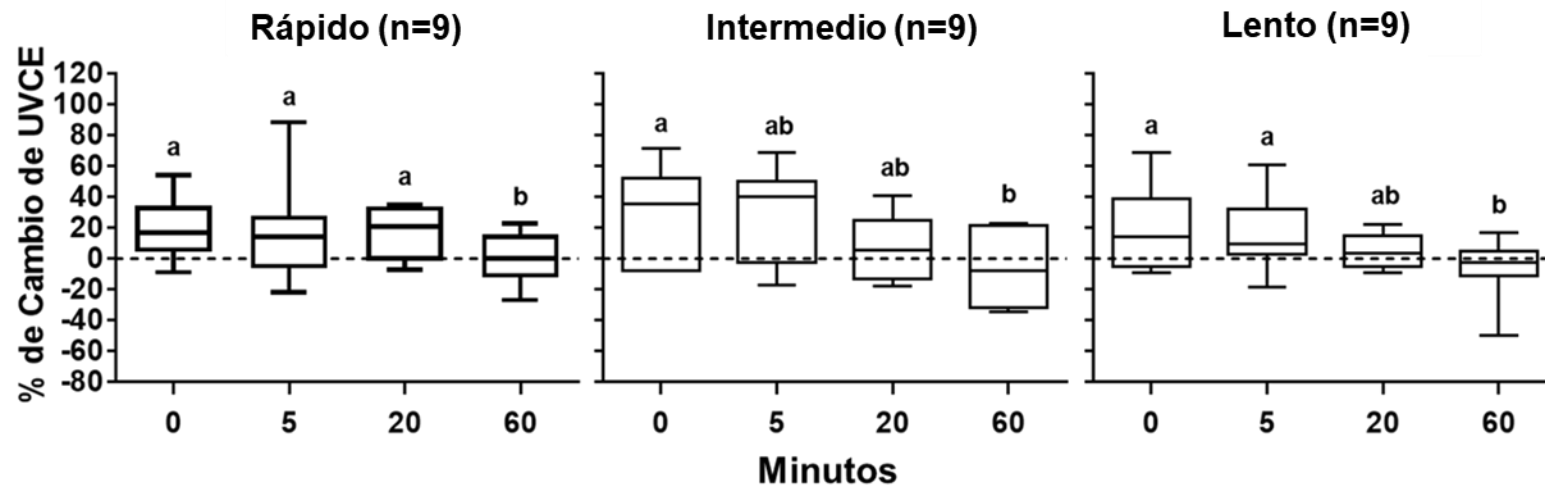


Figura 19. Umbral de vocalización al choque eléctrico (UVCE) de cada fenotipo eyaculatorio. Sujetos experimentales evaluados a los 0, 5, 20 y 60 minutos después de 5 intromisiones. Friedman seguida de Bonferroni corregida como post-hoc $p < 0.05$. Letras diferentes muestran diferencias significativas. Se muestran las medianas y los rangos intercuartiles.

8.4. Experimento 3: UVCE después de 1 eyaculación, en machos de diferente fenotipo eyaculatorio

Se evaluó el porcentaje de cambio del UVCE, después de 1 eyaculación de todos los machos sin identificar los fenotipos eyaculatorios. Se observó mayor porcentaje de cambio a los 0, 5 y 20 minutos y disminuyó significativamente a los 60 minutos respecto al grupo control [$Z_{(16)}=2.95$; $p=0.003$; $Z_{(16)}=3.62$; $p=0.001$; $Z_{(16)}=2.76$; $p=0.006$; $Z_{(16)}=1.76$; $p=0.024$; Figura 20). Al identificar los machos de fenotipo rápido ($n=18$), intermedio ($n=11$) y lento ($n=10$). Además, se comparó el porcentaje de cambio del UVCE entre los fenotipos eyaculatorios a los 0, 5, 20 o 60 minutos después de una eyaculación. Los machos de fenotipo rápido mostraron mayor porcentaje de cambio respecto a los lentos a los 5 y 20 minutos (Figura 21). Así mismo, en cada fenotipo copulatorio se comparó el porcentaje de cambio entre las cuatro evaluaciones hechas a los diferentes tiempos. Los machos de fenotipo rápido mostró menor porcentaje de cambio a los 60 minutos respecto a los 0, 5 minutos [$Z_{(1, 8)}=1.722$; $p=0.005$; $Z_{(1, 8)}=1.440$; $p=0.018$; respectivamente]. Así mismo los machos de fenotipo intermedio mostraron menor porcentaje de cambio a los 0 y 5 minutos respecto a los 60 minutos (Figura 22).

Se evaluaron los parámetros copulatorios de NI, III y LE de cada fenotipo eyaculatorio. Los machos de fenotipo rápido muestran menor LE [$Z_{(1, 26)}=2.10$; $p=0.035$] respecto a los intermedios. Además, los machos de fenotipo rápido muestran menor III [$Z_{(1, 20)}=2.68$; $p=0.004$] y LE [$Z_{(1, 20)}=3.04$; $p=0.001$] respecto a los machos de fenotipo lento. Los machos de fenotipo intermedio muestran menor III [$Z_{(1, 13)}=1.98$; $p=0.050$] y LE [$Z_{(1, 13)}=2.12$; $p=0.036$] respecto a los machos lentos (Figura 23).

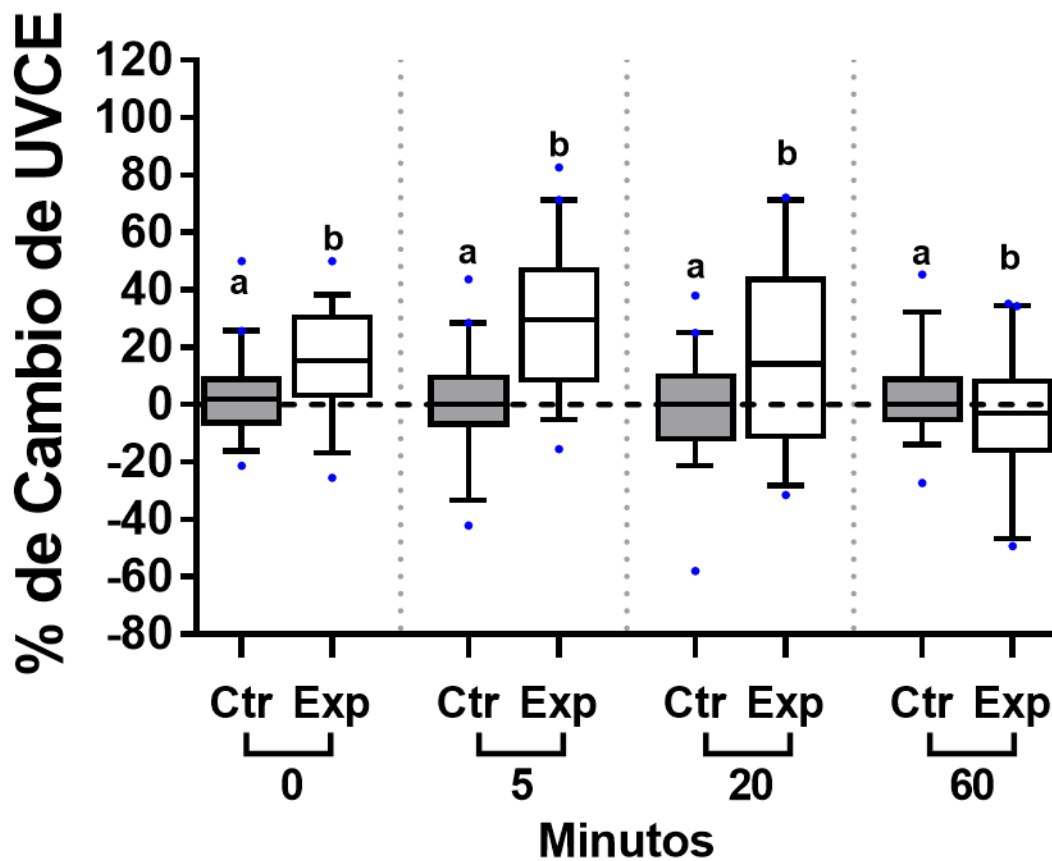


Figura 20. Umbral de vocalización al choque eléctrico (UVCE). Caja blanca: Sujetos experimentales (Exp), evaluados después de la primera eyaculación. Sujetos control: Caja Gris: (Ctl) sin cópula, mismos sujetos experimentales evaluados una semana después, en los mismos intervalos de tiempo que anteriormente (N=39). Los sujetos experimentales evaluados a los 0, 5, 20 y 60 minutos, después de 1 eyaculación. U de Mann-Whitney $p < 0.05$. Letras diferentes muestran diferencias significativas. Se muestran las medianas y los rangos intercuartiles.

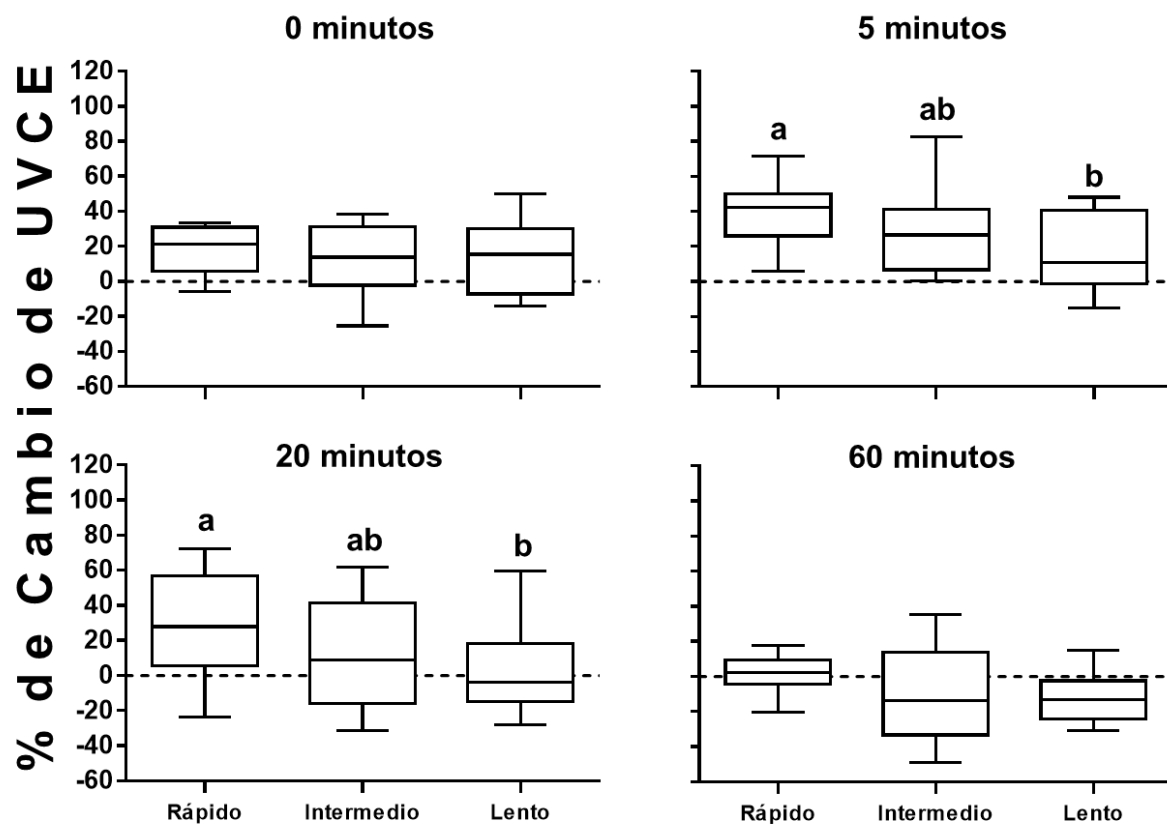


Figura 21. Umbral de vocalización al choque eléctrico (UVCE) de cada fenotipo eyaculatorio; rápido (n=18), intermedio (n=11), lento (n=10). Sujetos experimentales fueron evaluados después de la primera eyaculación a los 0, 5, 20 y 60 minutos. Comparación entre grupos experimentales, prueba Kruskal-Wallis, seguida de post-hoc Bonferroni; $p < 0.05$. Letras diferentes muestran diferencias significativas. Se muestran las medianas y los rangos intercuartiles.

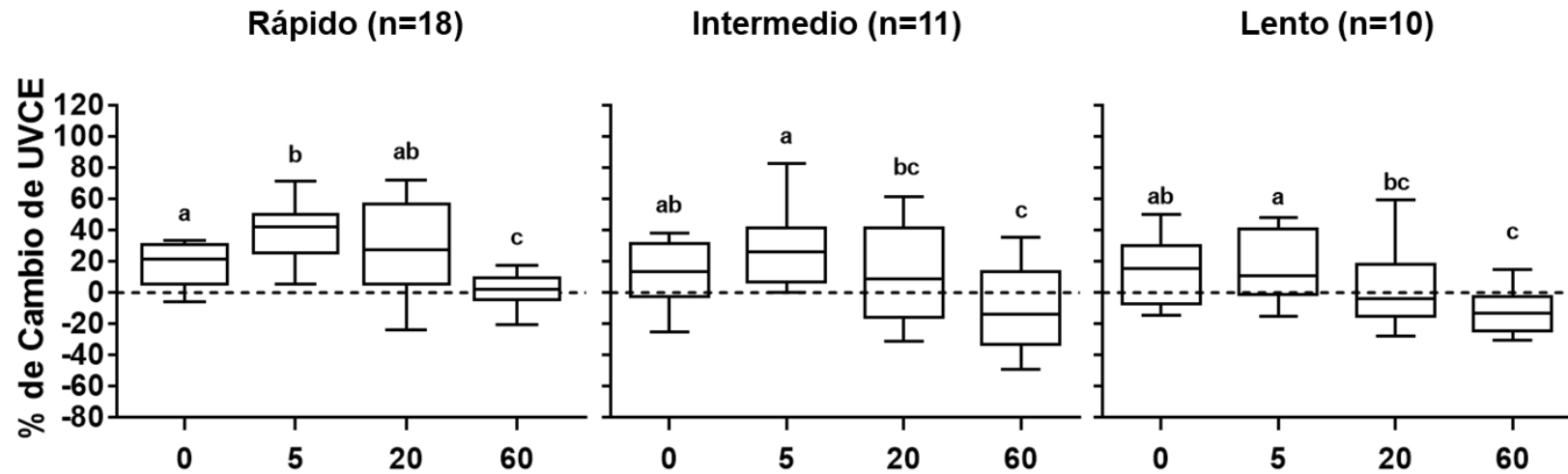


Figura 22. Umbral de vocalización al choque eléctrico (UVCE) de cada fenotipo eyaculatorio. Sujetos experimentales evaluados después de la primera eyaculación; SE1=serie eyaculatoria 1; IPE1=intervalo post-eyaculatorio 1; SE2=serie eyaculatorias 2; IPE2=intervalo post-eyaculatorio 2. Friedman seguida de Bonferroni corregida como post-hoc $p < 0.05$. Letras diferentes muestran diferencias significativas. Se muestran las medianas y los rangos intercuartiles.

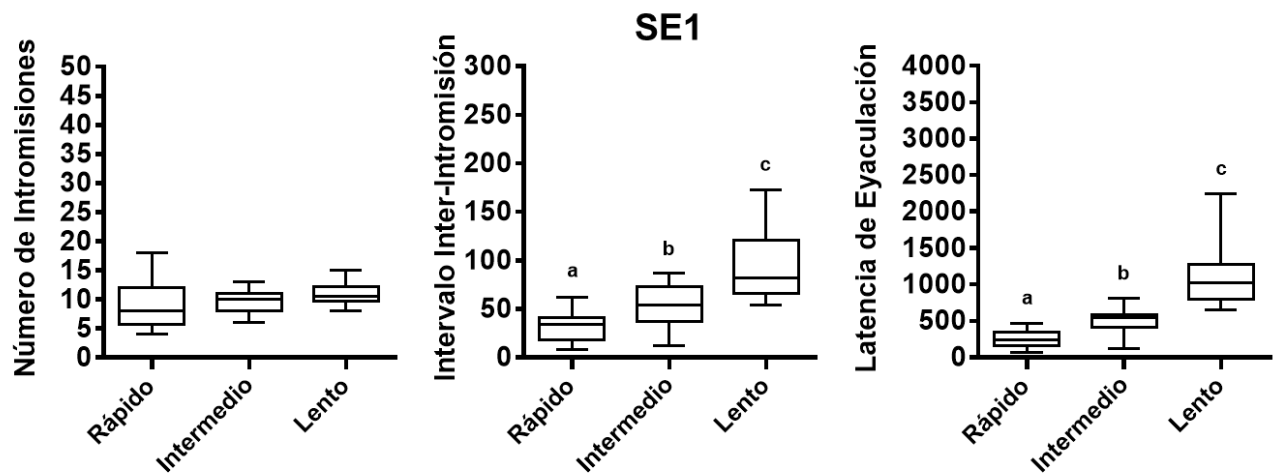


Figura 23. Parámetros copulatorios de número de montas, intervalo inter-intromisión y latencia de eyacuación de las Series Eyaculatorias 1 (SE1), de cada fenotipo eyaculatorio; rápido (n=18), intermedio (n=11), lento (n=10). Parámetros obtenidos en la prueba copulatoria 8, cuando se evaluó el UVCE basal y experimental. Kruskal-Wallis seguida de U de Mann-Whitney como post-hoc, $p < 0.05$. Letras diferentes muestran diferencias significativas. Se muestran las medianas y los rangos intercuartiles.

9. DISCUSIÓN

9.1. Experimento 1. Efecto del fenotipo eyaculatorio sobre el UVCE durante dos series eyaculatorias y en sus respectivos intervalos post-eyaculatorios

Los presentes resultados muestran que las ratas macho pertenecientes a los diferentes fenotipos eyaculatorios mostraron diferentes valores de UVCE: los eyaculadores rápidos presentaron los valores más altos. A pesar de que los machos de fenotipo lento acortaron su latencia de eyaculación en la SE2, siguieron teniendo latencia más larga que la de los otros fenotipos en EJS2. Además, el UVCE de los eyaculadores lentos fue menor que el de los eyaculadores rápidos e intermedios. Debido a que el aumento de UVCE se interpreta como un indicativo de analgesia, los eyaculadores rápidos manifestaron el nivel más alto de analgesia, presumiblemente debido a la mayor cantidad de intromisiones por unidad de tiempo.

