



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**EMPLEO DE MICROARREGLOS PARA EL ESTUDIO DE LA
EXPRESIÓN DE GENES EN EL ÁREA PREÓPTICA MEDIAL
DE LA RATA MACHO SEXUALMENTE EXPERTA Y
SEXUALMENTE SACIADA**

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA

Salvador Felix Delgado



MÉXICO, D.F.

AÑO 2010



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesora: CARMEN GIRAL BARNÉS

VOCAL: Profesor: ENRIQUE MORENO SAENZ

SECRETARIO: Profesor: ALONSO FERNÁNDEZ GUASTI

1er. SUPLENTE: Profesor: OSCAR ARMANDO PEREZ MENDEZ

2° SUPLENTE: Profesor: IGNACIO PÁRAMO RAMÍREZ

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: CENTRO DE INVESTIGACION Y DE ESTUDIOS AVANZADOS DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL CINVESTAV SEDE SUR

ASESOR DEL TEMA: DR. ALONSO FERNÁNDEZ GUASTI

SUPERVISOR TÉCNICO: DRA. PAOLA R. ARTEAGA LÓPEZ

SUSTENTANTE (S): P. QFB SALVADOR FELIX DELGADO

AGRADECIMIENTOS

Gracias al CONACyT, por mantenerme durante un año.

Gracias a todos los miembros del CINVESTAV sur, por recibirme con los
brazos abiertos.

Gracias a la Facultad de Química, por formarme como profesional.

Gracias a los compañeros de la facultad, por formarme como persona.

Gracias a Jarawi, por la música.

Gracias a toda mi familia, por aguantarme.

Gracias a los compas, por su café.

Gracias a todos mis amigos, miembros de otras facultades y muy otros
círculos, luego les explico lo que aquí escribo.

Gracias a la vida, que me ha dado tanto (aunque merezco más).

INDICE

▪ INTRODUCCIÓN	6
▪ ANTECEDENTES	8
1. CONDUCTA SEXUAL	8
1.1.Regulación Neural: áreas cerebrales vinculadas en la modulación de la conducta sexual masculina	11
1.1.1.Bulbos olfatorios	11
1.1.2.Amígdala	12
1.1.3.Núcleo de la base de la estría terminal	13
1.1.4.Septum lateral	14
1.1.5.Hipotálamo ventromedial	15
1.1.6.Área preóptica medial	15
2. INHIBICIÓN DE LA CONDUCTA SEXUAL	17
2.1.Saciedad sexual	17
2.2.Áreas cerebrales implicadas en la inhibición de la conducta sexual asociada a la saciedad sexual.	19
2.2.1.Núcleo de la base de la estría terminal	19
2.2.2.Septum lateral, amígdala medial y corteza piriforme	19
2.2.3.Área preóptica medial	20
2.3.Participación de los sistemas de neurotransmisión central en la regulación de la saciedad sexual masculina.	22
2.3.1.Sistema glutamatérgico	22
2.3.2.Sistema de opioides endógenos.	23
2.3.3.Sistema Serotoninérgico	25
2.3.4.Sistema Noradrenérgico	27
2.3.5.Sistema GABAérgico	28
2.3.6.Sistema Dopaminérgico	28
3. HORMONAS	32
3.1.Hormonas esteroides	32

3.2. Receptor de Andr6genos	36
3.2.1. La expresi3n del receptor a andr6genos y del ARNm	38
3.2.2. El receptor a andr6genos y la conducta sexual	40
3.2.3. El receptor a estr6genos y la conducta sexual	43
4. Microarreglos	44
▪ JUSTIFICACI3N DEL ESTUDIO	47
▪ HIPOTESIS	49
▪ OBJETIVO GENERAL	50
▪ OBJETIVOS PARTICULARES	50
▪ MATERIALES Y M3TODOS	51
▪ RESULTADOS	62
▪ DISCUSI3N	83
▪ CONCLUSIONES	91
▪ PERSPECTIVAS	92
▪ ANEXOS	93
▪ BIBLIOGRAFÍA	146

INTRODUCCIÓN

En la rata macho, la conducta copulatoria es modulada por regiones cerebrales como el área preóptica medial (mPOA), la amígdala (Me), el núcleo de la base de la estría terminal (BNST), el septum lateral (LS) y el hipotálamo ventromedial (VMH).

En este roedor, la saciedad sexual es definida como un estado de inhibición de la cópula que se alcanza después de múltiples eyaculaciones. En estos animales se ha observado que 24 ó 48 h post-saciedad 70% de la población muestra una completa inhibición de la conducta sexual y 30% muestra sólo una serie eyaculatoria. En cambio, 7 días post-saciedad, todos los animales eyaculan al menos dos veces.

La inhibición de la conducta sexual coincide con una disminución de la densidad del receptor a andrógenos (RA) en el mPOA, LS, Me y VMH, pero no en el BNST que no se acompaña de cambios en la concentración de testosterona en plasma.

Por otro lado se sabe que la recuperación de la densidad del RA a los 7 días post-saciedad coincide con la recuperación parcial de la conducta sexual a este intervalo. Sabemos que los cambios en los niveles de la proteína RA son fundamentalmente debidos a modificaciones en la expresión de su ARNm, ya que se ha observado una menor expresión del ARNm del RA en el mPOA y en el LSV, pero no en el BNST de la rata macho, 24 h después de una eyaculación, con respecto a los machos control. En el mPOA de la rata macho, inmediatamente o 24 h post-saciedad, la expresión del ARNm del RA es significativamente menor que el que se encuentra en los machos control, mientras que 7 días post-saciedad, la expresión del ARNm del RA es similar a la del macho control. En cambio, en el BNST de la rata macho, en las diferentes circunstancias conductuales, la expresión del ARNm del RA es similar a la que presentan los machos control. Así la conducta sexual masculina reduce la expresión de la proteína RA por

una reducción en la expresión del ARNm del RA independiente de la concentración hormonal.

ANTECEDENTES

1. CONDUCTA SEXUAL

La conducta sexual representa un tipo de comportamiento social que se presenta en prácticamente todas las especies del reino animal, tiene su expresión sobre un acto copulatorio, el cual implica la conjunción dinámica de dos organismos con el fin de asegurar el mantenimiento y la supervivencia de la especie (Larsson, 1956).

En la rata, y en la mayoría de las especies de mamíferos, la conducta sexual es innata, está genéticamente determinada y tiene un carácter estereotipado. Este carácter permite el establecimiento de medidas conductuales que facilitan el estudio de las bases biológicas que la subyacen.

En los roedores se ha observado que durante la conducta precopulatoria el macho explora su territorio y lo marca con orina, persigue y olfatea la vulva de la hembra (Dewbury 1979). Por su parte, la hembra receptiva responde a la conducta masculina desplegando conductas de atracción; como el brincoteo, desplazamiento en zig-zag y movimientos vibratorios de la cabeza y de las orejas. Durante este período tanto el macho como la hembra emiten vocalizaciones ultrasónicas con el fin de aumentar su motivación sexual (Sachs y Meisel, 1988). A estas conductas precopulatorias se les conoce como aspectos motivacionales o apetitivos de la conducta sexual, mientras que a las conductas que se presentan durante la cópula misma se les conoce como aspectos ejecutorios o consumatorios, los cuales serán descritos a continuación.

Durante la cópula de la rata, el macho sexualmente motivado presenta una secuencia de respuestas sexuales que incluyen montas e intromisiones repetidas e intercaladas que culminan en la eyaculación, a la cual le sigue un período refractario a la estimulación sexual denominado intervalo post-eyaculatorio (Larsson, 1956).

En la respuesta motora de monta, el macho hace contacto con la hembra por la parte posterior dorsal, palpando sus flancos con las patas delanteras y ejerciendo movimientos pélvicos sin lograr la inserción peneana; después, la rata macho se retira de forma suave y lenta. Mientras que en la respuesta motora de intromisión se presenta una monta simple y breve que termina con un movimiento pélvico prolongado que indica que ocurrió la inserción peneana, el macho desmonta rápida y violentamente a la hembra. Por su parte, la respuesta de eyaculación incluye una intromisión, caracterizada por un movimiento pélvico profundo que es mantenido por varios segundos y que técnicamente se refiere a la emisión espasmódica o continua de líquido seminal a través del meatus del pene hacia el exterior. El acto de desmonta es lento y se caracteriza por un movimiento lateral de las patas delanteras (Dewsbury, 1979).

Después de la eyaculación se observa un intervalo post-eyaculatorio, el cual se define como un período de refractariedad a la estimulación sexual. Este período dura entre 4-5 min después de la primera eyaculación y se prolonga exponencialmente en las siguientes eyaculaciones. Durante el intervalo post-eyaculatorio se observan dos fases: la fase refractaria absoluta y la fase refractaria relativa. En la fase refractaria absoluta el macho emite vocalizaciones de 22 KHz., se muestra insensible a la estimulación externa para ejercer la cópula y ocupa el primer 75% de la duración total de este intervalo. Durante la fase refractaria relativa el macho es capaz de iniciar la cópula si se le estimula suficientemente, por ejemplo cambiando a la hembra (Wilson y cols., 1963) o aplicándole a la piel choques eléctricos de baja intensidad (Meisel, 1983). Una vez transcurrido el período refractario el animal puede reiniciar la cópula naturalmente (Larsson, 1979).

Así pues, en la rata macho, durante el despliegue de su conducta copulatoria se pueden medir los siguientes parámetros:

1) La latencia de monta (LM): tiempo que transcurre entre que la hembra sexualmente receptiva se introduce en la caja experimental y el macho la monta por primera vez.

2) La latencia de intromisión (LI): tiempo que transcurre entre que el macho y la hembra sexualmente receptiva entran en contacto y se presenta la primera intromisión.

3) La latencia de eyaculación (LE): tiempo transcurrido entre la primera intromisión de una serie y la eyaculación.

4) El intervalo post-eyaculatorio: tiempo que pasa entre la eyaculación y el inicio de una nueva serie copulatoria, determinado por la intromisión.

También, en una serie eyaculatoria se puede contabilizar el número de montas (M) y el número de intromisiones (I). Una serie eyaculatoria incluye los eventos que se presentan desde la primera monta o intromisión hasta la eyaculación. Cuando en la serie eyaculatoria se incluye el IPE se le denomina serie copulatoria (Figura 1) (Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti, 1995a).

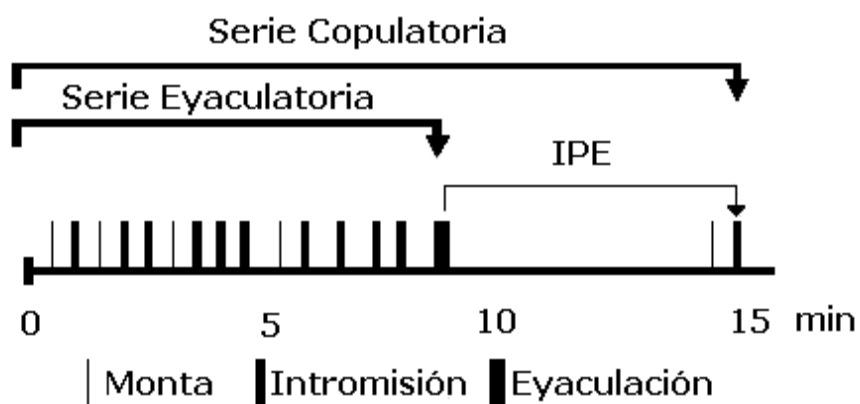


Figura 1. Representación esquemática del despliegue de la conducta sexual de la rata macho.
IPE: intervalo post-eyaculatorio

1.1. Regulación Neural: áreas cerebrales vinculadas en la modulación de la conducta sexual masculina

Los primeros intentos para entender la organización neural implicada en el control de la conducta de cópula en animales macho se hizo por medio de lesiones de grandes áreas cerebrales.

Así, se ha observado que en ratas o gatos macho la remoción de la neocorteza suprime la conducta de cópula y la mayor deficiencia se observa con la remoción de la corteza frontal (Beach, 1940). Las lesiones subcorticales, a menudo removiendo varias áreas cerebrales, también producen pérdida de la conducta sexual (Sachs y Meisel, 1988). A continuación revisaremos las principales estructuras cerebrales involucradas en el control de la conducta sexual.

1.1.1. Bulbos olfatorios

Para atraer al sexo opuesto, las hembras y machos sexualmente activos, emiten muchos tipos de estímulos que afectan varios sistemas sensoriales, entre ellos, el olfato (Portillo y Paredes, 2004). En ratones, ratas y campañoles macho, la remoción quirúrgica del órgano vomeronasal disminuye marcadamente la conducta de apareamiento y agresiva intraespecie, lo que sugiere que el sistema olfatorio accesorio está involucrado en la detección de olores sexualmente relevantes (Clancy y cols, 1984). Los machos no lesionados pasan más tiempo cerca de una hembra en estro (Agmo, 2003, Portillo y Paredes, 2004) y las hembras pasan más tiempo cerca de un macho sexualmente activo (Domínguez-Salazar y cols., 2002). Inclusive, los machos prefieren a una hembra receptiva aunque esté anestesiada o detrás de una malla en donde los machos sólo pueden olerla (Carr y cols., 1965). Lo cual ejemplifica la importancia de los bulbos olfatorios en los aspectos precopulatorios.

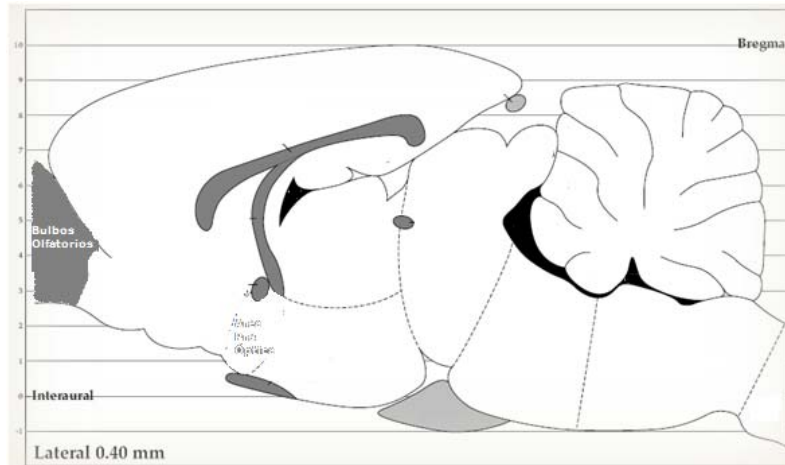


Figura 2. Representación del cerebro de la rata cortado de manera lateral mostrando la localización de los bulbos olfatorios.

1.1.2. Amígdala

La amígdala (Me) es una estructura compleja que participa en la regulación del aprendizaje y la memoria, de las funciones autonómicas y neuroendocrinas (núcleo central y división baso-lateral) y de varias conductas sociales (división corticomedia) (Newman, 1999; Adolphs, 2003), tales como las emociones, la agresión y la conducta sexual (Sachs y Meisel, 1988; Everitt, 1990; Segovia y Guillamon, 1993).

En el hámster y en la rata macho las lesiones de la amígdala baso-lateral no producen algún efecto perjudicial sobre la cópula, por el contrario, se ha sugerido que las ratas macho con lesiones en la amígdala baso-lateral copulan más rápidamente que los machos control (Harris y Sachs, 1975). En cambio, en ambas especies, lesiones en la amígdala cortico-medial producen deficiencias en la conducta copulatoria (Sachs y Meisel, 1988). Las ratas macho con estas lesiones presentan mayor latencia de eyaculación y menos eyaculaciones para alcanzar la saciedad sexual que los machos control (Harris y Sachs, 1975).

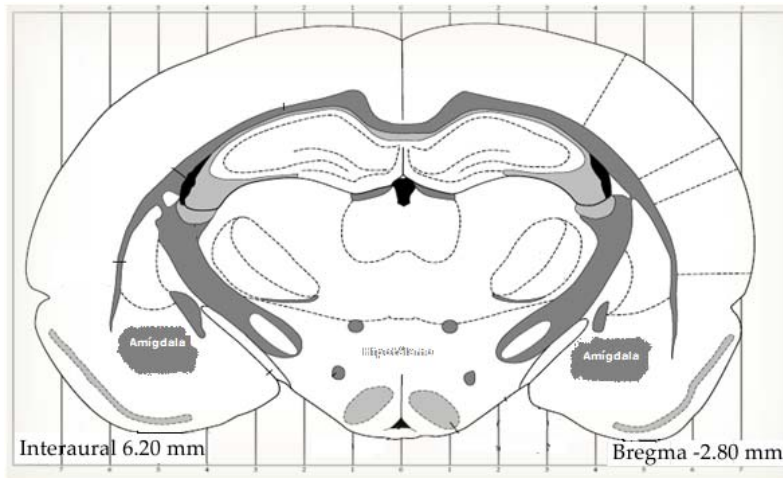


Figura 3. Representación del cerebro de la rata cortado sobre el eje interaural mostrando la localización de la amígdala.

1.1.3. Núcleo de la base de la estría terminal

El núcleo de la base de la estría terminal (BNST; por sus siglas en inglés) juega un papel modulador en el control de la conducta sexual (Hull y cols., 2005). La región posteromedial del BNST ha sido relacionada con la modulación de la conducta sexual masculina. De hecho, esta región del BNST contiene densidades altas de receptores a esteroides (Li y cols., 1993).

En la rata (Emery y Sachs, 1976) y en el hámster (Powers y cols., 1987), las lesiones del BNST no necesariamente bloquean la conducta de apareamiento, pero sí disminuyen las erecciones sin contacto (Liu y cols., 1997) y las investigaciones ano-genitales (Powers y cols., 1987). Esto sugiere que el BNST contribuye en los aspectos motivacionales (Hull y cols., 2005).