Una posible base ontogénica para las diferencias en la latencia de la eyaculación

Algunos estudios han mostrado diferencias anatómicas relacionadas con la inervación periférica en hombres con eyaculación precoz, es decir, un mayor número de ramas del nervio dorsal del pene (Zhang y cols. 2009, 2012), el cual se ha relacionado con la mayor sensibilidad táctil (Paick y cols. 1998, Guo y cols. 2017). Así, la sección quirúrgica de algunas de esas ramas nerviosas en los hombres aumenta de la latencia eyaculatoria (Zhang y cols. 2012). Esos hallazgos sugieren que el mayor número de fibras sensoriales permiten latencias de eyaculación más corta, y que podría presentarse tanto en ratas como en humanos.

En la rata se ha observado que el lamido que la madre provee a su cría macho en las primeras etapas de la vida posnatal, favorece el desarrollo de la mielinización de las fibras sensoriales del nervio sural (Segura y cols. 2014). Por lo tanto, se ha sugerido que el lamido genital pueda estimular la mielinización del nervio dorsal del pene, es decir, la rama sensorial del nervio pudiendo. Por otro lado, si el lamido materno es deficiente se puede producir mielinización subóptima y, por lo tanto, baja sensibilidad del pene (no sabemos si estos eyaculadores recibieron lamido deficiente). En el presente trabajo no evaluamos la calidad de lamido que las crías recibieron durante su etapa de desarrollo. Considerando lo anterior, cabe la posibilidad de

que aquellas crías que recibieron mayor frecuencia de lamido materno, podrías presentar mayor sensibilidad del pene, lo que acortaría la latencia de la eyaculación en los eyaculadores rápidos. En tanto que en las ratas macho que reciben menor frecuencia de lamido genital, podrían desarrollar menor densidad dendrítica en las motoneuronas que inervan el músculo bulboesponjoso, el cual está involucrado en el patrón motor eyaculatorio (Qureshi y Södersten 1986). Así mismo, existen otras evidencias que muestran la importancia de los lamidos que reciben las crías sobre las erecciones ex cópula. Por ejemplo, menor número de lamidos genitales provocan menor número de erecciones peneanas (Lenz y cols. 2008). Por lo tanto, podríamos especular que los machos de fenotipo rápido recibieron más lamidos genitales durante el período postnatal temprano que los machos intermedios o lentos.

Participación de neurotransmisores sobre la analgesia inducida por la cópula masculina

El grado de analgesia copulatoria se ha relacionado con la estimulación sexual que se produce durante las intromisiones sucesivas las cuales provocan que se produzca un aumento del umbral al dolor. La estimulación genital durante las montas y las intromisiones aumentaron la estimulación sexual y también disminuyeron la percepción del dolor (González-Mariscal y cols. 1992). Se ha mostrado que varios neurotransmisores (e.g., GABA, serotonina y opioides) están implicados en la conducta copulatoria masculina (Fernández-Guasti y cols. 1986, Hull y cols. 1986, Qureshi y Södersten 1986, Agmo y Paredes 1988, González-Mariscal y cols. 1992, Olivier y cols. 2006, Veening y Coolen 2014) y en los procesos analgésicos (Basbaum 1978, 2009, Szechtman y cols. 1981, González-Mariscal y cols. 1994, Sawynok 1987). Por ejemplo, la serotonina puede facilitar la expresión de la conducta copulatoria ya que la administración de agonistas del receptor 5-HT-1A (8-OH-DPAT, buspirona y flexinosan) redujo la latencia de la eyaculación (Waldinger 2002). Además, la metisergida (antagonista de serotonina), redujo la analgesia inducida por la cópula (González-Mariscal y cols. 1994). Por lo tanto, las intromisiones peneanas pueden incrementar la liberación de serotonina lo cual contribuye a la analgesia copulatoria. Por otro lado, después de la eyaculación, también se liberan los opioides lo que sugiere su participación en la recompensa inducida por la cópula (Agmo y Berenfeld 1990). Así la administración de morfina (agonista opioide no selectivo) redujo la latencia de la eyaculación (Agmo y Paredes 1988). Este dato sugiere que el efecto inductor de recompensa de

los opioides ocurre simultáneamente con la analgesia inducida por la cópula (Szechtman y cols. 1981, Forsberg y cols. 1987, González-Mariscal y cols. 1994). Se podría especular que los eyaculadores rápidos podrían desarrollar más receptores opioides y / o mayor liberación de opioides que los eyaculadores lentos, lo que contribuye a su latencia de eyaculación más corta y al grado más alto de analgesia (Agmo y Paredes 1988, González-Mariscal y cols. 1994).

Está bien establecido que la cópula genera un estado gratificante que es modulado por el sistema dopaminérgico mesolímbico. Así, cuando los endocannabinoides se liberan por cópula se activan dicho sistema que además se provoca la co-liberación de dopamina (Lupica y Reigel 2005). Además, la administración de anandamida (otro endocannabinoides) facilitó la expresión de la conducta tanto en varones normales sexualmente activos así como en los machos que presentan un comportamiento sexual lento ya que se redujo la latencia de la eyaculación (Rodríguez-Manzo y Canseco-Alba 2015). Se podría proponer que los endocannabinoides al actuar sobre los receptores CB1 presentes en la médula espinal y otras estructuras del sistema nervioso central, facilitan el comportamiento sexual masculino y también participa en la analgesia (Rice y cols. 2002).

La actividad sensorial generada en la región genital durante la cópula produce analgesia copulatoria (González-Mariscal y cols. 1994). La serotonina se libera en la médula espinal mediante fibras descendentes de las neuronas del rafe (Sorkins y cols. 1993). El núcleo del rafe produce analgesia en respuesta a la estimulación eléctrica (Hammond y cols. 1980), y su frecuencia de disparo aumenta durante la excitación sexual asociada con el inicio de la cópula (Jacobs 1987). Además, las neuronas espinales liberadoras de opioides (Gintzler y cols. 1983) y de GABA (Roberts y cols. 1986) se activan cuando se estimulan los nervios de las estructuras pélvicas. La liberación de GABA producida por la eyaculación (Lupica y Riegel 2005) podría inhibir tanto el comportamiento sexual, es decir, dando lugar al período refractario como la respuesta al dolor. El equilibrio entre estos dos efectos podría diferir entre los fenotipos de eyaculadores. La región preóptica media juega un papel crítico en el control de la conducta sexual masculina (Sachs y cols. 1976); se proyecta hacia la sustancia gris periacueductal en el mesencéfalo, que se proyecta hacia el núcleo paragigantocelular en la protuberancia, desde

donde descienden fibras hacia los núcleos espinales que controlan la eyaculación (Mantyh 1982). La sustancia gris periacueductal también modula la sensibilidad al dolor y es neuroquímicamente heterogéneo (Moss y Basbaum 1983), esta heterogeneidad podría contribuir a la variabilidad de los fenotipos eyaculatorios.

Durante la cópula, la estimulación genital es transmitida por el nervio dorsal del pene sensorial a la médula espinal sacra (McKenna y Nadelhaft 1985). La información sensorial de la médula espinal llega a las neuronas oxitocinérgicas del núcleo paraventricular del hipotálamo (Swanson y Kuypers 1980). Esas neuronas se proyectan directamente a través de fibras descendentes hacia la médula espinal lumbosacra (Swanson y Kuypers 1980) liberando oxitocina que facilita la erección del pene (Véronneau-Longueville y cols. 1999, Argiolas y Melis 2004, Baskerville y cols. 2009). Por otro lado, la oxitocina también induce analgesia (Rojas-Piloni y cols. 2007, González-Hernández y cols. 2014). La oxitocina media la analgesia producida por la cópula en ratas macho (Futagami y cols. 2016). Es probable que exista una liberación significativa de oxitocina en la médula espinal de los eyaculadores rápidos.

Las intromisión peneana más que la eyaculación, es la principal responsable en la inducción de la analgesia que es mediada por la oxitocina central (Futagami y cols. 2016). En el presente estudio, en donde se evaluó el UVCE durante la cópula, encontramos que el umbral del dolor se incrementó durante la conducta copulatoria intensa, es decir, en la SE1 de los machos rápidos y en la SE2 de los machos rápidos e intermedios. Existe la posibilidad de que la estimulación sexual aumente rápidamente en los eyaculadores rápidos debido al intervalo de inter-intromisión que es más corto en SE1, ya que podría existir que se desarrollaran más ramas del nervio genital sensitivo y a la activación de más de neuronas oxitocinérgicas en el núcleo paraventricular y, en consecuencia, más liberación de oxitocina. Durante la SE2, los machos rápidos e intermedios presentaron UVCE similar. En este caso, quizás la estimulación sexual acumulada de la SE1 facilitó la liberación de oxitocina de más neuronas, produciendo así niveles comparables de analgesia entre ellas.

Los primeros estudios de analgesia inducida durante la cópula fueron realizados en ratas hembra por Komisaruk y Larsson (1971, en respuesta a la estimulación vagino-cervical producida de manera artificial. Este estímulo también produjo liberación de oxitocina en la médula espinal (Sansone y cols. 2002, Komisaruk y Sansone 2003). De acuerdo con este hallazgo, la analgesia por estimulación vagino-cervical inducida naturalmente durante el apareamiento se redujo con la administración de un antagonista del receptor de oxitocina, el atosiban, indicando que la analgesia inducida por la cópula está regulada por la oxitocina endógena también en ratas hembra (Gómora y cols. 2019).

9.2. Experimento 2: UVCE después de 5 intromisiones, en machos de diferente fenotipo eyaculatorio

Los resultados del experimento 1 corroboraron que la cópula aumenta los valores UVCE, sugiriendo la presencia de la analgesia copulatoria. Además, se mostró que los machos de fenotipos rápidos son los que presentan la mayor analgesia, seguida de los machos intermedios. En el presente experimento encontramos que 5 intromisiones son suficientes para que la rata aumente sus valores de UVCE respecto al grupo control a los 0 minutos posteriores a las 5 intromisiones (sin distinción de los fenotipos eyaculatorios). Sin embargo, a los 5, 20 y 60 minutos posteriores a las 5 intromisiones no hubo diferencias significativas, entre machos controles y experimentales. Así mismo, no se encontraron diferencias significativas al distinguir los fenotipos eyaculatorios (rápido, intermedio y lento) y compararlos entre sí en los diferentes lapsos de tiempo (0, 5, 20 y 60 minutos). Al realizar las comparaciones intragrupal se observó mayor mantenimiento del aumento del UVCE, de los 0 a los 20 minutos posteriores a las 5 intromisiones, en los machos rápidos respecto a los demás fenotipos. A pesar de encontrar diferencias en el III entre los fenotipos no hubo diferencias significativas en el UVCE. Esto indica que la ejecución de 5 intromisiones no es suficiente para observar aumentos significativos de los umbrales al dolor entre los fenotipos eyaculatorios.

Anteriormente, se mencionó que la actividad sexual es favorecida por los neurotransmisores de GABA, 5-HT, opioides y dopamina (Fernández-Guasti y cols. 1986, Hull y cols. 1986, 2004 Qureshi y Södersten 1986, Agmo y Paredes 1988, González-Mariscal y cols. 1992, Olivier y

cols. 2006, Veening y Coolen 2014), mismos que participan en los procesos analgésicos (Basbaum 1978, 2009, Szechtman y cols. 1981, González-Mariscal y cols. 1994, Sawynok 1987). Se ha mostrado que la dopamina en el tracto mesolímbico activa conductas motivadas, incluida la cópula. Existen tres sistemas principales en el control de la motivación sexual, respuestas motoras genitales y somatomotoras en la rata macho. Estos sistemas se activan con la liberación de dopamina, causada por la presencia de una hembra receptiva. El sistema nigroestriatal fue el primero involucrado en la regulación del despliegue motor en responder a los estímulos sexuales; el segundo sistema es el mesolímbico el cual es fundamental para la expresión de la conducta y el refuerzo del apetito, mientras que el último en ser involucrado fue el área preóptica medial, el cual contribuye en desplegar los reflejos genitales, así como a la motivación sexual y los patrones motores copulatorios (Hull 1995, Hull y cols. 2002). Además, la testosterona al actuar sobre sus receptores localizados en esa área, aumenta la síntesis de óxido nítrico que a su vez aumenta la liberación de dopamina basal, proceso que induce la facilitación de la cópula y los reflejos genitales (Hull y cols. 2002, 2004). Además, la administración de un inhibidor de recaptura de dopamina (GBR-12935) en la corteza insular, aumentó el umbral al dolor ante un estímulo nocivo térmico y disminuyó la expresión de c-Fos en la médula espinal (Burkey y cols 1999), sugiriendo que la dopamina participa en la analgesia copulatoria.

Se ha mostrado que la administración de inhibidores de la recaptura de serotonina acorta la latencia de eyaculación más no modifica el número de intromisiones (Waldinger 2002, Olivier y cols. 2006). Además, la administración de un antagonista de serotonina (metisergida) redujo la analgesia inducida por la cópula (González-Mariscal y cols. 1994). Por lo tanto, es probable que las intromisiones incrementen la liberación de serotonina en ratas macho, lo que puede contribuir en que se presente analgesia inducida por la cópula. El no haber encontrado diferencias estadísticas entre los fenotipos eyaculatorios, que ejecutaron 5 intromisiones podría deberse a que no se produjeron cambios endógenos significativos en los neurotransmisores que participan en la analgesia. El hecho de que los machos, con un fenotipo rápido, presenten por mayor tiempo un aumento del UVCE, podría deberse a que la recaptura de los neurotransmisores, relacionados con la analgesia, se produzca con mayor lentitud respecto a los otros fenotipos.

9.3. Experimento 3: UVCE después de 1 eyaculación, en machos de diferente fenotipo eyaculatorio

Los resultados de los previos experimentos mostraron que los machos de fenotipo rápido presentaron el mayor aumento del UVCE, durante las SE1 y SE2. Además, los machos que lograron tener 5 intromisiones, aumentaron sus valores de UVCE, sin mostrar diferencias significativas en las comparaciones intergrupales. Sin embargo, el análisis de las comparaciones intragrupalas mostró que los machos rápidos mantenían por mayor tiempo el incremento del UVCE, cuando se compararon con los demás fenotipos. En el presente experimento también mostró que la eyaculación produce aumento de UVCE manteniéndose hasta los 20 minutos posteriores (sin distinción de fenotipos eyaculatorios). Una vez que se distinguieron los fenotipos eyaculatorios y se realizaron las comparaciones intergrupales, se observó que los machos rápidos muestran mayor UVCE a los 5 y 20 minutos, después de la eyaculación, respecto a los machos lentos. Mientras que las comparaciones intragrupalas del UVCE de los tres fenotipos eyaculatorios (rápido, intermedio y lento) presentan el mayor aumento del UVCE a los 5 minutos después de la eyaculación. Por lo tanto este aumento del UVCE sugiere la existencia de un proceso analgésico (González-Mariscal y cols. 1992). El hecho de que los machos rápidos mostraran el menor III indica que se produjo una mayor cantidad de intromisiones por unidad de tiempo lo que fortalece la hipótesis de que la frecuencia de intromisiones corta favorece el aumento de la analgesia copulatoria.

Trabajos anteriores han mostrado alteraciones en la sensibilidad al dolor asociadas con la actividad sexual (Saldívar-González 1994, Forsberg y cols.1987, Szechtman y cols. 1979, González-Mariscal 1992, 1994). Sin embargo, en esos trabajos no se han relacionado los umbrales del dolor con los diferentes fenotipos eyaculatorios, i.e., rápido, intermedio y lento. Así mismo, se ha mostrado que la actividad de eyaculación afecta la sensibilidad al dolor mediante la activación de los incrementos en la activación del mecanismo GABAérgico (Qureshi y Södersten 1986) o de opioides (Forsberg y cols. 1987, González-Mariscal y cols. 1994), inclusive de la serotonina (González-Mariscal y cols. 1994). En resumen, la estimulación genital debida a la erección del pene y su inserción en la vagina, durante la cópula, contribuye

a que suceda la presencia de la analgesia copulatoria (Forsberg y cols. 1987, González-Mariscal y cols. 1994). Nuestros datos apoyan dicha hipótesis, ya que los machos de fenotipo rápido presentan tanto un mayor número de intromisiones en corto tiempo así como del porcentaje de UVCE. Así el neurotransmisor inhibitor GABA, se encuentra presente en grandes concentraciones en el asta dorsal (Miyata y Otsuka 1972, Curtis y Johnston 1974), en donde regula la información nociceptiva en la médula espinal. Además, la eyaculación resulta en la liberación de GABA en el líquido cefalorraquídeo (Qureshi y Södersten 1986) inhibiendo brevemente la cópula después de la eyaculación (Fernández-Guasti y cols. 1986), también induciendo analgesia (Sawynok 1987). Además, se ha mostrado que la infusión directa de GABA en el área preóptica media tiene poco efecto sobre la cópula, produciendo solo un ligero aumento en la latencia de intromisión (Fernández-Guasti y cols. 1986). Mientras que la infusión del antagonista de GABA_A en el área preóptica media facilitó la conducta sexual en ratas castradas tratadas con testosterona (Fernández-Guasti y cols. 1986), acortó el intervalo inter-intromisión, la latencia de la eyaculación y el intervalo posteyaculatorio (Fernández-Guasti y cols. 1985). Es probable que los machos de fenotipo rápido presenten mayor liberación o mayor número de receptores a GABA lo que les facilitaría la conducta sexual, produciendo la mayor analgesia copulatoria, Además, ayudará a mantener durante más tiempo esta analgesia, después de la eyaculación, respecto a los machos lentos.