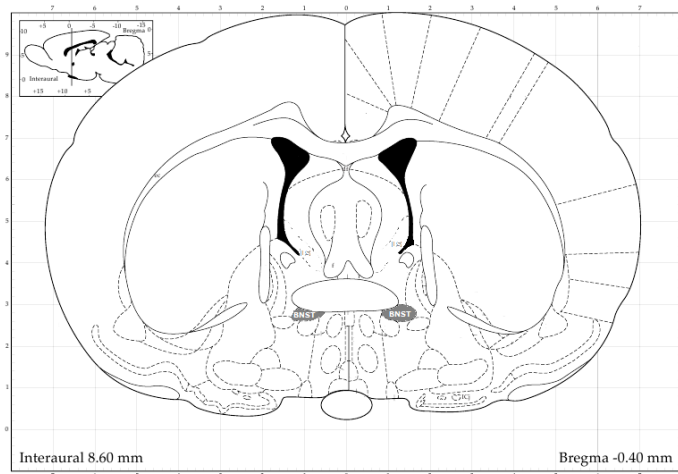


Figura 4. Representación del cerebro de la rata cortado sobre el eje interaural mostrando la localización del núcleo de la base de la estría terminal (BNST por sus siglas en inglés).

1.1.4. Septum lateral

El septum es una estructura nodal localizada en el cerebro anterior, el cual relaciona al mPOA, la amígdala y el hipocampo (DeFrance, 1976). Se ha sugerido que esta área modula la conducta sexual masculina además de modular otras funciones motivacionales y emocionales (Baum y cols., 1982). Lesiones del septum lateral (LS; por sus siglas en inglés) disminuyen el número de montas e intromisiones (Kondo y cols., 1993).

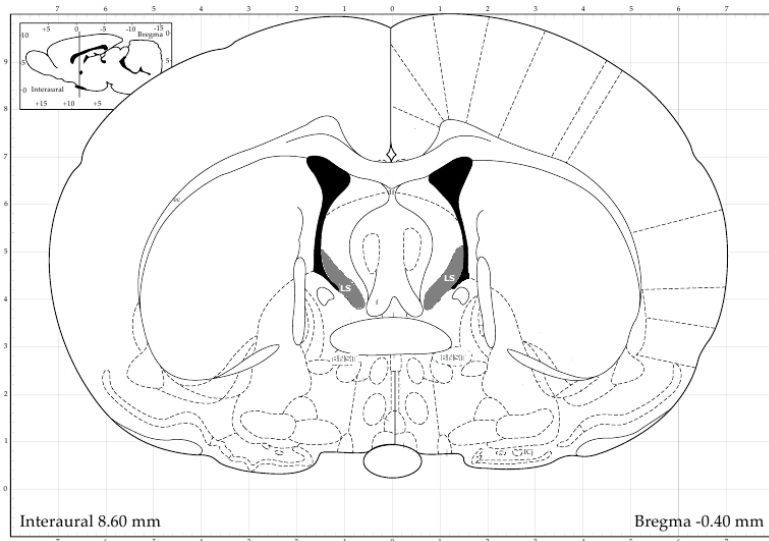


Figura 5. Representación del cerebro de la rata cortado sobre el eje interaural mostrando la localización del septum lateral (LS por sus siglas en inglés).

1.1.5. Hipotálamo ventromedial

En la rata, el núcleo del hipotálamo ventromedial (VMH; por sus siglas en inglés) es reconocido principalmente por su papel en el control de la conducta sexual femenina (Mathews y cols., 1983), pero también modula la conducta sexual masculina. De manera similar al mPOA, el VMH es rico en receptores a andrógenos y estrógenos (Simerly y cols., 1990) y recibe estímulos genito-sensoriales a través de proyecciones del mesencéfalo, así como estímulos quimio-sensoriales vía proyecciones de la amígdala (Canteras y cols., 1995).

Las lesiones del VMH a menudo estimulan aspectos de la actividad sexual masculina, lo que sugiere que el núcleo del VMH inhibe tónicamente la conducta sexual masculina (Hull y cols., 2005).

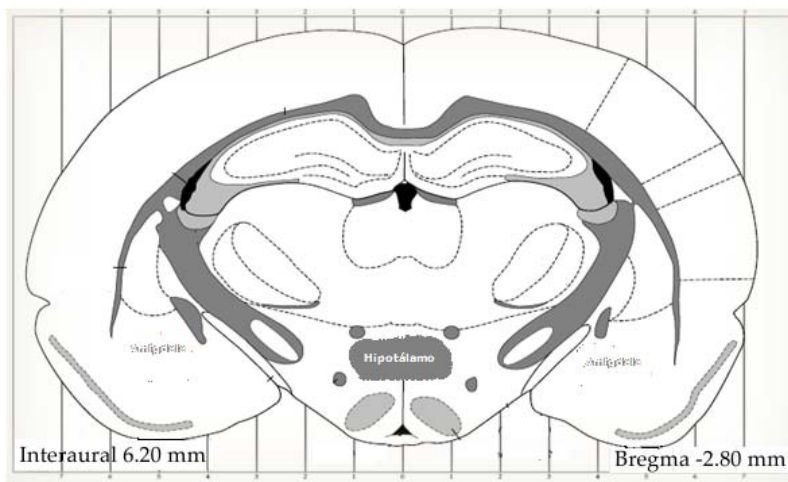


Figura 6. Representación del cerebro de la rata cortado sobre el eje interaural mostrando la localización del hipotálamo.

1.1.6. Área preóptica medial

El área preóptica medial (mPOA; por sus siglas en inglés) participa en la regulación de diversas funciones, tales como la termorregulación (Boden y cols., 2000), la liberación de varias hormonas hipofisarias (Pi y Grattan, 1999), la conducta maternal (Stack y cols., 2002) y la conducta sexual masculina (Paredes y Baum, 1997). Las lesiones bilaterales o grandes (extendiéndose al hipotálamo anterior rostral) del mPOA en diferentes especies tales como: ratas, hámsteres, ratones, cobayos,

jerbos, perros, gatos, cabras, monos rhesus, lagartos y peces macho, deteriora severamente la conducta copulatoria. Si las lesiones son pequeñas o unilaterales se producen deficiencias poco severas en la conducta copulatoria (Baum y cols., 2002).

Debido a la severidad de los efectos de las lesiones del mPOA y a la variedad de especies en las que han sido descritos, a esta región se le considera de suma importancia en la regulación neural de la conducta sexual masculina (Sachs y Meisel, 1988). En la rata macho con el mPOA lesionado, la exposición a diferentes hembras (Heimer y Larsson, 1966/1967), el tratamiento crónico con testosterona o la administración de choques eléctricos de baja intensidad a los flancos, no son capaces de reactivar la conducta sexual (Meisel, 1983). También se ha observado que la rata macho sexualmente experta con lesiones en el mPOA modifica su preferencia olfatoria de tal manera que pasan el mismo tiempo oliendo el aserrín de hembras en estro o en anestro. Esto sugiere que el mPOA es una estructura crucial para la integración de los estímulos sensoriales que determinan en un individuo la preferencia olfatoria por el sexo opuesto (Hurtazo y Paredes, 2006). En la misma línea, se ha demostrado que la estimulación eléctrica del mPOA de ratas machos intactas acelera la cópula hasta la eyaculación reduciendo el número de montas, intromisiones, la latencia de eyaculación y el intervalo post-eyaculatorio (Malsbury, 1971). Así mismo, se ha observado que más del 85% de las neuronas que se activaron en una prueba de conducta sexual, medida como la expresión de c-Fos, también son inmunorreactivas a la proteína receptora de andrógenos. (Greco y cols., 1998). Esto sugiere que en el mPOA, la información sexualmente relevante es procesada por neuronas sensibles a andrógenos.

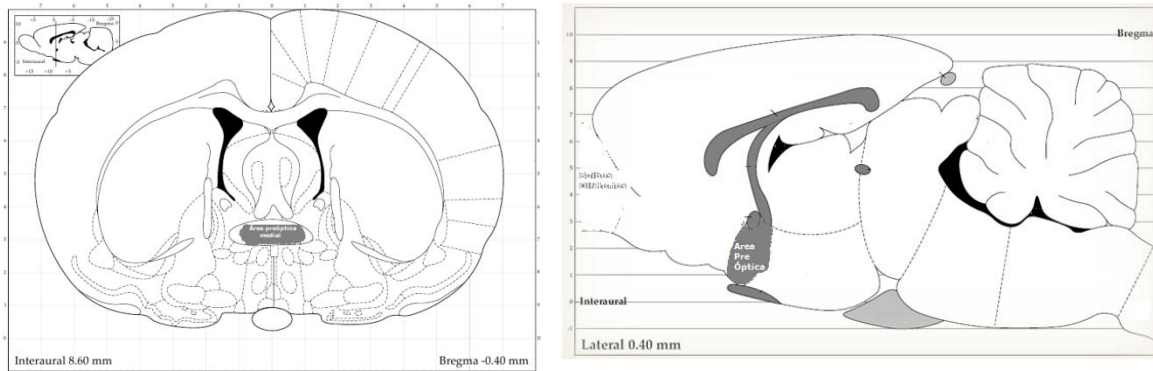


Figura 7. Representación del cerebro de la rata cortado sobre el eje interaural del lado izquierdo y del eje lateral del lado derecho, mostrando la localización del área preóptica medial.