González-Mariscal y cols. 1994, sugieren que las fibras serotoninérgicas descendentes, posiblemente se activen por las descargas neuronales del área preóptica media durante la cópula, contribuyendo al aumento del UVCE (analgesia copulatoria). La serotonina es un neurotransmisor principalmente inhibitor dependiendo del tipo de receptor que active, por ejemplo, la estimulación de los receptores 5-HT_{2C} aumenta las erecciones e inhibe la eyaculación, mientras que la estimulación de los receptores 5-HT_{1A} tiene los efectos opuestos: facilita la eyaculación y, en algunas circunstancias, inhibe la erección (Klint y Larsson 1995, Waldinger 2002). Además, la 5-HT se libera en el hipotálamo lateral anterior en el momento de la eyaculación (Hull y cols. 2004). Nuestros resultados sugieren que el alto UVCE que presentan los machos rápidos es debido a la activación frecuente del sistema serotoninérgico el cual es facilitando por la cópula y así incrementando la analgesia por la cópula. Este efecto tiene mayor

duración en los machos con fenotipo rápido, respecto a los lentos, ya que se puede especular que el sistema nervioso de esos machos, los rápidos, tardaría mayor tiempo en recapturar a todos o quizá algunos de los neurotransmisores mencionados. Hacen falta más estudios farmacológicos en relación con los fenotipos eyaculatorios con la analgesia copulatoria para conocer más al respecto.

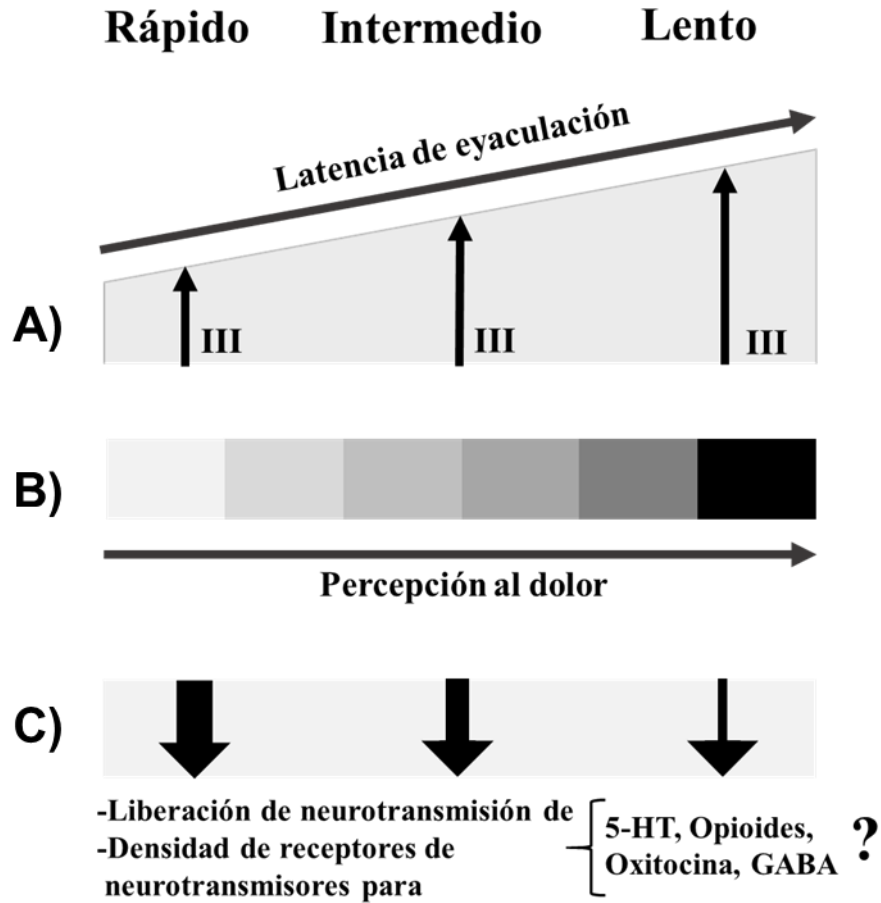


Figura 24. Esquema hipotético para explicar la analgesia copulatoria. A) Los eyaculadores rápidos mostraron el III más corto y los machos lentos el III más largo, lo que indica una mayor actividad sexual por parte de los primeros. B) Los eyaculadores rápidos presentaron la mayor analgesia copulatoria en comparación con los machos lentos. C) Los eyaculadores rápidos tuvieron la analgesia más alta y la latencia de eyaculación más corta, posiblemente relacionada con su nivel relativamente más alto de liberación de 5-HT, opioides, oxitocina, GABA y/o densidad de los receptores correspondientes. III=Intervalo inter-intromisiones (modificado de Aguilar-Pérez y cols. -en línea antes de imprimir-).

10. CONCLUSIONES

Los impulsos sensoriales de las estructuras genitales internas y externas durante la cópula generan analgesia. El nivel de analgesia depende de la velocidad de la cópula en ratas macho; es decir, cuanto más corto sea el intervalo entre intromisiones, mayor será el nivel de analgesia (Fig. 24). Esto podría deberse en parte a la liberación de neurotransmisores de 5-HT, opioides, oxitocina y GABA en la médula espinal (González-Mariscal 1994, Rice y cols. 2002, Sorkins y cols. 1993, Rojas-Piloni y cols. 2007), y/o debido a una mayor densidad de los receptores correspondientes. Se requieren análisis farmacológicos futuros para comprender los procesos neuroquímicos relacionados con la analgesia copulatoria que ocurren en ratas macho con diferentes fenotipos eyaculatorios. Evolutivamente, la analgesia copulatoria de los machos rápidos podría proporcionar una ventaja adaptativa al reducir la sensación aversiva del pene lo que permitiría un mayor número de series eyaculatorias por unidad de tiempo.

11. PERSPECTIVAS

Este trabajo nos permitió conocer más detalles sobre la relación entre la analgesia copulatoria y los fenotipos eyaculatorios. Sin embargo, se originaron diversas interrogantes, por ejemplo: ¿Qué neurotransmisores inducen el mayor UVCE en los machos rápidos respecto los demás fenotipos eyaculatorios? Se requieren realizar estudios administrando agonistas o antagonistas a los neurotransmisores relacionados con la analgesia copulatoria. Esto para identificar si modifican el UVCE así como la latencia de eyaculación, lo que sugeriría la participación de tal neurotransmisor en ambos aspectos.

Otra interrogante, es saber ¿qué áreas nerviosas están involucradas en la diferencia del UVCE entre los machos de distintito fenotipo eyaculatorio? Esto podría responderse mediante técnicas inmunohistoquímicas que se podrían realizar posterior a la cópula y la evaluación del UVCE. Se podría registrar la expresión de c-fos en la médula espinal, área preóptica media o sustancia gris periacueductal que están relacionadas tanto en la analgesia como en la cópula. Existe otra técnica llamada resonancia magnética funcional, que permite ver la actividad de las redes

nerviosas. Alguna de estas técnicas nos permitirá conocer si existen diferencias nerviosas entre los machos de diferente fenotipo eyaculatorio.

En nuestro laboratorio de ha observado que el “pacing” femenino, así como la competencia intra-sexual, modifica los fenotipos acortando o alargando las latencias eyaculatorias, respectivamente. Teniendo este antecedente surge la siguiente pregunta ¿la modificación del fenotipo por pacing o competencia intra-sexual cambiará las diferencias del UVCE? Esto nos podría indicar indirectamente, diferencias neuroquímicas y/o anatómicas entre los fenotipos eyaculatorios.

12. REFERENCIAS

- Agmo A y Berenfeld R (1990). Reinforcing properties of ejaculation in the male rat: role of opioids and dopamine. *Behavioral Neuroscience*. 104: 177-182.
- Agmo A y Paredes R (1988). Opioids and sexual behavior in the male rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 30: 1021-1034.
- Aguilar-Pérez CE, Gómora-Arrati P, Komisaruk BR Fuentes-Morales MR, Morales-Medina JC, González-Flores O y Lucio RA (en línea antes de imprimir). Threshold for copulation-induced analgesia varies according to the ejaculatory endophenotypes in rats. *International Journal of Impotence Research*.
- Ahlenius S y Larsson K (1995). Effects of the dopamine D3 receptor ligand 7-OH-DPAT on male rat ejaculatory behavior. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 51: 545-547.
- Altamirano J y Montano S (1996). Serotonina y dolor. *Revista de Neuro-Psiquiatría*. 59: 180-185.
- Alwaal A, Breyer BN y Lue TF (2015). Normal male sexual function: emphasis on orgasm and ejaculation. *Fertility and Sterility*. 104: 1051-1060.
- Amstislavskaya TG y Popova NK (2004). Female-induced sexual arousal in male mice and rats: behavioral and testosterone response. *Hormones and Behavior*. 46: 544-550.
- Apkarian V, Bushnell C, Treede RD y Zubieta JK (2005). Human brain mechanisms of pain perception and regulation in health and disease. *European Journal of Pain*. 9: 463-484.
- Argiolas A y Melis MR (2004). The role of oxytocin and the paraventricular nucleus in the sexual behaviour of male mammals. *Physiology and Behavior*. 83: 309-317.
- Bancila M, Verge D, Rampin O, Backstrom JR, Sanders-Bush E, McKenna KE, Marson L, Calas A y Giuliano F (1999). 5-hydroxytryptamine 2C receptors on spinal neurons controlling penile erection in the rat. *Neuroscience*. 92: 1523-1537.
- Barbosa-Cobos RE, Ramos-Cervantes MT, De Montesinos-Sampedro A, Rodríguez-Ballesteros DC, García-Moreno-Mutio SL, Jaimes-Santoyo J, Lugo-Zamudio GE, Becerril-Mendoza LT, González-Ramírez LV, Ocharán-Hernández ME, Beltrán-Ramírez O y Toscano-Garibay J (2015). Sustancia P en la inflamación articular. *Revista del Hospital Juárez de México*. 82: 49-54.

- Barfield RJ y Sachs BD (1968). Sexual behavior: stimulation by painful electric shock to skin in male rats. *Science*. 161: 392-393.
- Basbaum AI y Fields HL (1978). Endogenous pain control mechanisms: review and hypothesis. *Annals of Neurology*. 4: 451-462.
- Basbaum AI, Bautista DM, Scherrer G y Julius D (2009). Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell*. 139: 267-284.
- Baskerville TA, Allard J, Wayman C y Douglas AJ (2009). Dopamine-oxytocin interactions in penile erection. *European Journal of Neuroscience*. 30: 2151-2164.
- Baum MJ y Everitt BJ (1992). Increased expression of c-fos in the medial preoptic area after mating in male rats: role of afferent inputs from the medial amygdala and midbrain central tegmental field. *Neuroscience*. 50: 627-646.
- Bellamy JL, Cady RK y Durham PL (2006). Salivary levels of CGRP and VIP in rhinosinusitis and migraine patients. *Headache*. 46: 24-33.
- Belmonte C (1996). Signal transduction in nociceptors: general principles. En: *Neurobiology of Nociceptors*. Belmonte C y Cervero F (eds.) Oxford: Oxford University Press. pp. 243-257.
- Benarroch EE (2011). CGRP: sensory neuropeptide with multiple neurologic implications. *Neurology*. 77: 281-287.
- Beyer C y Macías A (2003). Analgesia genital: un sistema de modulación no opiácea del dolor. *Gaceta Médica de México*. 139: S21-S25.
- Beyer C, Roberts LA y Komisaruk BR (1985). Hyperalgesia induced by altered glycinergic activity at spinal cord. *Life Science*. 37: 875-882.
- Burkey AR, Carstens, E y Jasmin L (1999). Dopamine Reuptake Inhibition in the Rostral Agranular Insular Cortex Produces Antinociception. *The Journal of Neuroscience*. 19: 4169-4179.
- Cady RK, Vause CV, Ho TW, Bigal ME y Durham PL (2009). Elevated saliva calcitonin gene-related peptide levels during acute migraine predict therapeutic response to rizatriptan. *Headache*. 49: 1258-1266.
- Carlson NR (2000). Conducta reproductora. En: *Fisiología de la Conducta*. Ariel. 345-385.

- Cervero F (1986). Dorsal horn neurons and their sensory inputs. En: Spinal Afferent Processing. Yaksh TL (ed.) Springer. pp. 197-213.
- Clément P y Giuliano F (2011). Physiology of ejaculation. En: Cancer and Sexual Health. Mulhall JP Incrocci L y Goldstein I (eds.) Springer Science. New York. pp. 77-89.
- Clément P, Bernabé J, Kia HK, Alexandre L y Giuliano F (2006). D2-like receptors mediate the expulsion phase of ejaculation elicited by 8-hydroxy-2-(di-N-propylamino) tetralin in rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 316: 830-834.
- Colpaert FC, Tarayre JP, Koek W, Pauwels PJ, Bardin L, Xu XJ, Wiesenfeld-Hallin Z, Cosi C, Carilla-Durand E, Assié MB y Vacher B (2002). Large-amplitude 5-HT1A receptor activation: a new mechanism of profound, central analgesia. *Neuropharmacology*. 43: 945-958.
- Curtis DR y Johnston GA (1974). Aminoacid transmitters in the mammalian central nervous system. *Ergebnisse der Physiologie*. 9: 701-719.
- Damsma G, Pfaus JG, Wenkstern D, Phillips AG y Fibiger HC (1992). Sexual behavior increases dopamine transmission in the nucleus accumbens and striatum of male rats: comparison with novelty and locomotion. *Behavioral Neuroscience*. 106:181-191.
- De Felipe C, Herrero JF, O'Brien JA, Palmer JA, Doyle CA, Smith AJ, Laird JM, Belmonte C, Cervero F y Hunt SP (1998). Altered nociception, analgesia, and aggression in mice lacking the substance P receptor. *Nature*. 392: 394-397.
- El-Hamd MA, Saleh R y Majzoub A (2019). Premature ejaculation: an update on definition and pathophysiology. *Asian Journal of Andrology*. 21: 425-432.
- Fernández-Guasti A, Larsson K y Beyer C (1985). Comparison of the effects of different isomers of bicuculline infused in the preoptic area on male rat sexual behavior. *Experientia*. 41: 1414-1416.
- Fernández-Guasti A, Larsson K y Beyer C (1986). Effect of bicuculline on sexual activity in castrated male rats. *Physiology and Behavior*. 36: 235-237.
- Fernandez-Guasti A, Larsson K y Beyer C (1986). GABAergic control of masculine sexual behavior. *Pharmacology. Biochemistry Behavior*. 24: 1065-1070.

- Ferrari F y Giuliani D (1994). The selective D2 dopamine receptor antagonist eticlopride counteracts the ejaculation praecox induced by the selective D2 dopamine agonist SND 919 in the rat. *Life Sciences*. 55: 1155-1162.
- Ferrari F y Giuliani D (1995). Sexual attraction and copulation in male rats: effects of the dopamine agonist SND 919. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 50: 29-34.
- Ferrari F y Giuliani D (1996). Behavioral effects induced by the dopamine D3 agonist 7-OH-DPAT in sexually-active and inactive male rats. *Neuropharmacology*. 35: 279-284.
- Flórez J, Armijo JA y Mediavilla A (2008). *Farmacología Humana*. Editorial Masson. Elsevier. Barcelona. pp. 503-505.
- Forsberg G, Wiesenfeld-Hallin Z, Eneroth P y Södersten P (1987). Sexual behavior induces naloxone-reversible hypoalgesia in male rats. *Neuroscience Letters*. 81: 151-154.
- Fundytus ME (2001). Glutamate receptors and their role in acute and inflammatory pain. En: *Glutamate Receptors in Peripheral Tissue: Excitatory Transmission Outside the CNS*. Gill S y Pulido O (eds.) Springer, Boston. pp. 87-96.
- Fundytus ME (2001). Glutamate receptors and nociception. Implications for the drug treatment of pain. *CNS Drugs*. 15: 29-58.
- Futagami H, Sakuma Y y Kondo Y (2016). Oxytocin mediates copulation-induced hypoalgesia of male rats. *Neuroscience Letters*. 618: 122-126.
- Gintzler AR, Peters LC y Komisaruk BR (1983). Attenuation of pregnancy-induced analgesia by hypogastric neurectomy in rats. *Brain Research*. 277: 186-188.
- Goadsby PJ, Edvinsson L y Ekman R (1990). Vasoactive peptide release in the extracerebral circulation of humans during migraine headache. *Annals of Neurology*. 28: 183-187
- Gómora P, Beyer C, González-Mariscal G y Komisaruk BR (1994). Momentary analgesia produced by copulation in female rats. *Brain Research*. 656: 52-58.
- Gómora P, González-Flores O, Galicia-Aguas YL, Hoffman KL y Komisaruk BR (2019). Copulation-induced antinociception in female rats is blocked by atosiban, an oxytocin receptor antagonist. *Hormones and Behaviour*. 107: 76-79.
- González-Hernández A, Rojas-Piloni G y Condés-Lara M (2014). Oxytocin and analgesia: Future trends. *Trends in Pharmacological Sciences*. 35: 549-551.

- González-Mariscal G, Gómora P y Beyer C (1994). Participation of opiate, gabaergic, and serotonergic systems in the expression of copulatory analgesia in male rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 49: 303-307.
- González-Mariscal G, Gómora P, Caba M y Beyer C (1992). Copulatory analgesia in male rats ensues from arousal, motor activity, and genital stimulation: blockage by manipulation and restraint. *Physiology and Behavior*. 51: 775-781.
- Guo L, Liu Y, Wang X, Yuan M, Yu Y, Zhang X y Zhao S (2017). Significance of penile hypersensitivity in premature ejaculation. *Scientific Reports*. 7: 10441.
- Halata Z y Munger BL (1986). The neuroanatomical basis for the protopathic sensibility of the human glans penis. *Brain Research*. 371: 205-230.
- Hammond DL, Levy RA y Proudfit HK (1980). Hypoalgesia induced by microinjection of a norepinephrine antagonist in the nucleus raphe magnus: reversal by intrathecal administration of a serotonin antagonist. *Brain Research* 201: 475-479.
- Harvey RJ, Depner UB, Wässle H, Ahmadi S, Heindl C, Reinold H, Smart TG, Harvey K, Schütz B, Abo-Salem OM, Zimmer A, Poisbeau P, Welzl H, Wolfer DP, Betz H, Zeilhofer HU y Müller U (2004) GlyR alpha 3: an essential target for spinal PGE (2)-mediated inflammatory pain sensitization. *Science*. 304: 884-887.
- Hebel R y Stromberg MW (1986). *Anatomy and Embryology of the Laboratory Rat*. BioMed Verlag. The University of Michigan. 443: 184.
- Hershey AD y Krause JE (1990). Molecular characterization of a functional cDNA encoding the rat substance P receptor. *Science*. 247: 958-962.
- Holmes GM, Chapple WD, Leipheimer RE y Sachs BD (1991). Electromyographic analysis of male rat perineal muscles during copulation and reflexive erections. *Physiology and Behavior*. 49: 1235-1246.
- Hull EM, Du J, Lorrain DS y Matuszewich L (1995). Extracellular dopamine in the medial preoptic area: implications for sexual motivation and hormonal control of copulation. *The Journal of Neuroscience*. 75: 7465-7471.
- Hull EM (1995). Dopaminergic influences on male rat sexual behavior. En: *Neurobiological Effects of Sex Steroid Hormones*. Micevych PE y Hammer RPJ (eds.) Cambridge University Press. UK pp. 234-253.

- Hull EM y Dominguez JM (2007). Sexual behavior in male rodents. *Hormones and Behavior*. 52: 45-55.
- Hull EM, Bitran D, Pehek EA, Warner RK, Band LC y Holmes GM (1986). Dopaminergic control of male sex behavior in rats: effects of an intracerebral-infused agonist. *Brain Research*. 370: 73-81.
- Hull EM, Lorrain DS, Du J, Matuszewich L, Lumley LA, Putnam SK y Moses J (1999). Hormone-neurotransmitter interactions in the control of sexual behavior. *Behavioural Brain Research*. 105: 105-116.
- Hull EM, Meisel RL y Sachs BD (2002). Male sexual behavior. En: *Hormones, Brain, and Behavior*. Pfaff DW, Arnold AP, Etgen AM, Fahrbach SE y Rubin RT (eds.) Academic Press New York. pp. 3-137.
- Hull EM, Muschamp JW, Sato S (2004). Dopamine and serotonin: influences on male sexual behavior. *Physiology and Behavior*. 83: 291-307.
- Hull EM, Wood RI y McKenna KE (2006). Neurobiology of male sexual behavior. En: *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*. Neill JD (ed.) Elsevier. pp. 1729-1824.
- IASP International Association for the Study of Pain (1976). Subcommittee on Taxonomy. Pain terms: Classification of Chronic Pain. *Pain*. 3: S3-S12.
- Ikemoto S y Panksepp J (1999). The role of nucleus accumbens dopamine in motivated behavior: A unifying interpretation with special reference to reward-seeking. *Brain Research Reviews*. 31: 6-41.
- Jacobs BL (1987). Central monoaminergic neurons: single-unit studies in behaving animals. En: *Psychopharmacology*. Meltzer HY (ed.) Raven Press. New York. pp. 159-169.
- Johnson JL (1978). The excitant amino acids glutamate and aspartic acid as transmitter candidates in the vertebrate central nervous system. *Progress Neurobiology*. 10: 155-202
- Kandel ER, Schwartz JH y Jessell TM (2001). *Principios de Neurociencia*. McGraw-Hill. 4: 1200.
- Kangra I y Randic M (1991). Outflow of endogenous aspartate and glutamate from the rat spinal dorsal horn in vitro by activation of low- and high-threshold primary afferent fibers. Modulation by μ -opioids. *Brain Research*. 553: 347-352.

- Khan ZU, Gutiérrez A, Martín R, Peñafiel A, Rivera A y de la Calle A (2000). Dopamine D5 receptors of rat and human brain. *Neuroscience*. 100: 689-699.
- Kiernan JA y Rajakumar N (2014). Anatomía regional del sistema nervioso central. En: *El Sistema Nervioso Humano*. Lippincott-Raven Publishers. pp. 63-357.
- Kiyatkin EA (2002). Dopamine in the nucleus accumbens: cellular actions, drug- and behavior-associated fluctuations, and a possible role in an organism's adaptive activity. *Behavioural Brain Research*. 137: 27-46.
- Klamt JG (1998). Effects of intrathecally administered lamotrigine, a glutamate release inhibitor, on short- and long-term models of hyperalgesia in rats. *Anesthesiology*. 88: 487-494.
- Klint T y Larsson K (1995). Clozapine acts as a 5-HT₂ antagonist by attenuating DOI-induced inhibition of male rat sexual behavior. *Psychopharmacology*. 119: 291-294.
- Komisaruk BR (1972). Induction of lordosis in ovariectomized rats by stimulation of the vaginal cervix: hormonal and neural interrelationships. *UCLA Forum in Medical Sciences*. 15: 127-135.
- Komisaruk BR y Larsson K (1971). Suppression of a spinal and a cranial nerve reflex by vaginal or rectal probing in rats. *Brain Research*. 35: 231-235.
- Komisaruk BR y Sansone G (2003). Neural pathways mediating vaginal function: The vagus nerves and spinal cord oxytocin. *Scandinavian Journal of Psychology*. 44: 241-250.
- Komisaruk BR y Wallman J (1977). Antinociceptive effects of vaginal stimulation in rats: neurophysiological and behavioral studies. *Brain Research*. 137: 85-107.
- Komisaruk BR y Whipple B (1986). Vaginal stimulation-produced analgesia in rats and women. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 467: 30-39.
- Larsson K (1956). *Conditioning and Sexual Behavior in the Male Albino Rat*. Almqvist and Wiksells Stockholm, Stockholm. 14-35.
- Larsson K (1956). *Conditioning and Sexual Behavior in the Male Albino Rat*. Almqvist & Wiksell, Stockholm.
- Lawand NB, Willis WD y Westlund KN (1997). Excitatory amino acid receptor involvement in peripheral nociceptive transmission in rats. *European Journal of Pharmacology*. 324: 169-177.

- Legendre P (2001). The glycinergic inhibitory synapse. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 58: 760-793.
- Lenz KM y Sengelaub DR (2006). Maternal licking influences dendritic development of motoneurons in a sexually dimorphic neuromuscular system. *Brain Research*. 1092: 87-99.
- Lenz KM, Graham MD, Parada M, Fleming AS, Sengelaub DR y Monks DA (2008). Tactile stimulation during artificial rearing influences adult function and morphology in a sexually dimorphic neuromuscular system. *Developmental Neurobiology*. 68: 542-557.
- López-Antúnez L (1997). Los nervios espinales. En: *Anatomía Funcional del Sistema Nervioso*. Universidad de Texas. Limusa. Texas. pp. 131-179.
- Lucio RA y Tlachi-López JL (2008). Análisis de la Cópula y el Eyaculado de la Rata Albina (*Rattus norvegicus*). *Manual de Laboratorio*. Universidad Autónoma de Tlaxcala. Góngora Ediciones. 1-48.
- Lucio RA, Tlachi-López JL, Fuentes-Farías A, Jiménez-Trejo F y Gutiérrez-Ospina G (2013). Anatomía urogenital masculina: una perspectiva eco-morfofisiológica. En: *Aparato Urogenital: de la Biología a la Fisiopatología*. Cruz-Gómez Y y Eguíbar-Cuenca JR (eds.) Universidad Autónoma de Tlaxcala.
- Lue TF, Zeineh SJ, Schmidt RA y Tanagho EA (1984). Neuroanatomy of penile erection: its relevance to iatrogenic impotence. *Journal of Urology*. 131: 273-280.
- Lupica CR y Riegel AC (2005). Endocannabinoid release from midbrain dopamine neurons: a potential substrate for cannabinoid receptor antagonist treatment of addiction. *Neuropharmacology*. 48: 1105-1116.
- Malsbury CW (1971). Facilitation of male rat copulatory behavior by electrical stimulation of the medial preoptic area. *Physiology and Behavior*. 7: 797-805.
- Mantyh PW y Peschanski M (1982). Spinal projections from the periaqueductal grey and dorsal raphe in the rat, cat and monkey. *Neuroscience*. 7: 2769-2776.
- Manzo J, Hernández E y Pacheco P (2002). Conducta sexual masculina. En: *Motivación y Conducta: sus Bases Biológicas*. Escobar C y Aguilar RA (eds.) Manual Moderno. pp. 255-275.

- Marson L y McKenna KE (1994). Seminal discharge following intracranial electrical stimulation. *Brain Research*. 23: 381-386.
- McKenna KE y Nadelhaft I (1985). The organization of the pudendal nerve in the male and female rat. *The Journal of Comparative Neurology*. 248: 532-549.
- Mechoulam R, Ben-Shabat S, Hanus L, Ligumsky M, Kaminski NE, Schatz AR, Gopher A, Almog S, Martin BR, Compton DR, Pertwee RG, Griffin G, Bayewitch M, Barg JY y Vogel Z (1995) Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochemical Pharmacology*. 50: 83-90.
- Miyata Y y Otsuka M (1972). Distribution of gamma-aminobutyric acid in cat spinal cord and the alteration produced by ischemia. *Journal of Neurochemistry*. 19: 1833-1834.
- Moralí G, Soto AP, Contreras L, González-Vidal MD y Beyer C (2003). Detailed analysis of the male copulatory motor pattern in mammals: hormonal bases. *Scandinavian Journal of Psychology*. 44: 279-288.
- Morgan C, de Groat WC y Nadelhaft I (1986). The spinal distribution of sympathetic preganglionic and visceral primary afferent neurons that send axons into the hypogastric nerves of the cat. *Journal of Comparative Neurology*. 243: 23-40.
- Mos J, Olivier B, Bloetjes K y Poth M (1990). Drug-induced facilitation of sexual behaviour in the male rat: behavioural and pharmacological aspects. En: *Psychoneuroendocrinology of Growth and Development*. Slob AK y Baum MJ (eds.) Medicom Publishers, Rotterdam. pp. 221-232.
- Mos J, Van Logten J, Bloetjes K y Olivier B (1991). The effects of idazoxan and 8-OH-DPAT on sexual behaviour and associated ultrasonic vocalizations in the rat. *Neuroscience y Biobehavioral Reviews*. 15: 505-515.
- Moss MS y Basbaum AI (1983). The peptidergic organization of the cat periaqueductal grey. II. The distribution of immunoreactive substance P and vasoactive intestinal polypeptide. *Journal of Neuroscience*. 3: 1437-1449.
- Nadelhaft I y Booth AM (1984). The location and morphology of preganglionic neurons and the distribution of visceral afferents from the rat pelvic nerve: a horseradish peroxidase study. *Journal of Comparative Neurology*. 226: 238-245.

- Nadelhaft I y Booth AM (1984). The location and morphology of preganglionic neurons and the distribution of visceral afferents from the rat pelvic nerve: a horseradish peroxidase study. *Journal of Comparative Neurology*. 226: 238-245.
- Neira F y Ortega JL (2004). Antagonistas de los receptores glutamatérgicos NMDA en el tratamiento del dolor crónico. *Revista de la Sociedad Española del Dolor*. 11: 210-222.
- Nunes-De-Souza RL, Canto-De-Souza A, Da-Costa M, Fornari RV, Graeff FG y Pelá IR (2000). Anxiety-induced antinociception in mice: effects of systemic and intra- amygdala administration of 8-OH-DPAT and midazolam. *Psychopharmacology*. 150: 300-310.
- O'Connor TM, O'Connell J, O'Brien DI, Goode T, Bredin CP y Shanahan F (2004). The role of substance P in inflammatory disease. *Journal of Cellular Physiology*. 201: 167-180.
- Olivier B, Chan JSW, Pattij T, Jong TR, Oosting RS, Veening JG y Waldinger MD (2006). Psychopharmacology of male rat sexual behavior: modeling human sexual dysfunctions? *International Journal of Impotence Research*. 18: S14-S23.
- Omote K, Kawamata T, Kawamata M y Namiki A (1998). Formalin-induced release of excitatory amino acids in the skin of the rat hind paw. *Brain Research*. 787: 161-164
- Paick JS, Jeong H y Park MS (1998). Penile sensitivity in men with premature ejaculation. *International Journal of Impotence Research*. 10: 247-250.
- Parhizgar SE y Ekhtiari H (2010). A review on experimental assessments of pain threshold in healthy human subjects. *Basic and Clinical Neuroscience*. 1: 61-66.
- Pattij T, De Jong TR, Uitterdijk A, Waldinger MD, Veening JG, Cools AR, Graaf PH y Olivier B (2005). Individual differences in male rat ejaculatory behaviour: searching for models to study ejaculation disorders. *European Journal of Neuroscience*. 22: 724-734.
- Pedrajas JM y Molino AM (2008). Bases neuromédicas del dolor. *Clínica y Salud*. 19: 277-293.
- Popesko V, Rajtová V y Horák J (1992). *A Colour Atlas of the Anatomy of Small Laboratory Animals. Rat, Mouse, Hamster*. CRC Press, London. 2: 228.
- Poyner DR, Sexton PM, Marshall I, Smith DM, Quirion R, Born W, Muff R, Fischer JA y Foord SM (2002). International Union of Pharmacology. XXXII. The mammalian calcitonin gene-related peptides, adrenomedullin, amylin, and calcitonin receptors. *Pharmacological Reviews*. 54: 233-246.

- Qureshi GA y Södersten P (1986). Sexual activity alters the concentration of amino acids in the cerebrospinal fluid of male rats. *Neuroscience Letters*. 70: 374-378.
- Raja SN, Carr DB, Cohen M, Finnerup NB, Flor H, Gibson S, Keefe FJ, Mogil JS, Ringkamp M, Sluka KA, Song XJ, Stevens B, Sullivan MD, Tutelman PR, Ushida T y Vader K (2020). The Revised International Association for the Study of Pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises. *Pain*. 161: 1976-1982
- Reisine T y Pasternak G (1996). Analgésicos opioides y sus antagonistas. En: Goodman y Gilman: Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Laurence LB, Bruce AC, Björn CK (eds.) Editorial McGraw-Hill pp. 557-593.
- Rexed B (1952). The cytoarchitectonic organization of the spinal cord in the cat. *Journal of Comparative Neurology*. 96: 415-495.
- Rice ASC, Farquhar-Smith WP y Nagy I (2002). Endocannabinoids and pain: Spinal and peripheral analgesia in inflammation and neuropathy. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. 66: 243-256.
- Richardson JD y Vasko MR (2002). Cellular mechanisms of neurogenic inflammation. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 302: 839-845.
- Robbins TW y Everitt BJ (1992). Functions of dopamine in the dorsal and ventral striatum. *Seminars in Neuroscience*. 4: 119-127.
- Roberts LA, Beyer C y Komisaruk BR (1986). Nociceptive responses to altered GABAergic activity at the spinal cord. *Life Sciences*. 39: 1667-1674.
- Rodríguez-Manzo G y Canseco-Alba A (2015). Anandamide reduces the ejaculatory threshold of sexually sluggish male rats: possible relevance for human lifelong delayed ejaculation disorder. *The Journal of Sexual Medicine*. 12: 1128-1135.
- Rojas-Piloni G, López-Hidalgo M, Martínez-Lorenzana G, Rodríguez-Jiménez J y Condés-Lara M (2007). GABA-mediated oxytocinergic inhibition in dorsal horn neurons by hypothalamic paraventricular nucleus stimulation. *Brain Research*. 1137: 69-77.
- Russo AF (2015). CGRP as a neuropeptide in migraine: lessons from mice: CGRP as a neuropeptide in migraine. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 80: 403-414.
- Sachs BD (2007). A contextual definition of male sexual arousal. *Hormones and Behavior*. 51: 569-578.

- Sachs BD y Barfield RJ (1976). Functional analysis of masculine copulatory behavior in the rat. En: *Advances in the Study of Behavior*. Rosenblatt JS, Hinde RA, Shaw E y Beer C (eds.) Academic Press. pp. 91-154.
- Salamone JD (1992). Complex motor and sensorimotor functions of striatal and accumbens dopamine: involvement in instrumental behavior processes. *Psychopharmacology*. 107: 160-174.
- Sandkühler J (2009). Models and mechanisms of hyperalgesia and allodynia. *Physiological Reviews*. 89: 707-758.
- Sansone GR, Gerdes CA, Steinman JL, Winslow JT, Ottenweller JE, Komisaruk BR e Insel TR (2002). Vagino-cervical stimulation releases oxytocin within the spinal cord in rats. *Neuroendocrinology*. 75: 306-315.
- Savasta M, Dubois A y Scatton B (1986). Autoradiographic localization of D1 dopamine receptors in the rat brain with [3H] SCH 23390. *Brain Research*. 375: 291-301.
- Sawynok J (1987). GABAergic mechanisms of analgesia: an update. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 26: 463-474.
- Schaumburg HH, Zotoval E, Raine SC, Tar M y Arezzo J (2010). The rat caudal nerves: a model for experimental neuropathies. *Journal of the Peripheral Nervous System*. 15: 128-139.
- Schroder HD (1981). Onuf's nucleus X: A morphological study of a human spinal nucleus. *Anatomy and Embryology*. 162: 443-453.
- Schroder HD (1985). Anatomical and pathoanatomical studies on the spinal efferent systems innervating pelvic structures. 1. Organization of spinal nuclei in animals. 2. The nucleus X-pelvic motor system in man. *Journal of the Autonomic Nervous System*. 14: 23-48.
- Segura B, Melo AI, Fleming AS, Mendoza-Garrido ME, González del Pliego M, Aguirre-Benitez EL, Hernández-Falcón J y Jiménez-Estrada I (2014). Early social isolation provokes electrophysiological and structural changes in cutaneous sensory nerves of adult male rats, *Developmental Neurobiology*. 74: 1184-1193.
- Simerly RB y Swanson LW (1988). Projections of the medial preoptic nucleus: a Phaseolus vulgaris leucoagglutinin anterograde tract-tracing study in the rat. *Journal of Comparative Neurology*. 270: 209-242.