2. INHIBICIÓN DE LA CONDUCTA SEXUAL

2.1. Sacidad Sexual

El estado de saciedad sexual consiste de una inhibición prolongada de la conducta sexual que aparece en respuesta a eyaculaciones repetidas en el curso de una cópula *ad libitum* sostenida. Este fenómeno fue inicialmente descrito por dos grupos independientes en 1956: el grupo de Kunt Larsson y el grupo de Beach y Jordan.

En el proceso de saciedad sexual pueden considerarse tres etapas:

A. El desarrollo de la saciedad sexual, la cual consiste en series copulatorias repetidas que se suceden en el tiempo y durante las cuales el macho copula incesantemente con una misma hembra sexualmente receptiva. Durante el desarrollo de la saciedad sexual se modifican algunos parámetros como la latencia de eyaculación que en general aumenta conforme los animales se aproximan al estado de saciedad (Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti, 1994); sin embargo, el parámetro de la conducta copulatoria que se modifica de manera más clara es la duración del intervalo post-eyaculatorio, que se prolonga exponencialmente después de cada eyaculación (Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti, 1994). Con base en ello se pensó que la saciedad

sexual podría ser simplemente el reflejo de un intervalo post-eyaculatorio extraordinariamente prolongado.

B. La saciedad sexual misma que consiste en una inhibición de la conducta sexual producida por la cópula repetida.

C. La recuperación de la saciedad sexual. Es claro que a diferentes intervalos después del proceso de saciedad sexual, los animales recuperan su actividad copulatoria.

Aunque se han usado diferentes modelos para producir ratas machos sexualmente saciados, una característica común de todos los modelos es que se obtiene un número promedio de 7 series eyaculatorias para alcanzar la saciedad sexual (Beach y Jordan, 1956; Larsson, 1956; Lawrence y Barfield, 1975). Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti (1994) describieron que un período de 4 h de cópula *ad libitum* con una misma hembra receptiva es suficiente para saciar sexualmente a ratas macho.

Durante los primeros 150 minutos de la cópula *ad libitum*, los animales presentan de 5 a 12 series eyaculatorias antes de caer en un estado de saciedad sexual, que se estableció usando como criterio 90 minutos de ausencia de actividad copulatoria después de la última eyaculación.

También se ha observado que con este modelo, 24 h o 48 h después de la cópula hasta la saciedad, las ratas macho expresan la inhibición de la conducta sexual de dos maneras: una forma consiste en la ausencia total de la conducta sexual y se presenta en dos tercios de la población y, la segunda, consiste en la expresión de una eyaculación después de la cual la cópula no se reinicia y se presenta en un tercio de la población (Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti, 1994). A partir de las 96 h post-saciedad sexual, más del 60% de los animales saciados sexualmente es capaz de presentar una eyaculación y de reiniciar la cópula (Romano-Torres y cols., 2007). En cambio, 7 días después de la

prueba de saciedad sexual, el 100% de los animales es capaz de completar al menos dos series copulatorias. Esta recuperación, sin embargo, no ha alcanzado niveles semejantes a los que muestran machos controles (Romano-Torres y cols., 2007). Hasta 15 días después de la prueba de saciedad sexual, se presenta la recuperación de la capacidad de cópula, al regresar los valores obtenidos a los registrados en la prueba de saciedad sexual. Estos resultados muestran que en la rata macho, la recuperación de la conducta sexual después de la saciedad sexual es dependiente del tiempo.

2.2. Áreas cerebrales implicadas en la inhibición de la conducta sexual asociada a la saciedad sexual

2.2.1. Núcleo de la base de la estría terminal

Las investigaciones realizadas por Phillips-Farfán y Fernández-Guasti durante el 2007, muestran que en el BNST de ratas macho a las que se les permitió copular hasta alcanzar 2 o 4 eyaculaciones o bien hasta la saciedad sexual, el número de neuronas inmunorreactivas a c-Fos (Coolen y cols., 1996) fue significativamente mayor con respecto al número que mostraron los machos sexualmente expertos que no copularon. Entre los machos sexualmente saciados y aquéllos que copularon sin alcanzar la saciedad sexual, el número de neuronas inmunorreactivas a c-Fos fue similar. Por lo tanto, estos resultados sugieren que en la rata macho, el BNST está involucrado en la modulación de la conducta sexual pero no en la inhibición sexual característica la saciedad sexual.

2.2.2. Septum lateral, amígdala medial y corteza piriforme

También se ha mostrado que el LS de la rata macho participa en la regulación de la inhibición de la conducta sexual, dado que, el número de neuronas inmunorreactivas a c-Fos es significativamente mayor en

esta zona de ratas macho que llegan a la saciedad sexual, en comparación con los machos que copulan sin alcanzar el criterio de saciedad sexual.

Por parte de la amígdala anterodorsal y posteroventral de la rata macho que copula hasta la saciedad sexual, mostraron un aumento en el número de neuronas inmunorreactivas a c-Fos en comparación con los sujetos que copularon sin llegar a la saciedad sexual (Phillips-Farfán y cols., 2007). Estos resultados sugieren que la amígdala medial modula la inhibición de la conducta copulatoria característica de la saciedad sexual.

En tanto que en la corteza piriforme, se observó que la expresión de c-Fos se asocia de manera específica a la saciedad sexual, puesto que en los machos sexualmente saciados -en comparación con los machos que copularon sin llegar a la saciedad sexual- la densidad de c-Fos fue menor (Phillips-Farfán y cols., 2007). De hecho, los machos que ejecutaron cuatro eyaculaciones sin llegar a la saciedad sexual tuvieron mayor densidad de c-Fos que los animales sexualmente saciados.

Así pues, se propone la teoría de que en el LS y en el núcleo medial de la amígdala la inhibición de la conducta sexual que caracteriza a la saciedad copulatoria reside en neuronas inhibitorias y en la corteza piriforme en neuronas excitadoras; ya que en los núcleos septum lateral y medial de la amígdala hay un incremento específico en la densidad de c-Fos, mientras que en la corteza piriforme existe una disminución (Phillips-Farfán y cols., 2007).

2.2.3. Área preóptica medial

La participación del mPOA de la rata macho en la saciedad sexual ha sido controversial. Por una parte, en el mPOA, la saciedad sexual ha sido asociada con concentraciones elevadas de dos metabolitos de la dopamina (DA): el ácido dihidroxifenilacético (DOPAC) y el ácido

homovanílico (HVA). La concentración de ambos metabolitos aumenta durante la cópula hasta la saciedad sexual y una vez establecida permanece significativamente elevada, con respecto a la basal. Las concentraciones de ambos metabolitos de DA tienden a regresar a concentraciones basales para el cuarto día, coincidiendo con el reinicio de la conducta sexual (Mas y cols., 1995). Estos datos sugieren que el sistema dopaminérgico del mPOA podría participar en el desarrollo y en el mantenimiento de la inhibición copulatoria característica de la saciedad sexual. Por otro lado, la estimulación eléctrica de esta área - aunque facilita la conducta sexual- o la estimulación eléctrica simultánea a la administración de una dosis subumbral de yohimbina (antagonista α_2 -adrenérgico) o apomorfina (agonista dopaminérgico no específico), no revierten el fenómeno de saciedad sexual (Rodríguez-Manzo, y cols., 2000).

De la misma forma, la administración intra-preóptica de antagonistas del sistema GABAérgico tampoco revierte la saciedad sexual (Rodríguez- Manzo y cols., 2000). También se ha observado que en el mPOA de ratas macho a los que se les permitió copular hasta llegar a 2 o 4 eyaculaciones o bien hasta la saciedad sexual, el número de neuronas inmunorreactivas a c-Fos fue similar, pero significativamente mayor que el que muestran los machos sexualmente expertos que no copularon (Phillips-Farfán y cols., 2007). Sin embargo, como se describirá más adelante, en esta área cerebral existen cambios importantes en los niveles de receptores a esteroides: andrógenos y a estrógenos alfa en respuesta a la saciedad sexual (Fernández-Guasti y cols., 2003; Phillips Farfán et al, 2007), que se acompañan de cambios en los niveles de sus respectivos ARNm (Fernández-Guasti y cols.)

2.3. Participación de los sistemas de neurotransmisión central en la regulación de la saciedad sexual masculina

En el fenómeno de la saciedad sexual, se ha explorado de qué manera los sistemas de neurotransmisión participan en el establecimiento, desarrollo y recuperación de la misma (Rodríguez-Manzo, tesis doctoral). A continuación describiremos algunos de los resultados del análisis de los sistemas de neurotransmisión asociados a la saciedad sexual.

2.3.1. Sistema Glutamatérgico

El glutamato es el mayor neurotransmisor excitatorio en el sistema nervioso central (Fonnum, 1984; White y cols., 1977), es reconocido como un regulador central de un gran número de procesos fisiológicos, entre los cuales están la pubertad, el estrés y el proceso reproductivo (Nakanishi, 1992; Brann, 1995; Monaghan y cols., 1989).