- Sluka KA y Willis WD (1998). Increased spinal release of excitatory amino acids following intradermal injection of capsaicin is reduced by a protein kinase G inhibitor. *Brain Research*. 798: 281-286.
- Sorkins LS, McAdoo DJ y Willis WD (1993). Raphe magnus stimulation-induced antinociception in the cat is associated with release of amino acids as well as serotonin in the lumbar dorsal horn. *Brain Research*. 618: 95-108.
- Stafford SA y Coote JH (2006). Activation of D2-like receptors induces sympathetic climactic-like responses in male and female anaesthetised rats. *British Journal of Pharmacology*. 148: 510-16.
- Swanson LW y Kuypers HGJM (1980). The paraventricular nucleus of the hypothalamus: cytoarchitectonic subdivisions and organization of projections to the pituitary, dorsal vagal complex, and spinal cord as demonstrated by retrograde fluorescence double-labeling methods. *The Journal of Comparative Neurology*. 194: 555-570.
- Szechtman H, Hershkowitz M y Simantov R (1981). Sexual behavior decreases pain sensitivity and stimulates endogenous opioids in male rats. *European Journal of Pharmacology*. 70: 279-285.
- Tang Y, Rampin O, Calas A, Facchinetti P y Giuliano F (1998). Oxytocinergic and serotonergic innervation of identified lumbosacral nuclei controlling penile erection in the male rat. *Neuroscience*. 82: 241-254.
- Veening JG y Coolen LM (2014). Neural mechanisms of sexual behavior in the male rat: emphasis on ejaculation-related circuits. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 121: 170-183.
- Véronneau-Longueville F, Rampin O, Freund-Mercier MJ, Tang Y, Calas A, Marson L, McKenna KE, Stoeckl ME, Boeit G y Giuliano F (1999) Oxytocinergic innervation of autonomic nuclei controlling penile erection in the rat. *Neuroscience*. 395: 247-254.
- Villarejo-Díaz M (1998). Farmacología de los analgésicos opioides y sus antagonistas. En: *Farmacología Aplicada a la Anestesia (Intersistemas)*. Villarejo DM (ed.) Editorial PAC Anestesia. pp. 5-18.

- Villarejo-Díaz M, Murillo-Zaragoza JR y Alvarado-Hernández H (2000). Farmacología de los agonistas y antagonistas de los receptores opioides. *Educación e Investigación Clínica*. 1: 106-137.
- Waldinger MD (2002). The neurobiological approach to premature ejaculation. *The Journal of Urology*. 168: 2359-2367.
- Waldinger MD, Quinn P, Dilleen M, Mundayat R, Schweitzer DH y Boolell M (2005). A multinational population survey of intravaginal ejaculation latency time. *The Journal of Sexual Medicine*. 2: 492-497.
- Wimalawansa SJ (1996). Calcitonin gene-related peptide and its receptors: molecular genetics, physiology, pathophysiology, and therapeutic potentials. *Endocrine Reviews*. 17: 533-585.
- Wood PB (2008). Role of central dopamine in pain and analgesia. *Expert Review of Neurotherapeutics*. 8: 781-797.
- Zafra F, Aragón C y Giménez C (1997). Molecular biology of glycinergic neurotransmission. *Molecular Neurobiology*. 14: 117-142.
- Zhang B, Muneta T, Yagishita K y Sekiya I (2006). Substance P immunoreactive fibers of synovial tissue in patients with anterior cruciate ligament injury. *Knee Surgery Sports Traumatology Arthroscopy*. 14: 404-410.
- Zhang GX, Yu LP, Bai WJ y Wang XF (2012). Selective resection of dorsal nerves of penis for premature ejaculation. *International Journal of Andrology*. 35: 873-879.
- Zhang HF, Zhang CY, Li XH, Fu ZZ y Chen ZY (2009). Dorsal penile nerves and primary premature ejaculation. *Chinese Medical Journal*. 122: 3017-3019.

13. Anexos

XXI

CURSO
Internacional
Bases Biológicas
de la Conducta



Otorga la presente
CONSTANCIA


A Carlos Edmundo Aguilar Pérez, Porfirio Gómora Arrati,
Oscar González y Rosa Angélica Lucio Lucio

Por su participación con el cartel **Analgesia copulatoria en machos
de distinto fenotipo copulatorio**

XXI Curso Internacional Bases Biológicas de la Conducta
Impartido del 4 al 7 de octubre, con una duración de 40 horas.

Tlaxcala, Tax., a 7 de octubre de 2016


Dra. Margarita Martínez Gómez
Organizadora


Dr. Jorge Rodríguez Antolín
Organizador



Analgesia copulatoria en machos de distinto fenotipo copulatorio

Carlos Edmundo Aguilar Pérez¹, Porfirio Gómora Arrati², Oscar González² y Rosa Angélica Lucio Lucio³.

¹Doctorado en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala (UATx).

²Centro de Investigación en Reproducción Animal, CINVESTAV-Lab.-Tlaxcala, UATx

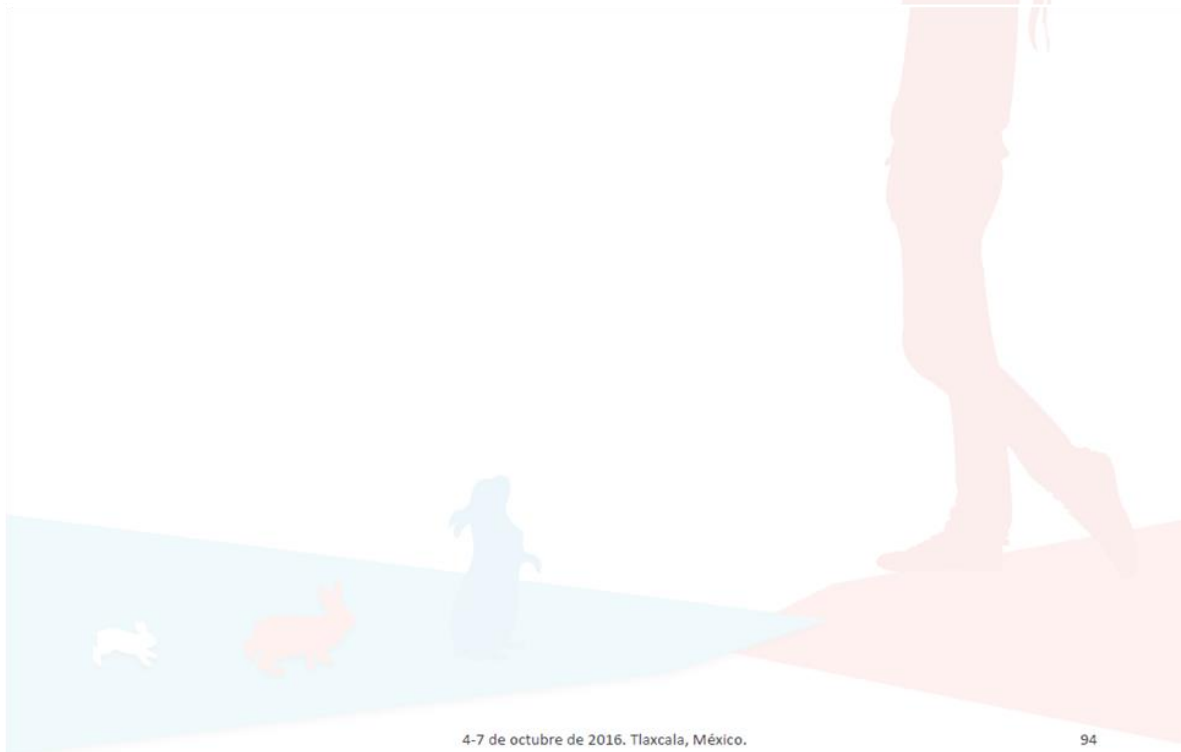
³Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, UATx.

El dolor es una señal de alarma cuyo propósito es proteger al organismo. Se ha mostrado que la cópula puede modificar la percepción al dolor, lo que se conoce como analgesia copulatoria. Ésta ha sido estudiada en la rata de laboratorio mediante diversos métodos, entre ellos, la medición de la respuesta al Umbral de Vocalización que produce el Choque Eléctrico a la cola (UVCE). Datos de nuestro grupo indican que las ratas macho presentan analgesia no sólo durante y después de la primera serie eyaculatoria sino incluso durante y después de la segunda. Más aún, las montas y las intromisiones también la producen. Por otra parte, se sabe que el hombre y la rata macho pueden presentar tres fenotipos eyaculatorios, *i.e.*, rápido, intermedio o lento dependiendo de la latencia eyaculatoria. Además que, el número de intromisiones e intervalo inter-intromisión también difieren entre los fenotipos. Sin embargo, desconocemos si la analgesia copulatoria depende del fenotipo copulatorio por lo que, en el presente proyecto se evaluará la analgesia copulatoria en ratas macho con diferente fenotipo copulatorio. Las ratas macho de la cepa Wistar tendrán entrenamiento sexual de seis sesiones para identificar su fenotipo copulatorio. Una sesión por día de una serie eyaculatoria con intervalo de tres días. Serán evaluados los parámetros copulatorios convencionales: número de montas e intromisiones, latencias de monta, intromisión y eyaculación, así como el intervalo posteyaculatorio. Se promediará la latencia de eyaculación de las cuatro últimas pruebas de cada macho. Se distinguirán tres rangos de duración 200-400 seg, 700-900 seg y 1200-1400 seg para el fenotipo rápido, intermedio y lento, respectivamente.

El UVCE-basal se obtendrá antes de la cópula *i.e.*, cuando el macho está solo dentro del redondel conductual y se evaluará mediante la fijación de un par de electrodos en la base de la cola de la rata macho, que estará dentro de un redondel. Se darán trenes de choques eléctricos de 60 Hz con 300 milisegundos de duración. La intensidad iniciará con 0 μ A y se irá aumentando de 100 en 100 μ A hasta que el animal emita una vocalización audible. Cuando esto ocurra, se darán choques en orden decreciente de intensidad, hasta que el animal deje de vocalizar. Este procedimiento se repetirá hasta obtener tres datos de intensidad de corriente correspondiendo a cada vocalización. El promedio de estos valores representará el UVCE-basal de cada animal. El UVCE-experimental se obtendrá durante y/o después de la cópula *i.e.*, cuando el macho está con una hembra receptiva dentro del redondel conductual. Los valores del UVCE serán transformados a porcentaje de cambio (%C) utilizando la siguiente fórmula: $\%C = (\text{UVCE-experimental}/\text{UVCE-basal}) (100)-100$. Las pruebas se realizarán utilizando 6

CURSO

machos de cada fenotipo en cada experimento evaluando el UVCE-basal. Experimento 1: Despliegue de dos series copulatorias. Para ello se evaluará el UVCE-experimental después de la primera intromisión y después de la eyaculación de la primera y segunda serie eyaculatoria. Dos semanas después se evaluará el UVCE-control sin hembra considerando los tiempos registrados previamente (después de la primera intromisión y después de la eyaculación). Experimento 2: Despliegue del patrón motor de eyaculación. Se evaluará el UVCE-experimental a los 0, 5, 20 y 60 minutos después de la eyaculación. Dos semanas después se evaluará el UVCE-control sin hembra considerando los tiempos registrados previamente. Experimento 3: Despliegue de 5 intromisiones. Se evaluará el UVCE-experimental a los 0, 5, 20 y 60 minutos posteriores a las 5 intromisiones. Dos semanas después se evaluará el UVCE-control, sin hembra considerando los tiempos registrados previamente. Los valores del UVCE y de los parámetros copulatorios serán analizados con una prueba para datos no paramétricos de Kruskal-Wallis, seguida de una U de Mann-Whitney para grupos pareados. El nivel de significancia será de $p < 0.05$. Finalmente, se realizará una regresión lineal para evaluar la correlación entre la UVCE y los parámetros copulatorios. El nivel de significancia será de $p < 0.05$.





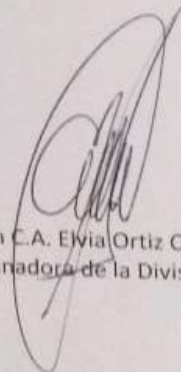
Otorga el presente reconocimiento a:

Carlos Edmundo Aguilar Pérez


Por su Participación:

En el Tercer Seminario de Investigación Científica de los Cuerpos
Académicos de la
División de Ciencias Biológicas y de la Salud, otorgado en la Ciudad de
Tlaxcala, Tlaxcala


El 17 de noviembre del 2017



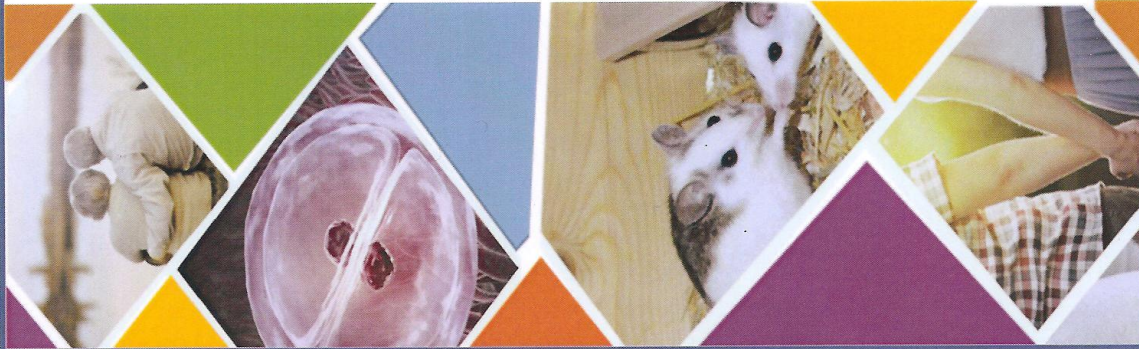
Dra. En C.A. Elvia Ortiz Ortiz
Coordinadora de la División



DIVISION DE CIENCIAS
BIOLÓGICAS
COORDINACIÓN



Dra. Madalí A. Gómez Camarillo
Presidenta del Comité Científico
y de Evaluación



LA ACADEMIA DE INVESTIGACIÓN EN
BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN A.C.



Otorga la presente
CONSTANCIA
A

Aguilar-Pérez, Carlos Edmundo; Lucio, RA.;
González-Flores, O. y Gómora-Arrati, P.

Por la presentación del trabajo

**“ANALGESIA COPULATORIA EN MACHOS DE EYACULACIÓN
RÁPIDA, INTERMEDIA Y LENTA”**

XLII Reunión Anual de la AIBIR

Hotel Plaza Diana, Guadalajara, Jalisco. Del 22 al 24 de mayo de 2017

Dra. Carmen Aceves Velasco
Secretaría

Dra. Maricela Luna
Presidente AIBIR



3. ANALGESIA COPULATORIA EN MACHOS DE EYACULACIÓN RÁPIDA, INTERMEDIA Y LENTA

AGUILAR PÉREZ CE¹, LUCIO RA², GONZÁLEZ FLORES O³ Y GÓMORA ARRATI P³.

¹Doctorado en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala (UATx);

²Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, UATx;

³Centro de Investigación en Reproducción Animal, UATx-CINVESTAV-Lab.-Tlaxcala.

La analgesia es la percepción reducida al dolor y puede adquirirse por diversos factores, entre ellos, la actividad copulatoria. En la rata macho, la ejecución de montas e intromisiones inducen analgesia, misma que incrementa tras la eyaculación, perdurando incluso varios minutos después de la cópula. Recientemente se ha evidenciado que las ratas macho presentan fenotipos copulatorios dependiendo de sus latencias de eyaculación rápida (200-400 seg), intermedia (700-900 seg) y lenta (1200-1400 seg). Además, los machos rápidos tienen menor intervalo inter-intromisión que aquellos intermedios y lentos. Por lo que la hipótesis es: los machos de fenotipo rápido tienen mayor analgesia que los demás, durante y después de la cópula, debido a la mayor actividad sexual en menor tiempo. Para probarla utilizamos 28 ratas Wistar adultas que fueron sometidas a seis pruebas de entrenamiento copulatorio para categorizarlas según su fenotipo. Se obtuvieron 13 machos rápidos, 2 intermedios y 2 lentos. Con el paradigma de la respuesta al Umbral de Vocalización por Choque Eléctrico a la cola (UVCE) se midió la analgesia copulatoria de los machos durante y después de dos series eyaculatorias (SE) consecutivas. Los machos de fenotipo rápido mostraron mayor analgesia durante ambas SE respecto a ellos mismos sin cópula; $p < 0.05$; los machos intermedios+lentos no mostraron diferencias significativas comparados con ellos mismos sin cópula. Existe correlación positiva entre la analgesia copulatoria con la latencia de eyaculación y el intervalo inter-intromisión de los machos rápidos; $p < 0.05$. Podemos considerar que efectivamente a mayor actividad sexual en menor tiempo mayor es la analgesia. En otras palabras, el umbral de eyaculación se correlaciona con la analgesia copulatoria.

Beca CONACYT # 277841 (CEAP) Posgrado en Ciencias Biológicas, UATx.