Los receptores a glutamato, están subdivididos en dos grupos: los receptores metabotrópicos y los receptores ionotrópicos. Los receptores metabotrópicos a glutamato son siete receptores transmembranales acoplados a proteína G, que intervienen en la transmisión glutamatérgica lenta. En contraste, los receptores ionotrópicos a glutamato son canales iónicos específicos a cationes que regulan la transmisión glutamatérgica rápida. Los receptores ionotrópicos a glutamato están subdivididos en α -amino-3-hidroxi-5-metilisoxazole-4-propionato (AMPA), kainato y N-metil-D-aspartato (NMDA). Los receptores NMDA, son vitales para el funcionamiento cerebral y juegan un rol clave en la neurotransmisión del glutamato (Forrest et al., 1994). La activación del receptor NMDA resulta en una entrada de Na^+ y Ca^{2+} que despolarizan la neurona e inician la transducción de cascadas de señalización que alteran la plasticidad neuronal (Dingledine y cols., 1999; Ozawa y cols., 1998).

La liberación de glutamato en el área preóptica medial, es mediada por la información directa o indirecta de las áreas somato-sensoriales (la amígdala media, el núcleo de la base de la estría terminal, el área central tegmental, los bulbos olfatorios (Simerly y Swanson, 1986,1988)). Se ha demostrado la participación del receptor NMDA en la regulación de la conducta sexual masculina, por medio de la administración sistémica del antagonista al receptor NMDA, MK-801, que modifica la actividad sexual en ratas macho (Powell y cols., 2003).

Domínguez evaluó la participación del NMDA durante el desarrollo de la copula por la rata macho, obteniendo que en el área preóptica medial, el receptor a glutamato que se activa por el despliegue de la conducta sexual masculina es el NMDA (Domínguez y cols., 2007), sin tomar en cuenta que es el receptor a glutamato más expresado en el mPOA (Brann, 1995). Además, la activación del receptor NMDA en el mPOA, actúa sobre la dopamina, favoreciendo su liberación e inhibiendo su recaptura (Domínguez y cols., 2004).

2.3.2 Sistema de Opioides Endógenos

Los opioides endógenos modulan diferentes sistemas de neurotransmisión (dopaminérgicos, noradrenérgicos, serotoninérgicos), los cuales están involucrados en la regulación de la conducta sexual. Sin embargo, los efectos conductuales específicos de la administración de agonistas y antagonistas a opioides sobre la cópula de ratas macho aun no están claros (Pfaus y Gorzalka, 1987).

En general, distintos estudios concuerdan con la idea que señala que la administración sistémica de agonistas opioides, tales como la morfina, heroína, metadona y β -endorfina, produce una marcada inhibición de la conducta sexual de mamíferos (Agmo y Paredes, 1988) y que esta inhibición se presenta de manera dependiente de la dosis (Pfaus y Gorzalka, 1987). Asimismo, la administración intracraneal de

péptidos opioides, β -endorfina en particular, inhiben la conducta sexual de la rata macho (McIntosh y cols., 1980), mientras que la administración de antagonistas opioides como la naloxona y naltrexona, producen efectos bifásicos (dependientes de la dosis): a dosis bajas parecen tener efectos facilitadores sobre la conducta copulatoria y a dosis altas parecen tener efectos inhibidores (Mc Connell y cols., 1981). Se ha mostrado que en el mesencéfalo, corteza e hipotálamo de la rata macho, la eyaculación aumenta la concentración tisular de opioides endógenos tales como Leu-encefalina, Met-encefalina y el opioide octapéptido Met--Arg (6)--Gly (7)--Leu (8) (IR-Oct) durante 24 h, y que las concentraciones de Met-encefalina y IR-Oct se mantienen elevadas en hipotálamo por 48 h (Rodríguez-Manzo y cols. 2002).

Así pues, la saciedad sexual puede representar un estado de actividad opioide máximo, durante el cual el reinicio de la actividad copulatoria está inhibida (Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti, 1995b). En apoyo a esta idea existe evidencia de que el tratamiento con naloxona o naltrexona, revierte la inhibición de la conducta copulatoria propia de la saciedad sexual 24 h después de exponer a las ratas a cópula *ad libitum* durante 4 h.

Datos recientes han mostrado que en la rata macho, la administración de naltrexona previa a la prueba copulatoria hasta la saciedad sexual, interfiere con el establecimiento de la inhibición sexual característica de este fenómeno. Esta afirmación se basa en el hecho de que a las 24 o 48 h post-saciedad sexual, la proporción de ratas macho saciadas sexualmente tratadas con naltrexona que presentan conducta copulatoria en presencia de una hembra sexualmente receptiva, es significativamente mayor con respecto a los machos sexualmente saciados no tratados con naltrexona. Los datos anteriores sugieren que los opioides endógenos participan en el establecimiento de la saciedad sexual. Aún más, en ratas macho sexualmente saciadas, la

administración de naltrexona, 24 o 48 h después, revierte de manera parcial la inhibición copulatoria característica de la saciedad sexual (Garduño-Gutiérrez, 2007).

Estos datos apoyan la hipótesis de que los opioides endógenos participan en el establecimiento y en el mantenimiento de la inhibición sexual característica de la saciedad sexual (Garduño-Gutiérrez, 2007).

2.3.3. Sistema Serotoninérgico

En relación al sistema serotoninérgico se ha demostrado que la serotonina (5-HT) inhibe la conducta sexual masculina, ya que la inhibición de la síntesis de 5-HT por medio de la administración de *para*-clorofenilalanina (*p*-CPA) o la lesión de las neuronas serotoninérgicas con la neurotoxina 5,7-dihidroxitriptamina (5,7-DHT), facilitan diferentes aspectos de esta conducta, mientras que la administración del precursor serotoninérgico, 5-hidroxitriptofano o de la 5-HT misma, inhibe la cópula (Ahlenius y cols., 1971). Sin embargo, estudios recientes muestran que diferentes compuestos agonistas del subtipo de receptor serotoninérgico 1A (5-HT_{1A}), tales como la 8-hidroxi-2-di-n-propilamino-tetralina (8-OH-DPAT) y el lisuride, facilitan claramente esta conducta disminuyendo drásticamente el número de montas e intromisiones, así como la latencia de eyaculación (Ahlenius y Larsson, 1984). Así mismo, se sabe que la 8-OH-DPAT es capaz de revertir la inhibición de la conducta sexual producida por la saciedad sexual, en el sentido de que 24 h después de someter a los animales a la prueba de saciedad sexual, una proporción relativamente alta de animales fue capaz de mostrar conducta sexual (88% del grupo tratado con 8-OH-DPAT contra 29% en el grupo control). Estos datos sugieren que el sistema serotoninérgico, probablemente a través del receptor 5-HT_{1A}, está involucrado en el establecimiento de la saciedad sexual (Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti, 1994). Con las evidencias anteriores, inicialmente se pensó que

la 8-OH-DPAT facilita la conducta sexual inhibiendo la liberación de serotonina, debido a que los efectos del 8-OH-DPAT son opuestos a los de la serotonina misma y que algunos receptores 5-HT_{1A} son autorreceptores en somas y dendritas serotoninérgicas. Sin embargo, las lesiones del núcleo del rafé, que contiene la mayoría de los somas de las neuronas serotoninérgicas no alteran los efectos del 8-OH-DPAT, lo que sugiere que los receptores post-sinápticos son los que median estos efectos (Fernández-Guasti y Escalante, 1991). Además, las microinyecciones en las terminales serotoninérgicas (mPOA y núcleo accumbens), donde todos los receptores 5-HT_{1A} son postsinápticos también facilitan la conducta sexual (Fernández-Guasti y cols., 1992).

Así mismo, en el mPOA de la rata macho, durante el despliegue de su conducta copulatoria hasta la saciedad sexual, se ha observado que la concentración del ácido 5-hidroxi-indolacético (5-HIAA, metabolito de la serotonina), aumenta significativamente (hasta en un 50%) con respecto a la concentración inicial (Mas y cols, 1995). En los microdializados del mPOA de la rata macho saciada sexualmente, en los días 2 y 3 de evaluación (durante el período post-saciedad sexual), se observó que las concentraciones del 5-HIAA son similares a la concentración inicial del primer día de evaluación (período de actividad sexual). En el mPOA de la rata macho saciada sexualmente, en el día 4 de evaluación, se observó que la concentración de 5-HIAA aumenta de manera similar al primer día de evaluación. Este aumento en la concentración del 5-HIAA en el día 4 de evaluación coincide con el restablecimiento de la conducta copulatoria de los machos saciados sexualmente. Así pues, estos resultados sugieren que en el mPOA de la rata macho, la inervación serotoninérgica participa, al menos, en la modulación de los mecanismos consumatorios de la conducta sexual y en la recuperación de la conducta sexual después de la saciedad (Mas y cols., 1995).

2.3.4. Sistema Noradrenérgico

Con respecto al sistema noradrenérgico, poco se sabe del papel que desempeña sobre la regulación de la conducta sexual masculina. La mayor parte de los estudios sugieren que este sistema de neurotransmisión facilita la cópula, ya que diferentes manipulaciones farmacológicas que disminuyen los niveles de noradrenalina (NA) inhiben la conducta sexual masculina (Hull y cols., 2005). De igual forma, el incremento en la liberación de NA, por medio del bloqueo de los autorreceptores presinápticos α_2 , facilita la cópula (Clark y cols., 1985).