Categoría del primer autor: Doctorado



Universidad Autónoma de Tlaxcala



Otorga la presente
Constancia



A: **Carlos Edmundo Aguilar Pérez, Porfirio Gómora Arrati,
Oscar González Flores, Rosa Angélica Lucio**



Por participar con el poster:

“Copulatory analgesia in rapid, intermediate and sluggish ejaculators rats”



Celebrado en el marco de las actividades del 5th Workshop “Urogenital Apparatus: Neurogenic and degenerative pathologies” Tlaxcala, Tlax; del 27 al 29 septiembre de 2017

Dra. Margarita Martínez-Gómez
Coordinadora CTBC

Dra. Yolanda Cruz Gómez
Organizadora





Universidad Autónoma
de Tlaxcala



*Universidad Autónoma de Tlaxcala
Posgrado en Ciencias Biológicas
Academia de Biomedicina*

Otorgan la presente

C o n s t a n c i a

A Aguilar Pérez C, Gómora P, Fernández González Flores O, Lucio RA



*Por la presentación del poster
"Analgésia copulatoria en machos de
distinto fenotipo copulatorio"*



*En el marco de las actividades "Casa Abierta CTBC"
Mayo 17 del 2017*

Academia de
Biomedicina

*Dra. Margarita Martínez Gómez
Coordinadora General del CTBC*

*Dra. Yolanda Cruz Gómez
Presidenta de la Academia de Biomedicina*

XXIV Biological Bases of Behavior INTERNATIONAL COURSE



Otorga la presente **CONSTANCIA**


A Carlos Edmundo Aguilar Pérez, Porfirio Gómora Arrati, Oscar González Flores
y Rosa Angélica Lucio Lucio

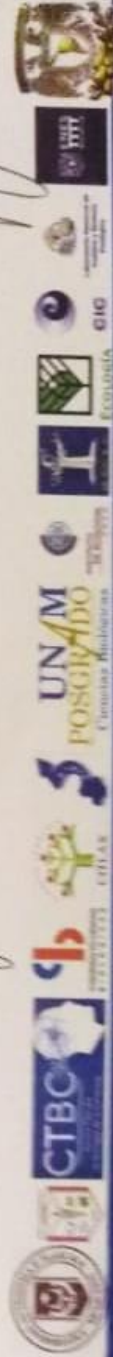
Por su participación con el cartel *Los machos de fenotipo eyaculatorio rápido muestran mayor analgesia copulatoria que los de fenotipo intermedio y lento*

XXIV Curso Internacional Bases Biológicas de la Conducta, Impartido del 7 al 11 de Octubre de 2019,
con una duración de 40 horas.

Tlaxcala, Tlax. a 11 de Octubre de 2019


DRA. MARGARITA MARTÍNEZ GÓMEZ


DR. JORGE RODRÍGUEZ ANTOLÍN





Universidad
Autónoma de
Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas
Coordinación de la División de Ciencias Biológicas
Secretaría de Investigación Científica y Posgrado



El Posgrado en Ciencias Biológicas otorga la presente

Constancia

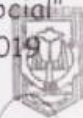
A **Carlos Edmundo Aguilar Pérez**
Estudiante Doctorado en Ciencias Biológicas

Por impartir el seminario

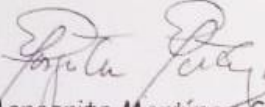
**"Analgésia copulatoria en machos de distinto
fenotipo eyaculatorio"**

"Por la Cultura a la Justicia Social"

Tlaxcala, Tlax., mayo 31 de 2019



Posgrado
Ciencias Biológicas


Dra. Margarita Martínez Gómez
Coord. General Posgrado en Ciencias Biológicas



Sistema Institucional de Gestión de la Calidad Certificado bajo la Norma:
ISO 9001:2015-NMX-CC-9001-IMNC-2015





Universidad
Autónoma de
Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas
Coordinación de la División de Ciencias Biológicas
Secretaría de Investigación Científica y Posgrado



El Posgrado en Ciencias Biológicas otorga la presente

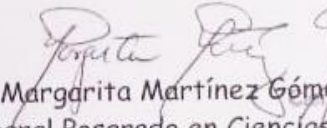
Constancia

A **Carlos Edmundo Aguilar Pérez**
Estudiante Doctorado en Ciencias Biológicas

Por impartir el seminario

"Rapid ejaculator rats display higher copulatory analgesia than normal and sluggish ejaculator rats"

"Por la Cultura a la Justicia Social"
Tlaxcala, Tlax., octubre 3 de 2019


Dra. Margarita Martínez Gómez
Coordinadora General Posgrado en Ciencias Biológicas



Sistema Institucional de Gestión de la Calidad Certificado bajo la Norma:
ISO 9001:2015-NMX-CC-9001-IMNC-2015





SAN DIEGO, CA
NOVEMBER 3-7



Neuroscience 2018
November 3 - 7
San Diego, CA

Please let this serve to certify that

Carlos Aguilar Perez, MS

has attended Neuroscience 2018, the 48th Annual Meeting of the Society for Neuroscience at the San Diego Convention Center in San Diego, CA.

The Society for Neuroscience (SfN) is a nonprofit membership organization of basic scientists and physicians who study the brain and nervous system. The Society's primary goal is to promote the exchange of information among researchers. For this purpose, SfN holds a prestigious annual meeting, attended by scientists and researchers from around the globe. It is considered the most important annual forum for the neuroscience research community, offering attendees the opportunity to learn about the latest advances in brain research and to meet and network with their colleagues at top destinations throughout the United States.

Sincerely,

A handwritten signature in cursive script that reads "Kyle Hayden".

Kyle Hayden, CMP
Director, Meeting Programs and Attendee Services
Society for Neuroscience

Date: November 7, 2018





(<https://www.abstractsonline.com/pp8/#!/4649>)

Session 593 - Behavioral Neuroendocrinology: Hormones and Cognition II

[Add To Itinerary](#)

593.04 / XX6 - Rapid ejaculator rats have more copulatory analgesia than intermediate and sluggish ejaculator rats

November 6, 2018, 1:00 PM - 5:00 PM

SDCC Halls B-H

Presenter at Poster

Tue, Nov. 6, 2018, 4:00 PM - 5:00 PM

Grant Support

Grants: CONACYT 1134291 (OGF)

Grant Support

PROMEP/103,5/09/1294.

Grant Support

Beca CONACYT 277841 (CEAP) Doctorado en Ciencias Biológicas, UATx.

Authors

***C. E. AGUILAR PÉREZ, SR**¹, R. A. LUCIO², J. C. MORALES-MEDINA³, P. GÓMORA ARRATI⁴, O. GONZÁLEZ FLORES⁴;

¹Ctr. Tlaxcala Biología de la Conducta, Univ. Autónoma De Tlaxcala, Tlaxcala, Mexico; ²Univ. Autónoma De Tlaxcala, Tlaxcala 90000, Mexico; ³Ctr. for Res. and Advanced Studies, Tlaxcala, Mexico; ⁴Ctr. de Investigación en Reproducción Animal, Carlos Beyer UATx-CINVESTAV-Lab-Tlaxcala, Tlaxcala, Mexico

Disclosures

C.E. Aguilar Pérez: None. **R.A. Lucio:** None. **J.C. Morales-Medina:** None. **P. Gómora Arrati:** None. **O. González Flores:** None.

Abstract

Analgesia is the absence of the pain perception without loss of consciousness, and can be produced by different factors, such as copulatory behavior. In male rats, analgesia is produced during the execution of mounts, intromissions and immediately after ejaculation. However, as humans, male rats have different copulatory phenotypes depending on the duration of the ejaculation latency, i.e., rapid (200-400 sec), intermediate (700-900 sec) and sluggish (1200-1400 sec). Additionally, the rapid males have a shorter inter-intromission interval (iii) compared to intermediate or sluggish males. These data allow us to hypothesize that rapid-ejaculators will present more analgesia than the intermediate/sluggish ejaculators during copulation. To demonstrate this hypothesis, we used adult Wistar male rats with sexual experience after a copulatory training of six tests. Afterwards male rats were identified as rapid (n=22), intermediate (n=7) or sluggish (n=5). In the 7th copulatory test, males were behavioral registered in another laboratory equipped with an analgesia system. Only in the 8th copulatory session, we recorded mount, intromissions and ejaculation latencies, and the number of mounts, intromissions, and it was calculate the iii. We measured the vocalization threshold to tail shock test (VTTS) before, and during the copulatory behavior of rapid, intermediate and sluggish males during two consecutive ejaculatory series including their respective post-ejaculatory intervals. Rapid ejaculators increased their VTTS (44.16% compared to their basal value), also the sluggish ones (4.86% compared to their basal value) during the first ejaculatory series. The same happened during the second series (44.86%, 15.31%, rapid and sluggish, respectively). At the first postejaculatory interval the rapid and intermediate ejaculators increased their VTTS (21.08%, 3.59%, respectively). However, the sluggish males decreases it (-3.62%). In addition, a simple linear regression analysis indicated a stronger association between copulatory induced analgesia and rapid ejaculation. These results suggest that the nervous pathway of analgesia and that of the sensory genital information are close related.

Abstract Citation

***C. E. AGUILAR PÉREZ, SR¹**, R. A. LUCIO², J. C. MORALES-MEDINA³, P. GÓMORA ARRATI⁴, O. GONZÁLEZ FLORES⁴;

¹Ctr. Tlaxcala Biología de la Conducta, Univ. Autónoma De Tlaxcala, Tlaxcala, Mexico; ²Univ. Autónoma De Tlaxcala, Tlaxcala 90000, Mexico; ³Ctr. for Res. and Advanced Studies, Tlaxcala, Mexico; ⁴Ctr. de Investigación en Reproducción Animal, Carlos Beyer UATx-CINVESTAV-Lab-Tlaxcala, Tlaxcala, Mexico. Rapid ejaculator rats have more copulatory analgesia than intermediate and sluggish ejaculator rats. Program No. 593.04. 2018 Neuroscience Meeting Planner. San Diego, CA: Society for Neuroscience, 2018. Online.



LXII CONGRESO NACIONAL
SOCIEDAD MEXICANA DE
CIENCIAS FISIOLÓGICAS, A.C.



OTORGA LA PRESENTE CONSTANCIA A:

Carlos E. Aguilar Pérez

QUIEN ASISTIÓ Y PRESENTÓ EL TRABAJO:

Analgesia producida por la cópula en ratas
de eyacuación rápida, intermedia y lenta

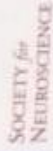
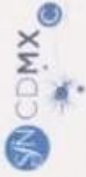
POR:

Aguilar Pérez Carlos Edmundo, Gómora Arrati Porfirio,
González Flores Oscar, Lucio Rosa Angélica

En la modalidad de cartel durante el LXII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana
de Ciencias Fisiológicas, A. C. del 11 al 15 de agosto del 2019 en la Ciudad de Querétaro, Qro.

Dr. Benjamín Florén Garzaño
Presidente de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas

Dr. María del Socorro de la Cueva
Rectora de la Universidad Autónoma de Querétaro



CONSTANCIA

A: Carlos Edmundo Aguilar Pérez

Por haber ganado el "Concurso de Carteles de la Semana del Cerebro 2019"
y asistido al ciclo de conferencias organizado por el Capítulo de la Ciudad de México de la Society for Neuroscience
en el Auditorio Ocaranza de la Facultad de Medicina, UNAM.

Atentamente,

"Por mi raza hablará el espíritu"

Ciudad Universitaria, CDMX. 1º de Abril del 2019.

Dra. Rosalinda Guevara Guzmán

Presidenta del CCDMX-SfN

14. PUBLICACIONES



Threshold for copulation-induced analgesia varies according to the ejaculatory endophenotypes in rats

Carlos E. Aguilar-Pérez^{1,2} · Porfirio Gómora-Arrati³ · Barry R. Komisaruk⁴ · Maria Reyna Fuentes-Morales^{2,5} · Julio César Morales-Medina³ · Oscar González-Flores³ · Rosa Angélica Lucio²

Received: 12 March 2020 / Revised: 5 November 2020 / Accepted: 27 November 2020
© The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature Limited 2020

Abstract

Analgesia may be modulated by multiple internal and external factors. In prior studies, copulatory-induced analgesia was demonstrated using the vocalization threshold to tail shock (VTTS) in male and female rats. Three ejaculatory endophenotypes have been characterized in male Wistar rats based upon their ejaculation latency (EL). Since intromissions and ejaculations produce analgesia, and these copulatory patterns are performed with different frequency depending on the male's ejaculatory endophenotype, we hypothesized that copulation-induced analgesia would vary in relation to these endophenotypes. In the present study, we used three groups according to the EL (medians): rapid ejaculators (236 s; $n = 21$), intermediate ejaculators (663.2 s; $n = 20$) and sluggish ejaculators (1582.2 s; $n = 8$). Our aim was to evaluate whether copulation-induced analgesia is related to the ejaculatory endophenotypes during two consecutive ejaculatory series (EJS). In the first EJS, the VTTS of the rapid ejaculators was significantly higher than that of intermediate and sluggish rats. At the onset of the second EJS, the VTTS of the rapid and intermediate ejaculators was significantly higher than that of the sluggish rats. No differences in VTTS were observed during the first or second post-ejaculatory intervals among the three groups. These findings provide evidence that the more intromissions that occurred per unit time, the higher was the level of analgesia.

Supplementary information The online version of this article (<https://doi.org/10.1038/s41443-020-00390-8>) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ Rosa Angélica Lucio
lucioral@yahoo.com.mx

¹ Doctorado en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Tlaxcala, Mexico

² Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Carretera Tlaxcala-Puebla Km 1.5s/n, Loma Xicoténcatl, CP 90062, Tlaxcala, Tlax, Mexico

³ Centro de Investigación en Reproducción Animal, Carlos Beyer, CINVESTAV-Universidad Autónoma de Tlaxcala, Apdo. Postal 62, Panotla 90140, Mexico

⁴ Department of Psychology, Rutgers University, 101 Warren St., Newark, NJ 07102, USA

⁵ Doctorado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, CP 04510 Ciudad de México, Mexico

Introduction

Analgesia may be defined as the attenuation of pain response to nociceptive stimuli [1]. In male rats, analgesia is produced by copulation [2–6]. Intromissions result in a higher level of analgesia than that provided by mounts, i.e., five intromissions produce twice the degree of analgesia as 5 mounts [4], and ejaculation produces triple of analgesia than 5 mounts, persisting during the post-ejaculatory interval [4]. Intromissions represent a higher intensity of sexual stimulation than mounts [7].

Electrical stimulation of flanks [2] or tail [4] produced an audible squeak in response to the tail shock that was attenuated by copulation (one or five intromissions or ejaculation) [4]. Other measures, e.g., an increase in latency to paw-licking during hot-plate exposure immediately after ejaculation, have been used as indicators of analgesia; this effect was not maintained during the postejaculatory interval (PEI) [3]. Another measure of analgesia in rats that has been utilized is the vocalization threshold to tail shock (VTTS), i.e., an elevation in the intensity of electrical current that will elicit an audible vocalization. VTTS increased

during copulation and after ejaculation [4]. VTTS increased further during a second ejaculatory series [4].

Male rats can be characterized as rapid, intermediate, and sluggish ejaculators depending on the number of mounts, ejaculation latency, and number of ejaculations per unit time [8, 9]. Also, they differ in the number of intromissions and in the intromission ratio [10]. “Rapid” ejaculators were found in 10% of rats (4 or 5 ejaculations/30 min), “sluggish” ejaculators were found in another 10% (0 or 1 ejaculation/30 min), and “intermediate” ejaculators comprised 80% of rats (2 or 3 ejaculations/30 min) [8, 9]. Since intromissions and ejaculations produce analgesia [4], and these copulatory patterns are performed with different frequency among ejaculatory endophenotypes [8, 9], we hypothesized that males will have different levels of analgesia depending on their pattern of copulatory activity.

Materials and methods

Animals

Wistar rats (3–4 months of age; 300–350 g body weight) obtained from the Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta vivarium were used. Males ($n = 75$) and females (naive as to sexual behavior experience) were maintained in laboratory conditions in a room with a reversed light–dark cycle (12:12), and controlled temperature (23 ± 2 °C), with food (Purina Chow) and water freely available. Rats were housed two or three per acrylic cage in the vivarium. The cage contained sawdust as bedding. Estrous behavior was induced in ovariectomized rats by subcutaneous administration of estradiol benzoate (10 μ g in olive oil; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) followed by progesterone (2 mg dissolved in olive oil; Sigma-Aldrich) at 48 and 4 h, respectively, before each copulatory test [11, 12]. All procedures described in this study were in accordance with the Mexican Official Norm on Laboratory Animals’ Care (NOM-062-Z00-1999), National Institutes of Health Guide for the Care and Use of Laboratory Animals and Improving Bioscience Research Reporting: The ARRIVE Guidelines for Reporting Animal Research [13].

Identification of ejaculatory endophenotypes in rats

To identify the ejaculatory endophenotype in rats, all males were trained during seven copulatory tests performed every 3–4 days in a randomized protocol in which the observer was blind as to the conditions. The experimental unit for these experiments was each rat. Sexual behavior was observed during the dark phase, under dim red-light illumination. The males were placed in a circular Plexiglas

mating arena (50 cm diameter and 50 cm height) with wood shavings covering the floor for 5 min to habituate. Immediately afterward, a sexually receptive female was introduced into the mating arena.

The copulatory observation was terminated at 15 min if the male did not show copulatory patterns or only mounting behavior, or at 30 min after the first intromission if no ejaculation, or at the time of ejaculation. Conventional copulatory parameters registered were as follows: mount, intromission, and ejaculation latencies (ML, IL, EL; expressed in seconds); the number of mounts and intromissions (NM, NI); and the post-ejaculatory interval (PEI, expressed in seconds.) The inter-intromission interval was calculated as follows: EL/NI, also expressed in seconds.

Only those males that ejaculated maintaining a consistent ejaculation latency were selected according to their ejaculatory phenotype (49 of 75 subjects). The values of the ejaculation latency, that we obtained and expressed as [median (first quartile–third quartile)] was similar to previous reported values expressed as means \pm standard error. Thus, ejaculation latency was [236 (217.2–300.4) s] for rapid, [663.2 (583.6–906.9) s] for intermediate, and [1582.2 (1351.2–2116.79) s] for sluggish ejaculators. The average ejaculation latency was 247 ± 45 s for rapid, 717 ± 133 s for intermediate, and 1697 ± 80 s for the sluggish ejaculators, in accordance with the values previously described in other reports [8, 9].

Nociception testing

The VTTS was determined in freely-moving rats as described elsewhere, divided into the three groups selected according to the copulatory endophenotype [4]. Two stainless steel electrodes were attached to the tail through an adjustable cylindrical plastic cuff that was then taped onto the tail. Conductive gel was applied to the skin of the tail before attaching electrodes. The electrodes were connected and prevented from tangling by the use of a commutator. This procedure did not noticeably hinder the movement of the rats. Electrical shocks (50 ms trains of 60 Hz symmetrical biphasic square waves; pulse duration = 4 ms) were delivered with a constant current shock generator (Nuclear-Chicago, Des Plaines, IL, USA). The current was increased stepwise in 100 μ A units until vocalization was elicited (upper shock level) and then decreased until vocalization ceased (lower shock level). This procedure was repeated three times, shocks being delivered once every 10 s. The three upper shock levels were averaged to provide an estimate of the vocalization threshold. There were no shocks above 2000 μ A. VTTS tests took from 1–3 min to perform, depending on the threshold of the subjects [4, 5].