Con base en los datos anteriores, se ha evaluado el efecto de la administración intra-peritoneal de yohimbina, un antagonista α_2 -adrenérgico, a ratas macho saciadas sexualmente. Los datos obtenidos muestran que la yohimbina fue capaz de revertir la inhibición sexual propia de la saciedad de manera dependiente de la dosis. La administración de una dosis pequeña de yohimbina (2 mg/kg) incrementó la proporción de ratas que muestra montas e intromisiones, aunque dicho aumento no fue estadísticamente significativo al compararlo con el grupo control. En cambio, todos los machos que recibieron esta dosis y lograron eyacular (35.71%), también reiniciaron la cópula. Cuando se administró una dosis mayor (4 mg/kg), todos los parámetros copulatorios incrementaron significativamente y la proporción de machos que eyaculó fue de 85.71% de los cuales el 83.33% logró reiniciar la copula después de la eyaculación (Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti, 1994, 1995).

En relación a los parámetros específicos, el tratamiento con la dosis baja de yohimbina provocó una disminución en la latencia de intromisión y una disminución significativa en el número de montas. Ambas dosis incrementaron significativamente el número de

intromisiones y la latencia de eyaculación se vio significativamente incrementada con la dosis alta de yohimbina. Estos resultados sugieren que la dosis baja de este fármaco tiene efectos facilitadores sobre parámetros específicos de la cópula, mientras que la dosis alta parece tener un efecto contrario (Rodríguez-Manzo y Fernández-Guasti, 1994, 1995).

2.3.5. Sistema GABAérgico

En cuanto al sistema GABAérgico se ha observado que el ácido gamma-aminobutírico (GABA) tiene un efecto inhibitor sobre la conducta sexual masculina, principalmente en el intervalo post-eyaculatorio, ya que la administración intra-preóptica de antagonistas GABA_A, como la bicuculina o la picrotoxina, o un inhibidor de la síntesis de GABA, como el ácido mercaptopropiónico, produce una reducción en la duración del intervalo post-eyaculatorio (Fernández-Guasti y cols, 1986). Esta información, aunada a aquélla que parecía sugerir que la saciedad sexual podría ser un período post-eyaculatorio de muy larga duración, invitó a realizar la siguiente serie de experimentos. Al evaluar si la administración de bicuculina directamente en el mPOA revierte la saciedad sexual de una manera análoga a como reduce la duración del período post-eyaculatorio, se observó que éste tratamiento careció de efecto. Estos hallazgos revelaron que mecanismos diferentes están implicados en la inhibición de la conducta sexual que caracteriza al intervalo post-eyaculatorio y a la saciedad sexual (Rodríguez-Manzo y cols., 2000).

2.3.6. Sistema Dopaminérgico

Diferentes estudios han mostrado que varias regiones cerebrales de ratas macho que ejecutan una sola eyaculación, presentan un incremento significativo, con respecto a la basal, en las concentraciones

de DA y/o sus metabolitos: ácido dihidroxifenilacético (DOPAC) y ácido homovanílico (HVA), así como de 5-HT y/o su metabolito el ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) (Pfaus y cols., 1990).

En la investigación realizada por Mas y cols. (1995) se observó que en el mPOA de ratas macho, las concentraciones de DOPAC y HVA, incrementaron significativamente hasta en un 50% con respecto a la basal durante el desarrollo de la saciedad sexual. Dicho aumento fue seguido por una disminución gradual al final de la actividad sexual. Cuando se midieron las concentraciones al segundo y tercer día de evaluación (periodo de inactividad sexual), observaron que la concentración de ambos metabolitos disminuye con respecto al primer día de evaluación. En el cuarto día de evaluación se observó que la concentración de ambos metabolitos fue similar al primer día. También, observaron que el aumento en las concentraciones de ambos metabolitos coincide con el inicio del apareamiento así como su disminución con el final de la actividad copulatoria. Los resultados anteriores sugieren que la inervación dopaminérgica del mPOA podría estar implicada principalmente en la modulación de los aspectos apetitivos de la conducta sexual (Mas y cols, 1995).

Por su parte, Fiorino y cols (1997), han observado que en el núcleo accumbens (Acb; por sus siglas en inglés) de ratas macho sexualmente expertas, las concentraciones extracelulares de DA así como los de sus metabolitos, incrementan cuando se les presenta a una rata hembra sexualmente receptiva detrás de una malla. Además, se observó que la concentración de DA y sus metabolitos, se incrementaron más durante el despliegue de la conducta sexual hasta la saciedad sexual, alcanzando valores máximos y permaneciendo así durante el tiempo que duró el despliegue de la conducta sexual. También, se observó que la concentración de DA y sus metabolitos, presentaron una tendencia a la disminución al final del período de actividad sexual. Estas

concentraciones regresaron a valores basales sólo durante el período de inactividad sexual. Después de que las ratas alcanzaron el criterio de saciedad sexual, se les presentó una segunda rata hembra sexualmente receptiva (de la que percibían estímulos sensoriales pero con la que no podían copular), con lo cual se incrementó la concentración de DA, pero el aumento no fue estadísticamente significativo con respecto a las concentraciones durante el período inactividad sexual. En cambio, al reinicio de la cópula con la segunda hembra, la concentración de DA en el Acb incrementó significativamente. Con respecto a los metabolitos de DA en el Acb, sólo se observaron incrementos significativos durante la cópula con la primera hembra y no con la segunda hembra. Estos resultados demuestran que el aumento en la transmisión dopaminérgica mesolímbica está asociado a componentes apetitivos y consumatorios de la conducta sexual masculina (Fiorino y cols., 1997).

De esta manera, al hacer comparaciones entre los sistemas serotoninérgico y dopaminérgico, Mas y cols. (1995) encontraron las siguientes diferencias: (1) observaron un incremento menor en la concentración del 5-HIAA al inicio de cada período de prueba conductual con respecto al incremento en la concentración de los metabolitos de DA, (2) una disminución de las concentraciones de 5-HIAA a valores semejantes al basal durante el período de inactividad sexual a diferencia de las concentraciones de DOPAC y HVA los que permanecieron significativamente elevados con respecto a la basal y (3) las concentraciones de los metabolitos de DA mostraron una tendencia a la disminución al final de cada prueba conductual mientras que los cambios en 5-HIAA no mostraron este patrón (Mas y cols, 1995).

Todo lo anterior sugiere que el incremento en las concentraciones de los metabolitos de la DA y la 5-HT, está relacionado con el apareamiento; además, sugieren que el sistema dopaminérgico del cerebro anterior podría estar relacionado principalmente con los

aspectos apetitivos y consumatorios de la conducta sexual, mientras que la inervación serotoninérgica podría participar sólo en los mecanismos consumatorios (Mas y cols, 1995).

Al evaluar los efectos conductuales sobre ratas sexualmente saciadas de la inyección simultánea de yohimbina más apomorfina (agonista dopaminérgico) y los del tratamiento combinado de haloperidol (antagonista dopaminérgico no selectivo) con una dosis efectiva de yohimbina, se observó que la apomorfina y la yohimbina, por sí solas, revierten la saciedad sexual de manera dependiente de la dosis al incrementar el porcentaje de ratas sexualmente saciadas que copulan y reinician la cópula después de la eyaculación. Aún más, el tratamiento combinado con dosis subumbrales de apomorfina y yohimbina sinergizan para revertir la inhibición sexual característica de la saciedad sexual (Rodríguez-Manzo, 1999). Por otro lado, la inyección simultánea de haloperidol y una dosis efectiva de yohimbina, bloquea la capacidad de esta última para revertir la saciedad sexual. Estos datos sugieren que el sistema dopaminérgico debe ser la vía final común para la reversión de la saciedad sexual inducida por la yohimbina (Rodríguez-Manzo, 1999). En tanto que en la rata macho sometida al efecto "Coolidge" (fenómeno que se presenta en la rata macho sexualmente saciada que se caracteriza por el reinicio de la conducta copulatoria en respuesta al cambio de pareja sexual) (Wilson y cols., 1995), la administración intraperitoneal de haloperidol bloquea parcialmente este fenómeno. En otros términos, el 50% de los machos sexualmente saciados no respondieron al cambio de rata hembra sexualmente receptiva, mientras que el 50% que sí respondió presentó una sola eyaculación. De igual forma, los animales sexualmente saciados y sometidos al efecto "Coolidge", 24 h después, no presentaron conducta sexual espontánea en respuesta a una hembra sexualmente receptiva, pero sí respondieron al cambio de hembra sexualmente receptiva. Los autores concluyen que la dopamina

juega un papel fundamental en la presentación del efecto "Coolidge", pero que su antagonismo con haloperidol no interfiere con la modificación en la capacidad de respuesta de los machos al cambio de hembra a las 24 h post-saciedad sexual (Caballero-Cerda y Rodríguez-Manzo, 2007).

Así pues, con la información anterior podemos pensar que en general, los sistemas excitadores como el noradrenérgico, dopaminérgico y glutamatérgico están regulando de manera positiva la expresión de la conducta sexual masculina, mientras que los sistemas inhibidores, tales como el opioidérgico y el serotoninérgico lo hacen de manera negativa. Por último, de manera sorprendente el sistema GABAérgico, al menos del mPOA, no parecería estar participando en la regulación de este fenómeno.