Experimental procedure

VTTS was evaluated during two ejaculatory series (EJS1, EJS2, after the first intromission of each series), and in their respective PEI1, PEI2. Subjects of each endophenotype: rapid ($n = 21$), intermediate ($n = 20$) or sluggish ($n = 8$), were introduced randomly into the mating arena and pre-copulatory baseline VTTS values were determined. Three min later an estrous female was introduced and VTTS was measured as soon as subjects demonstrated the first intromission, and immediately after ejaculation, i.e., during the PEI. One week later, in order to assess the effect of repeated testing, the same males were evaluated in the VTTS without the female present. The data obtained were expressed as percent change with respect to baseline VTTS. In addition, we recorded the conventional copulatory parameters.

Statistical analysis

The comparison of the VTTS during EJS1 among rapid, intermediate, and sluggish ejaculators was analyzed using the Kruskal Wallis ANOVA followed by the Mann–Whitney U test. The same procedure was used to compare the EJS2, PEI1, and PEI2. The comparison of the VTTS among EJS1, EJS2, PEI1, and PEI2 of each copulatory endophenotype was analyzed using the Friedman test followed by the Bonferroni test.

The comparison of the copulatory parameters during EJS1 among rapid, intermediate and sluggish ejaculators was analyzed using the Kruskal Wallis test followed by the Mann–Whitney U test. The same procedure was used to compare the EJS2, PEI1, and PEI2. Data were analyzed using a confidence level of 95% ($P < 0.05$). Statistical analysis was performed using SPSS software for Windows 10.

Results

The comparison of VTTS among rapid, intermediate, and sluggish ejaculators during EJS1 is shown in Fig. 1a. The same comparisons were performed in EJS2 (Fig. 1a), PEI1, and PEI2 (Fig. 1b). During EJS1 the VTTS of rapid was significantly higher than that of the intermediate and sluggish ejaculators. During EJS2, the VTTS of rapid was significantly higher than that of sluggish ejaculators. Intermediate ejaculators showed significantly higher VTTS than the sluggish ejaculators. The VTTS among endophenotypes during PEI1, PEI2 did not differ significantly. Statistical comparisons of VTTS during EJS1, EJS2, PEI1, and PEI2 are shown in Table 1.

Figure 2 shows the comparison of VTTS among EJS1, EJS2, PEI1, and PEI2 of rapid ejaculators. The same comparison was performed in intermediate and sluggish

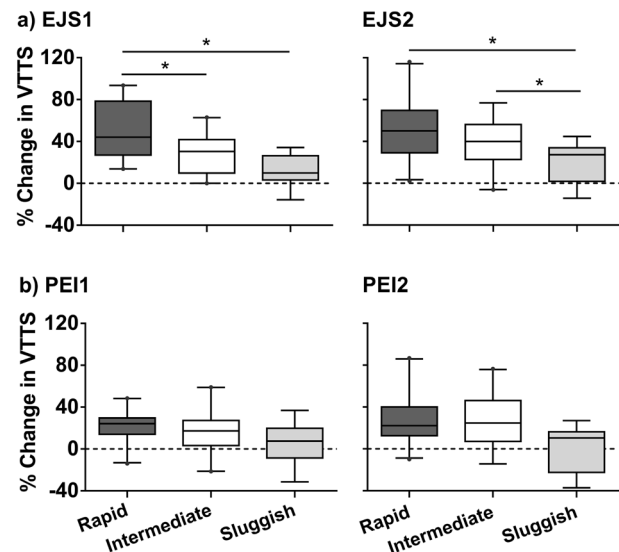


Fig. 1 Vocalization threshold to tail shock (VTTS) among rapid, intermediate, and sluggish ejaculators. **a** In both ejaculatory series (EJS1, EJS2) rapid ejaculators showed higher VTTS than intermediate and sluggish ones. **b** In both postejaculatory intervals (PEI1, PEI2) no differences were observed. Data are expressed as median and first quartile-third quartile. Kruskal Wallis followed by the Mann–Whitney test; * $P < 0.05$.

Table 1 Vocalization threshold to tail shock (VTTS) of rapid, intermediate and sluggish ejaculators.

	VTTS of rapid ($n = 21$)	VTTS of intermediate ($n = 20$)	VTTS of sluggish ($n = 8$)	Kruskal-Wallis
EJS1	44 ^{a,+} (38.2–62.6)	30.4 ^{b,+} (19.6–37.4)	9.9 ^{b,+,&} (–1.7 to –24.7)	H = 13.7 $P = 0.001$
PEI1	24.1 ^{&} (14.4–29.5)	17.2 ^{&} (6.3–26.9)	7.5 ⁺ (–11.8 to –23.0)	H = 4.5 $P = 0.101$
EJS2	50 ^{a,+} (38.9–64.4)	39.9 ^{a,+} (25.9–49)	27.2 ^{b,&} (3.8–37.2)	H = 7.9 $P = 0.019$
PEI2	22.2 ^{&} (17.3–39.4)	24.8 ^{&,+} (14.8–39)	10.4 ⁺ (–17.9 to –20.1)	H = 5.9 $P = 0.052$
Friedman	F = 31.5 $P = 0.001$	F = 20.2 $P = 0.001$	F = 10.8 $P = 0.013$	

Data are expressed as median (first quartile-third quartile). Different super index letters indicate that the group values differ significantly among copulatory endophenotypes (see rows; Kruskal-Wallis), $P < 0.05$. Different super index symbols indicate that the group values differ significantly among the endophenotypes (see columns; Friedman), $P < 0.05$.

EJS1 First ejaculatory series, *EJS2* Second ejaculatory series, *PEI1* First postejaculatory interval, *PEI2* Second postejaculatory interval.

ejaculators. In rapid ejaculators, VTTS was significantly higher in EJS1 than PEI1 and PEI2. VTTS was significantly higher in EJS2 than PEI1 and PEI2. In intermediate ejaculators, VTTS during EJS1 was significantly higher than in PEI1, and VTTS EJS2 was significantly higher than in

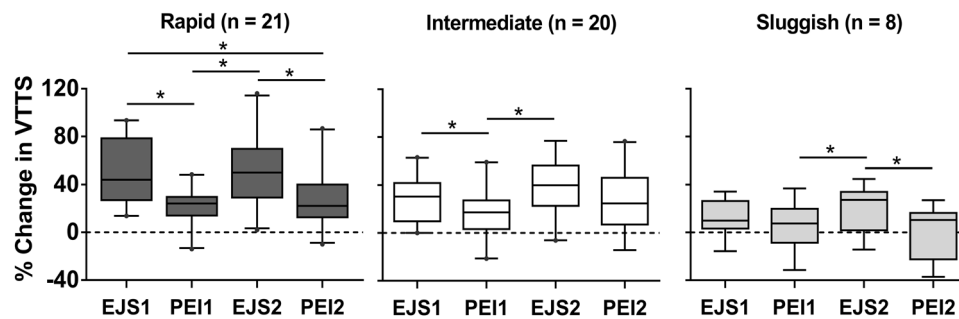
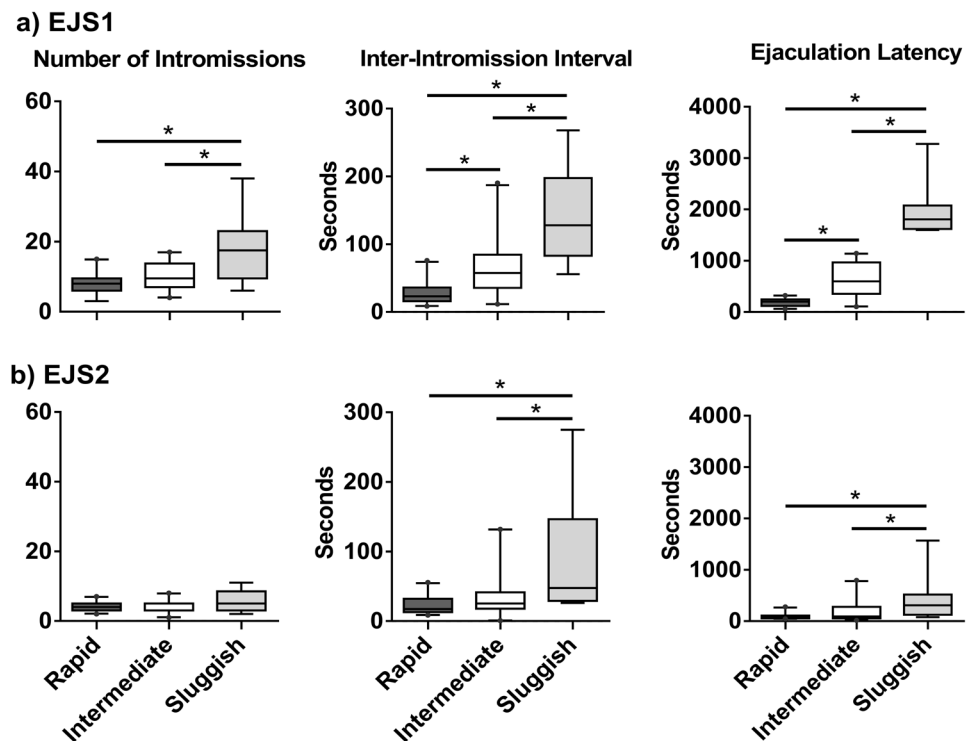


Fig. 2 Vocalization threshold to tail shock (VTTs) in each endophenotype throughout two ejaculatory series (EJS1, EJS2) and two postejaculatory intervals (PEI1, PEI2). Rapid ejaculators showed higher VTTs in EJS1 and EJS2 compared to both PEI.

Intermediate ejaculators showed higher VTTs during both EJS than the PEI1. Sluggish ejaculators showed higher VTTs during the EJS2 compared to both PEI. Data are expressed as median and first quartile-third quartile. Friedman test followed by Bonferroni test; * $P < 0.05$.

Fig. 3 Copulatory parameters of rapid, intermediate, and sluggish ejaculators in two ejaculatory series. Note that the number of intromissions, the inter-intromission interval and the ejaculation latency show more significant differences among copulatory endophenotypes in the first (a) than in the second ejaculatory series (b). Data are expressed as median and first quartile-third quartile. Kruskal Wallis followed by the Mann-Whitney test; * $P < 0.05$.



PEI1. In the sluggish ejaculators, VTTs during EJS2 was significantly higher than PEI1 and PEI2.

The copulatory parameters are shown in Fig. 3. During EJS1, the rapid ejaculators showed a significantly lower NI than the sluggish ejaculators. The NI of intermediate ejaculators was lower than the sluggish ejaculators (Fig. 3a). The III was significantly shorter in rapid ejaculators than sluggish ejaculators. Also, the III of rapid ejaculators was significantly shorter than of the intermediate ejaculators. The III of intermediate ejaculators was significantly shorter than that of the sluggish ejaculators (Fig. 3a). The EL was shorter in the rapid than the sluggish ejaculators. The EL of the rapid ejaculators was significantly shorter than that of

the intermediate ejaculators. In addition, the EL of the intermediate ejaculators was significantly shorter than of the sluggish ejaculators (Fig. 3a).

In Fig. 3b, the EJS2 did not show a significant difference in NI among the rapid, intermediate and sluggish ejaculators. However, the III was shorter in the rapid than the sluggish ejaculators. The intermediate ejaculators also showed a significantly shorter III than the sluggish ejaculators. The EL was significantly shorter in the rapid ejaculators than the sluggish ejaculators. The EL of the intermediate ejaculators was significantly shorter than of the sluggish ejaculators. Statistical comparisons of copulatory parameters are summarized in Table 2.

Table 2 Copulatory parameters of rapid, intermediate and sluggish ejaculators.

	Rapid (<i>n</i> = 21)	Intermediate (<i>n</i> = 20)	Sluggish (<i>n</i> = 8)	Kruskal–Wallis
EJS1				
Number of intromissions	8.0 ^a (6.6–9.3)	9.5 ^a (8.3–11.9)	17.5 ^b (9.4–26.4)	H = 10.3 P = 0.006
Inter-intromission interval (s)	23.2 ^a (19.7–35.2)	57.9 ^b (45.5–85.8)	127.9 ^c (80.1–199.9)	H = 24.4 P = 0.001
Ejaculation latency (s)	201 ^a (155.4–228.4)	599 ^b (484.4–790.3)	1804.5 ^c (1513.9–2441.8)	H = 32.9 P = 0.001
EJS2				
Number of intromissions	4 (3.6–4.8)	3 (2.9–4.6)	5 (2.9–8.3)	H = 2.6 P = .279
Inter-intromission interval (s)	17.3 ^a (17.2–28.7)	25.4 ^a (21.7–55.5)	47.7 ^b (11.9–162.3)	H = 10.8 P = 0.004
Ejaculation latency (s)	73 ^a (66.6–114.3)	91 ^a (93.8–282.8)	308 ^b (36.8–843.9)	H = 10.5 P = 0.005

Data are expressed as median (first quartile–third quartile). The last three copulatory tests were averaged. Different super index letters indicate significant group differences, $P < 0.05$.

EJS1 first ejaculatory series. *EJS2* second ejaculatory series.

Discussion

The present results provide evidence that male rats belonging to the different ejaculatory endophenotypes showed different VTTS values; the rapid ejaculators presented the highest values. Although the sluggish males shortened their ejaculation latency in EJS2, it was still longer than that of the other endophenotypes in EJS2. The VTTS of sluggish ejaculators was lower than that of the rapid and intermediate ejaculators. Since the increase in VTTS is interpreted as indicative of analgesia, then the rapid ejaculators manifested the highest level of analgesia, presumably due to the most intromissions per unit time.

A possible ontogenic basis for the differences in ejaculation latency

Some studies have shown anatomical differences related to peripheral innervation in men with premature ejaculation, i.e., an increased number of branches of the dorsal penile nerve [14, 15], related to higher tactile sensitivity [16, 17]. The surgical transection of some of those nerve branches in men produced an increase in the ejaculatory latency [15]. Those findings suggest that a greater number of sensory fibers enable a shorter ejaculation latency, perhaps in rats as well as humans. Development of myelination of sensory fibers of the sural nerve was facilitated by maternal licking in early postnatal life [18]. Thus, it is possible that the genital licking could stimulate myelination of the dorsal penile nerve, i.e., the sensory branch of the pudendal nerve. Deficient maternal licking may lead to sub-optimal myelination and hence low penile sensitivity in sluggish

ejaculators. A greater level of maternal licking could result in higher penile sensitivity, which could shorten the ejaculation latency in rapid ejaculators. Male rats that receive a relatively low level of genital licking may also develop lower dendritic density in the motoneurons that innervate the bulbospongiosus muscle involved in the ejaculatory motor pattern [19]. Other evidence indicated that genital licking of the pups by the dam during the early postnatal period was associated with penile erections in ex copula conditions; less genital licking resulted in fewer penile erections [20]. Thus, it is possible that during their early postnatal period, the rapid ejaculators in the present study received more genital licking than the other copulatory endophenotypes males.

Possible neurotransmitter basis for differences in male copulation-induced analgesia

The degree of copulatory analgesia was correlated with sexual stimulation on the basis that successive intromissions led to increased pain thresholds. Genital stimulation during mounts and intromission increased sexual stimulation, and also decreased pain perception [4]. Ejaculation resulted in GABA release [21, 22] briefly inhibiting copulation after ejaculation [23], also inducing analgesia [24]. Other neurotransmitters (e.g., serotonin and opioids) are involved in male copulatory behavior [5, 9, 25, 26], and in analgesic processes [2, 5, 27, 28]. For example, serotonin may facilitate the display of copulatory behavior, as the administration of 5-HT-1A receptor agonists (8-OH-DPAT, buspirone and flexinosane) shorten the ejaculation latency [29]. In addition, methysergide, a serotonin antagonist, reduced

copulatory-induced analgesia [5]. Thus intromissions may increase serotonin release in male rats, contributing to copulatory analgesia.

During copulation, opioids are released in relation to ejaculation, suggesting their participation in copulatory-induced reward [30]. Morphine administration (non-selective opioid agonist) reduced the ejaculation latency [25]. This suggests that the reward-inducing effect of opioids occurs simultaneously with copulatory-induced analgesia [2, 3, 5]. Rapid ejaculators may have more opioid receptors and/or greater release of opioids than sluggish ejaculators, thereby contributing to their shortest ejaculation latency and highest degree of analgesia [5, 25].

Copulation is a rewarding behavior modulated by the mesolimbic dopaminergic system. Endocannabinoids released by copulation activate the mesolimbic system, the activation of which releases dopamine [31]. Endocannabinoids such as anandamide facilitate sexual behavior in normal active males, but also in sluggish males by reducing the ejaculation latency [32]. Endocannabinoids act on CB1 receptors that are present in the spinal cord among other structures of the central nervous system. The activation of CB1 receptors facilitates male sexual behavior, and also participates in analgesia [33].

Sensory activity generated from the genital region during copulation produces copulatory analgesia [5]. Serotonin is released into the spinal cord by descending fibers from raphe neurons [34]. The raphe nucleus produces analgesia in response to electrical stimulation [35], and its firing rate increases during sexual arousal associated with the initiation of copulation [36]. In addition, opiate [37] and GABAergic [38] spinal neurons are activated when nerves of the pelvic structures are stimulated. Ejaculation-produced GABA release [21] could inhibit both sexual behavior (i.e., resulting in the refractory period), and the pain response. The balance between these two effects could differ among the ejaculator endophenotypes. The medial preoptic region plays a critical role in the control of male sexual behavior [7]; it projects to the periaqueductal gray in the midbrain, which projects to the paragigantocellular nucleus in the pons, from which fibers descend to the spinal nuclei that control ejaculation [39]. As the periaqueductal gray also modulates sensitivity to pain and is neurochemically heterogeneous [40], this heterogeneity could contribute to the ejaculatory endophenotypes variability.

During copulation, the genital stimulation is transmitted by the sensory dorsal penile nerve to the sacral spinal cord [41]. Sensory spinal cord information reaches the oxytocinergic neurons of the paraventricular nucleus of the hypothalamus [42]. Those neurons project directly via descending fibers to the lumbosacral spinal cord [42] releasing oxytocin that facilitates penile erection [43–45]. On the other hand, oxytocin also induces analgesia [46, 47]. Oxytocin mediates

analgesia produced by copulation in male rats [48]. It is probable that there is significant oxytocin release in the spinal cord of the rapid ejaculators.

Intromissions, rather than ejaculation, induce analgesia mediated by central oxytocin [48]. In the present study evaluating VTTS during copulation, we found that pain threshold was increased during intense copulatory behavior, i.e., in the EJS1 of rapid males and in the EJS2 of rapid and intermediate males. It is possible that sexual stimulation is increased quickly in rapid ejaculators due to the shortest inter-intromission interval in EJS1, possibly due to more sensory genital nerve branches, and more activated oxytocinergic neurons of the paraventricular nucleus, and consequently more release of oxytocin. During the EJS2, rapid and intermediate males presented similar VTTS. In this case, perhaps the accumulated sexual stimulation of the EJS1 facilitated the oxytocin release of more neurons, thus producing the comparable levels of analgesia among them.

Female rats also show copulation-induced analgesia

The first analgesia studies were performed in female rats [49], in response to artificial vagino-cervical stimulation. This stimulus also produced oxytocin release in the spinal cord [50, 51]. Consistent with this finding, analgesia by natural vagino-cervical stimulation during mating was reduced by atosiban, an oxytocin receptor antagonist, indicating that

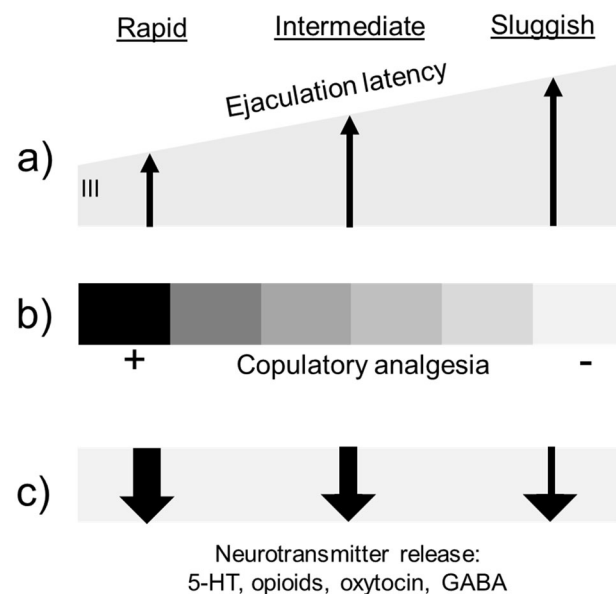


Fig. 4 Hypothetical schema to account for copulatory analgesia. **a** Rapid ejaculators showed the shortest III, and the sluggish males the longest III, indicating more sexual activity by the former. **b** Rapid ejaculators presented the highest copulatory analgesia compared to the sluggish males. **c** Rapid ejaculators had the highest analgesia and the shortest ejaculation latency, possibly related to their relatively highest level of release of 5-HT, opioids, oxytocin, GABA, and/or density of the corresponding receptors. III inter-intromission interval.

copulation-induced analgesia is regulated by endogenous oxytocin also in female rats [52].

Conclusion

Sensory impulses that arise from the internal and external genital structures during copulation generate analgesia. The level of analgesia depends on the speed of copulation in male rats; i.e., the shorter the inter-intromission interval, the higher the level of analgesia (Fig. 4). This could be due in part to neurotransmitter release of 5-HT, opioids, oxytocin, and GABA in the spinal cord [5, 33, 34, 46], and/or due to a higher density of the corresponding receptors. Future pharmacological analyses are required to understand the neurochemical processes related to copulatory analgesia occurring in male rats with different ejaculatory endophenotypes. Evolutionarily, copulatory analgesia of rapid males could provide an adaptive advantage by reducing aversive penile sensation, thereby enabling a higher number of ejaculatory series per unit time.

Acknowledgements We thank the “Posgrado en Ciencias Biológicas” of the Universidad Autónoma de Tlaxcala for the training received during the Doctorate studies.

Funding This research was partially supported by PROMEP/103.5/09/1294, and CONACYT [grant 1134291 (OGF), and fellowships 487025/277841 (CEAP) and 400424 (MRFM)].

Compliance with ethical standards

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

Publisher’s note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

References

1. Yaksh T. The effects of intrathecal administered opioid and adrenergic agents of spinal function. In: Yaksh T, editor. *Spinal afferent processing*. New York: Plenum Press; 1986. p. 505–39. <https://doi.org/10.1007/978-1-4684-4994-5>.
2. Szechtman H, Hershkowitz M, Simantov R. Sexual behavior decreases pain sensitivity and stimulates endogenous opioids in male rats. *Eur J Pharmacol*. 1981;70:279–85. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(81\)90161-8](https://doi.org/10.1016/0014-2999(81)90161-8).
3. Forsberg G, Wiesenfeld-Hallin Z, Eneroth P, Södersten P. Sexual behavior induces naloxone-reversible hypoalgesia in male rats. *Neurosci Lett*. 1987;81:151–4. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(87\)90356-9](https://doi.org/10.1016/0304-3940(87)90356-9).
4. González-Mariscal G, Gómora P, Caba M, Beyer C. Copulatory analgesia in male rats ensues from arousal, motor activity, and genital stimulation: blockage by manipulation and restraint. *Physiol Behav*. 1992;51:775–81. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(92\)90115-I](https://doi.org/10.1016/0031-9384(92)90115-I).
5. González-Mariscal G, Gómora P, Beyer C. Participation of opiate, GABAergic, and serotonergic systems in the expression of copulatory analgesia in male rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 1994;49:303–7. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(94\)90425-1](https://doi.org/10.1016/0091-3057(94)90425-1).
6. Saldívar-González A, Fernández-Guasti A. Ejaculation induced changes in escape latency in the hot plate test: pharmacological analysis of anxiolytic versus analgesic effect. *Behav Brain Res*. 1994;60:191–8. [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(94\)90147-3](https://doi.org/10.1016/0166-4328(94)90147-3).
7. Sachs BD, Barfield RJ. Functional analysis of masculine copulatory behavior in the rat. In: Rosenblatt JS, Hinde RA, Shaw E, Beer C, editors. *Advances in the Study of Behavior*, vol 7. Academic Press; 1976. p. 91–154. [https://doi.org/10.1016/S0065-3454\(08\)60166-7](https://doi.org/10.1016/S0065-3454(08)60166-7).
8. Pattij T, Olivier B, Waldinger M. Animal models of ejaculatory behavior. *Curr Pharm Des*. 2005;145:10–20. <https://doi.org/10.2174/138161205774913363>.
9. Olivier B, Chan JSW, Pattij T, de Jong TR, Oosting RS, Veening JG, et al. Psychopharmacology of male rat sexual behavior: modeling human sexual dysfunctions?, *Int J Impot Res*. 2006; S14–S23. <https://doi.org/10.1038/sj.ijir.3901330>.
10. Borgdorff AJ, Rössler AS, Clément P, Bernabé J, Alexandre L, Giuliano F. Differences in the spinal command of ejaculation in rapid ejaculating rats. *J Sex Med*. 2009;6:2197–205. <https://doi.org/10.1111/j.1743-6109.2009.01308.x>.
11. Zipse LR, Brandling-Bennett EM, Clark AS. Paced mating behavior in the naturally cycling and the hormone-treated female rat. *Physiol Behav*. 2000;70:205–9. [https://doi.org/10.1016/S0031-9384\(00\)00242-0](https://doi.org/10.1016/S0031-9384(00)00242-0).
12. Lucio RA, Rodríguez-Piedracruz V, Tlachi-López JL, García-Lorenzana M, Fernández-Guasti A. Copulation without seminal expulsion: the consequence of sexual satiation and the Coolidge effect. *Andrology*. 2014;2:450–7. <https://doi.org/10.1111/j.2047-2927.2014.00209.x>.
13. Kilkeny C, Browne WJ, Cuthill IC, Emerson M, Altman DG. Improving bioscience research reporting: the ARRIVE guidelines for reporting animal research. *PLoS Biol*. 2010;8:e1000412. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000412>.
14. Zhang HF, Zhang CY, Li XH, Fu ZZ, Chen ZY. Dorsal penile nerves and primary premature ejaculation. *Chin Med J*. 2009;122:3017–9. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0366-6999.2009.24.020>.
15. Zhang GX, Yu LP, Bai WJ, Wang XF. Selective resection of dorsal nerves of penis for premature ejaculation. *Int J Androl*. 2012;35:873–9. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.2012.01296.x>.
16. Guo L, Liu Y, Wang X, Yuan M, Yu Y, Zhang X, et al. Significance of penile hypersensitivity in premature ejaculation. *Sci Rep*. 2017;7:10441–6. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09155-8>.
17. Paick JS, Jeong H, Park MS. Penile sensitivity in men with premature ejaculation. *Int J Impot Res*. 1998;10:247–50. <https://doi.org/10.1038/sj.ijir.3900368>.
18. Segura B, Melo AI, Fleming AS, Mendoza-Garrido ME, González del Pliego M, Aguirre-Benitez EL, et al. Early social isolation provokes electrophysiological and structural changes in cutaneous sensory nerves of adult male rats. *Dev Neurobiol*. 2014;74:1184–93. <https://doi.org/10.1002/dneu.22197>.
19. Lenz KM, Sengelaub DR. Maternal licking influences dendritic development of motoneurons in a sexually dimorphic neuromuscular system. *Brain Res*. 2006;1092:87–99. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2006.03.070>.
20. Lenz KM, Graham MD, Parada M, Fleming AS, Sengelaub DR, Monks DA. Tactile stimulation during artificial rearing influences adult function and morphology in a sexually dimorphic neuromuscular system. *Dev Neurobiol*. 2008;68:542–57. <https://doi.org/10.1002/dneu.20608>.

21. Qureshi GA, Södersten P. Sexual activity alters the concentration of amino acids in the cerebrospinal fluid of male rats. *Neurosci Lett*. 1986;70:374–8. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(86\)90582-3](https://doi.org/10.1016/0304-3940(86)90582-3).
22. Hull EM, Bitran D, Pehek EA, Warner RK, Band LC, Holmes GM. Dopaminergic control of male sex behavior in rats: effects of an intracerebrally-infused agonist. *Brain Res*. 1986;370:73–81. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(86\)91106-6](https://doi.org/10.1016/0006-8993(86)91106-6).
23. Fernández-Guasti A, Larsson K, Beyer C. GABAergic control of masculine sexual behavior. *Pharmacol Biochem Behav*. 1986;24:1065–70. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(86\)90456-9](https://doi.org/10.1016/0091-3057(86)90456-9).
24. Sawynok J. GABAergic mechanisms of analgesia: an update. *Pharmacol Biochem Behav*. 1987;26:463–74. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(87\)90148-1](https://doi.org/10.1016/0091-3057(87)90148-1).
25. Agmo A, Paredes R. Opioids and sexual behavior in the male rat. *Pharmacol Biochem Behav*. 1988;30:1021–34. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(88\)90135-9](https://doi.org/10.1016/0091-3057(88)90135-9).
26. Veening JG, Coolen LM. Neural mechanisms of sexual behavior in the male rat: emphasis on ejaculation-related circuits. *Pharmacol Biochem Behav*. 2014;121:170–83. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2013.12.017>.
27. Basbaum AI, Fields HL. Endogenous pain control mechanisms: review and hypothesis. *Ann Neurol*. 1978;4:451–62. <https://doi.org/10.1002/ana.410040511>.
28. Basbaum AI, Bautista DM, Scherrer G, Julius D. Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell*. 2009;139:267–84. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.09.028>.
29. Waldinger MD. The neurobiological approach to premature ejaculation. *J Urol*. 2002;168:2359–67. [https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(05\)64146-8](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(05)64146-8).
30. Agmo A, Berenfeld R. Reinforcing properties of ejaculation in the male rat: role of opioids and dopamine. *Behav Neurosci*. 1990;104:177–82. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.104.1.177>.
31. Lupica CR, Riegel AC. Endocannabinoid release from midbrain dopamine neurons: a potential substrate for cannabinoid receptor antagonist treatment of addiction. *Neuropharmacology*. 2005;48:1105–16. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2005.03.016>.
32. Rodríguez-Manzo G, Canseco-Alba A. Anandamide reduces the ejaculatory threshold of sexually sluggish male rats: possible relevance for human lifelong delayed ejaculation disorder. *J Sex Med*. 2015;12:1128–35. <https://doi.org/10.1111/jsm.12866>.
33. Rice ASC, Farquhar-Smith WP, Nagy I. Endocannabinoids and pain: spinal and peripheral analgesia in inflammation and neuropathy. *Prostag Leukotr Ess Fat Acids*. 2002;66:243–56. <https://doi.org/10.1054/plef.2001.0362>.
34. Sorkins LS, McAdoo DJ, Willis WD. Raphe magnus stimulation-induced antinociception in the cat is associated with release of amino acids as well as serotonin in the lumbar dorsal horn. *Brain Res*. 1993;618:95–108. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(93\)90433-n](https://doi.org/10.1016/0006-8993(93)90433-n).
35. Hammond DL, Levy RA, Proudfit HK. Hypoalgesia induced by microinjection of a norepinephrine antagonist in the nucleus raphe magnus: reversal by intrathecal administration of a serotonin antagonist. *Brain Res*. 1980;201:475–9. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(80\)91056-2](https://doi.org/10.1016/0006-8993(80)91056-2).
36. Jacobs BL. Central monoaminergic neurons: single-unit studies in behaving animals. In: Meltzer HY, editor. *Psychopharmacology*. 3rd ed. New York: Raven Press; 1987. p. 159–69. <https://doi.org/10.1002/mds.870040114>.
37. Gintzler AR, Peters LC, Komisaruk BR. Attenuation of pregnancy-induced analgesia by hypogastric neurectomy in rats. *Brain Res*. 1983;277:186–8. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(83\)90924-1](https://doi.org/10.1016/0006-8993(83)90924-1).
38. Roberts LA, Beyer C, Komisaruk BR. Nociceptive responses to altered GABAergic activity at the spinal cord. *Life Sci*. 1986;39:1667–74. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(86\)90164-5](https://doi.org/10.1016/0024-3205(86)90164-5).
39. Mantyh PW, Peschanski M. Spinal projections from the periaqueductal grey and dorsal raphe in the rat, cat and monkey. *Neuroscience*. 1982;7:2769–76. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(82\)90099-9](https://doi.org/10.1016/0306-4522(82)90099-9).
40. Moss MS, Basbaum AI. The peptidergic organization of the cat periaqueductal grey. II. The distribution of immunoreactive substance P and vasoactive intestinal polypeptide. *J Neurosci*. 1983;3:1437–49. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.03-07-01437.1983>.
41. McKenna KE, Nadelhaft I. The organization of the pudendal nerve in the male and female rat. *J Comp Neurol*. 1985;248:532–49. <https://doi.org/10.1002/cne.902480406>.
42. Swanson LW, Kuypers HGJM. The paraventricular nucleus of the hypothalamus: cytoarchitectonic subdivisions and organization of projections to the pituitary, dorsal vagal complex, and spinal cord as demonstrated by retrograde fluorescence double-labeling methods. *J Comp Neurol*. 1980;194:555–70. <https://doi.org/10.1002/cne.901940306>.
43. Argiolas A, Melis MR. The role of oxytocin and the paraventricular nucleus in the sexual behaviour of male mammals. *Physiol Behav*. 2004;83:309–17. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2004.08.019>.
44. Véronneau-Longueville F, Rampin O, Freund-Mercier MJ, Tang Y, Calas A, Marson L, et al. Oxytocinergic innervation of autonomic nuclei controlling penile erection in the rat. *Neuroscience*. 1999;95:247–54. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(99\)00262-6](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(99)00262-6).
45. Baskerville TA, Allard J, Wayman C, Douglas AJ. Dopamine-oxytocin interactions in penile erection. *Eur J Neurosci*. 2009;30:2151–64. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2009.06999.x>.
46. Rojas-Piloni G, López-Hidalgo M, Martínez-Lorenzana G, Rodríguez-Jiménez J, Condés-Lara M. GABA-mediated oxytocinergic inhibition in dorsal horn neurons by hypothalamic paraventricular nucleus stimulation. *Brain Res*. 2007;1137:69–77. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2006.12.045>.
47. González-Hernández A, Rojas-Piloni G, Condés-Lara M. Oxytocin and analgesia: future trends. *Trends Pharmacol Sci*. 2014;35:549–51. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2014.09.004>.
48. Futagami H, Sakuma Y, Kondo Y. Oxytocin mediates copulation-induced hypoalgesia of male rats. *Neurosci Lett*. 2016;618:122–6. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2016.03.007>.
49. Komisaruk BR, Larsson K. Suppression of a spinal and a cranial nerve reflex by vaginal or rectal probing in rats. *Brain Res*. 1971;35:231–5. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(71\)90608-1](https://doi.org/10.1016/0006-8993(71)90608-1).
50. Sansone GR, Gerdes CA, Steinman JL, Winslow JT, Ottenweller JE, Komisaruk BR, et al. Vaginal stimulation releases oxytocin within the spinal cord in rats. *Neuroendocrinology*. 2002;75:306–15. <https://doi.org/10.1159/000057340>.
51. Komisaruk BR, Sansone G. Neural pathways mediating vaginal function: the vagus nerves and spinal cord oxytocin. *Scand J Psychol*. 2003;44:241–50. <https://doi.org/10.1111/1467-9450.00341>.
52. Gómora P, González-Flores O, Galicia-Aguas YL, Hoffman KL, Komisaruk BR. Copulation-induced antinociception in female rats is blocked by atosiban, an oxytocin receptor antagonist. *Horm Behav*. 2019;107:76–79. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2018.12.001>.