3. HORMONAS

Las hormonas se definen como sustancias químicas secretadas al torrente sanguíneo que actúan sobre tejidos distantes, usualmente de una forma reguladora (Kronenber y cols., 2003). Estas pueden ser clasificadas de acuerdo a su naturaleza química en: peptídicas, tales como la hormona de crecimiento (GH), la prolactina (PrI), la hormona lactógena placentaria (LP) y las hormonas hipotalámicas o factores liberadores de hormonas hipofisarias; en derivados de aminoácidos como las catecolaminas o las hormonas tiroideas o también como esteroides o derivados del colesterol, tales como los andrógenos, progestágenos, estrógenos o los corticoides. Otro grupo de hormonas lo conforman los que derivan de ácidos grasos, como las prostaglandinas.

3.1 Hormonas esteroides

Para fines de este trabajo describiremos a las hormonas esteroides. Así pues, mencionaremos que las hormonas esteroides sexuales pertenecen

al grupo de hormonas que se sintetizan a partir del colesterol. Estas a su vez, se clasifican de acuerdo a su estructura química y a sus principales acciones biológicas en: progestágenos (moléculas con 21 átomos de carbono), andrógenos (moléculas con 19 átomos de carbono) y estrógenos (moléculas con 18 átomos de carbono). La testosterona es el principal andrógeno circulante en la mayoría de los mamíferos del sexo masculino. Es secretada por las células de Leydig de los testículos en respuesta a la hormona luteinizante (LH; por sus siglas en inglés) y quizás potenciado por la hormona estimulante de los folículos (FSH, por sus siglas en inglés). La hormona LH es secretada por las células gonadotróficas de la adenohipófisis en respuesta a la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH, por sus siglas en inglés) secretada por el hipotálamo (Figura 2A). La testosterona, en el hipotálamo, regula negativamente la liberación de la hormona GnRH, así como a las FSH y LH de la adenohipófisis. A su vez, la testosterona es el andrógeno principal en las hembras de la mayoría de las especies (Snyder, 2001).

En las hembras, la LH estimula al cuerpo lúteo para secretar testosterona y la FSH las células de la teca del ovario para producir testosterona que posteriormente será en su mayor parte aromatizada a estradiol (Snyder, 2001).

En plasma, alrededor del 40% de la testosterona se encuentra unida a la globulina de unión a hormonas sexuales y aproximadamente 2% se encuentra libre; el resto se encuentra unida a la albúmina y a otras proteínas acarreadoras (Snyder, 2001).

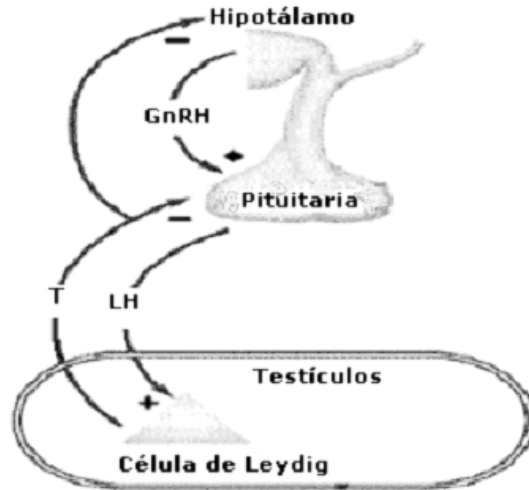


Figura 8. Representación esquemática del eje hipotálamo-pituitaria-gonadal para la regulación de liberación de testosterona por las células de Leydig. GnRH: hormona liberadora de gonadotropinas; LH: hormona luteinizante; T: testosterona.

Las hormonas esteroidales tienen gran importancia desde el desarrollo fetal. Una vez que el feto se define XY, las hormonas esteroides son las responsables de la diferenciación sexual. Jost (1953), demostró en fetos de conejo, que la castración de los embriones macho, provocaba que se desarrollaran como hembras. El desarrollo de los órganos sexuales masculinos es dependiente de la testosterona producida por las células de Leydig de los testículos embrionarios. La testosterona regula tres aspectos del desarrollo fenotípico del macho: la conversión de los ductos de Wolff en el epidídimo, en el conducto deferente, y las vesículas seminales; la formación de la uretra y la próstata a partir del seno urogenital; y la formación del pene y del escroto a partir del tubérculo genital y los pliegues uretrales (Nef y Parada, 1989; Zimmermann y cols., 1999).

La testosterona se sintetiza a partir del colesterol (Figura 3A) y sus principales metabolitos inactivos son la eticolanona y la androsterona, mientras que los metabolitos activos principales son el estradiol y la 5α -dihidrotestosterona (5α -DHT) (Figura 3B). La enzima 5α -reductasa cataliza irreversiblemente la conversión de testosterona a

5 α -DHT. Aunque ambos andr3genos actúan sobre el mismo receptor, el receptor de andr3genos (RA), la 5 α -DHT se une con mayor afinidad (Wilbert y cols., 1983) y activa la expresi3n de genes m3s eficientemente (Deslypere y cols., 1992).

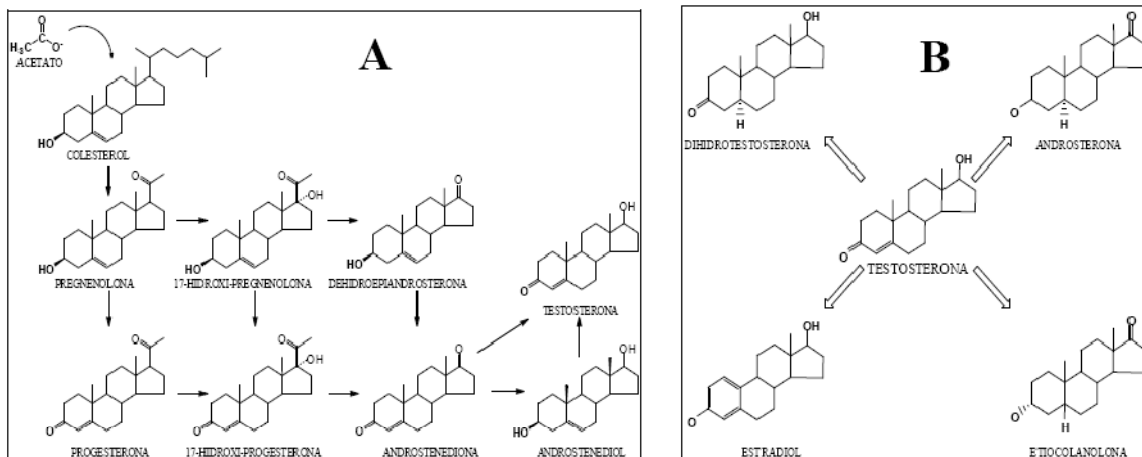


Figura 9. A) Ruta biosintética de la testosterona en las células de Leydig. B) Principales metabolitos de la testosterona.

El complejo enzimático "aromatasa", el cual se presenta en muchos tejidos, especialmente en hígado, tejido adiposo, ovario y sistema nervioso central, cataliza irreversiblemente la conversi3n de testosterona a estradiol (E₂) (Snyder, 2001). Esta conversi3n representa aproximadamente el 85% del estradiol circulante en el macho, el resto es secretado directamente de los testículos (MacDonald y cols., 1979). Cabe aclarar, sin embargo, que la s3ntesis de estradiol, así como de todos los estr3genos naturales, proviene invariablemente de andr3genos. La testosterona se metaboliza en el hígado a androsterona y etiocolanolona. La 5 α -DHT se metaboliza a androsterona, androstandiona y a androstandiol (Snyder, 2001).

La variedad de efectos de la testosterona es debido a su capacidad para actuar al menos por tres diferentes formas: uniéndose al receptor de andr3genos, por su conversi3n en ciertos tejidos a 5 α -DHT y por su conversi3n a estradiol (E₂), el que se une a los receptores de estr3genos (Snyder, 2001).

De acuerdo con la teoría clásica de acción, las hormonas esteroides se unen a receptores citosólicos específicos, que son factores de transcripción que al unirse con su ligando modulan la expresión de genes blanco regulados por esteroides (Beato y cols., 1996).

3.2. El Receptor de Andrógenos

Como ya mencionamos, los andrógenos son hormonas que participan principalmente en el funcionamiento neuroendocrino del sistema reproductor del macho, en la diferenciación sexual y en la regulación de la conducta sexual (Lee y Chang, 2003; Xiao y Jordan, 2002). Los andrógenos ejercen muchos de estos efectos uniéndose a su receptor específico llamado RA (Xiao y Jordan, 2002), el cual está codificado en un gen, formado por ocho exones, que está localizado en el brazo largo proximal del cromosoma X (Lee y Chang, 2003).

El RA pertenece a la familia de los receptores a esteroides con funciones reguladoras de genes, que como todas las proteínas, es sintetizado a partir del ácido ribonucleico mensajero (ARNm) y que funciona como transductor de señales y como factor de transcripción (Carson-Jurica y cols., 1990). El RA posee un peso de 110 kDa y está compuesto por un dominio N-terminal de transactivación, un dominio de unión a ADN (DBD), un dominio de unión a ligando (HBD) y un dominio de translocación (Lee y Chang, 2003).

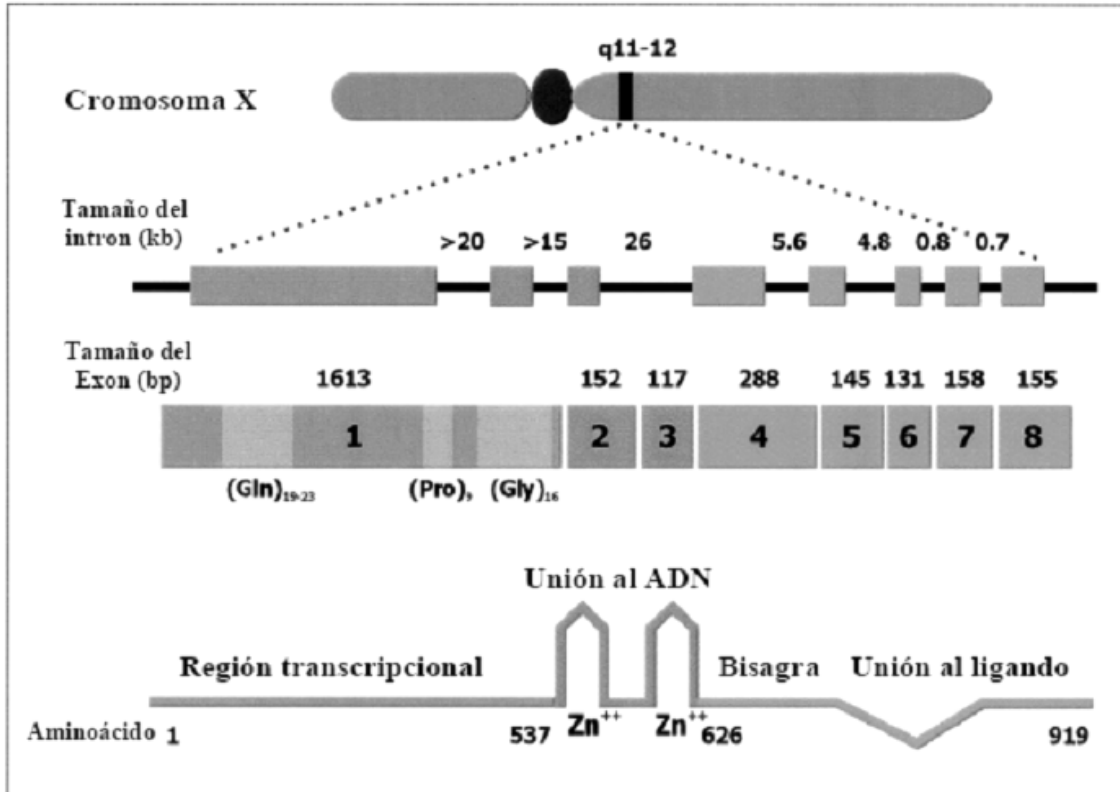


Figura 10. Representación esquemática del receptor de andrógenos humano. kb: kilo base; bp: pares de bases.

El principal andrógeno circulante en el macho, la testosterona, difunde a través de la membrana plasmática de su célula blanco gracias a su carácter lipofílico. Una vez en el interior de la célula, la hormona se une a su receptor específico por medio del sitio de unión al ligando. Esto, provoca la disociación de las proteínas de choque térmico (HSP, por sus siglas en inglés) las cuales confieren estabilidad al receptor y evitan su desnaturalización (Binart y cols., 1989; Catelli y cols., 1985; Denis y cols., 1988). La disociación de las HSP del RA da como resultado un cambio conformacional, es decir, pasa a un estado de activación.

Cuando ocurre este cambio se forma un complejo hormona-receptor que se transloca al núcleo. Una vez que este complejo está en el núcleo, se dimeriza con otro complejo hormona-receptor y se une a los elementos de respuesta al andrógeno (ARE, por sus siglas en inglés)

por el dominio de unión al ADN del receptor, e interactúa con proteínas coreguladoras y proteínas generales de transcripción para alterar la expresión génica y modificar la función celular (Carson-Jurica y cols., 1990; Brinkman, 2001; Zhang y cols., 2004).

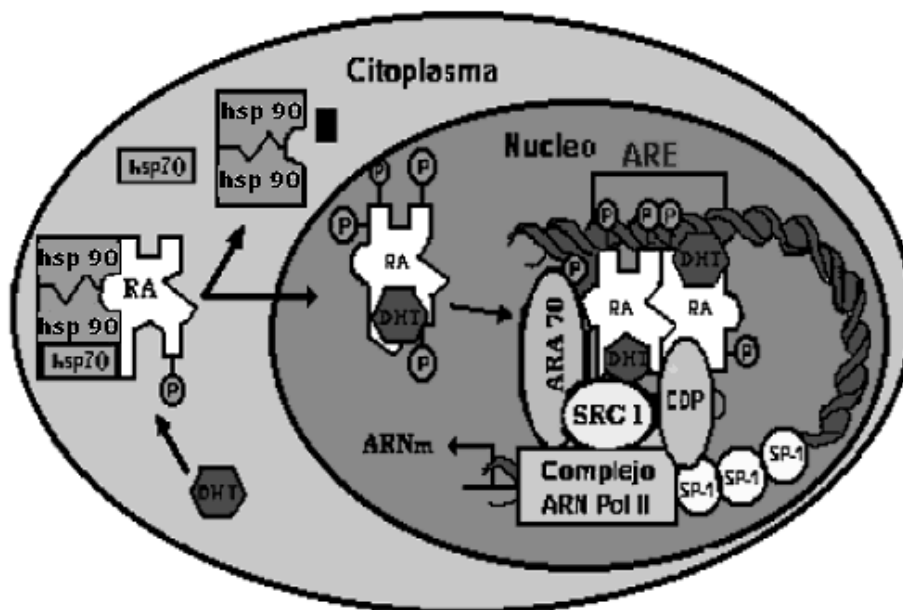


Figura 11. Representación esquemática del mecanismo de acción de los andrógenos sobre su célula blanco. El complejo hormona-receptor se trasloca al núcleo y se dimeriza con otro complejo hormona-receptor, este a su vez se une al ARE (*Androgen Response Element*) para modular la expresión de genes. DHT: Dihidrotestosterona; CBP: proteína de unión al CREB; Proteína de unión al elemento de respuesta al AMPc; hsp: proteínas de choque térmico; SRC-1: Coactivador 1 del receptor a esteroides.

3.2.1 La expresión del receptor a andrógenos y del ARNm

Se ha reportado que en el sistema nervioso central (SNC) la expresión del ARNm del RA se encuentra ampliamente distribuida, y que el mayor número de células positivas a la expresión del ARNm del RA se encuentra en el hipotálamo y en las regiones del telencéfalo (Fernández-Guasti y cols., 2000). Así, el mayor número de células positivas ha sido encontrado en el núcleo preóptico medial y en el núcleo ventromedial, en el núcleo medial y cortical de la amígdala, en el área amígdalo-hipocampal y en el núcleo de la base de la estría terminal (Lisk, 1967). También se ha observado que existe una mayor expresión del RA y de su ARNm en áreas cerebrales extra hipotalámicas, tales como la corteza,

el septum lateral e hipocampo de la rata (Lisk, 1967). Esto sugiere que la acción de andrógenos en el cerebro no está limitada a la expresión de la conducta reproductiva y a mecanismos de retroalimentación endocrina (Handa 1996).

Varios investigadores han mostrado que la castración conduce a una disminución drástica en los niveles de RA en el SNC y en otros tejidos, misma que se revierte con la administración de andrógenos (Menard y Harlan, 1993). Por otro lado, Handa y cols. (1996), paradójicamente observaron que en ratas macho castradas 4 días antes del sacrificio, la expresión del ARNm del RA se encuentra elevada con respecto al grupo de ratas macho no castrados. Este efecto de castración fue observado en el mPOA y en el BNST de ratas macho. Al evaluar la densidad del ARNm del RA en las mismas áreas cerebrales, dos meses posteriores a la castración, la densidad de ARN m del RA es menor con respecto al grupo control. Con la finalidad de conocer el efecto hormonal sobre la densidad del ARNm del RA en estas áreas cerebrales, las ratas macho castradas fueron tratadas 2 semanas previas al sacrificio con 5α -DHT. Así, se observó que en las regiones cerebrales ya antes mencionadas, la densidad del ARNm del RA es similar a la de los machos control (Handa y cols., 1996). También observaron que el tratamiento con E_2 , a los pocos días de ser castrados, no tiene efecto alguno sobre la expresión del ARNm del RA, pero a los dos meses de la castración el E_2 tiene una mayor eficacia que al 5α -DHT en el restablecimiento de los niveles del ARN mensajero.

Estos resultados, muestran que las hormonas sexuales de origen gonadal, regulan de manera diferencial, la expresión del ARNm del RA y el de la proteína RA. Del mismo modo, varias investigaciones sugieren que esta diferencia entre la expresión del ARNm y la proteína RA se debe a una regulación diferencial a nivel transcripcional y transduccional.

3.2.2. El receptor a andrógenos y la conducta sexual

Como ya se ha mencionado en los capítulos anteriores, la proteína RA se expresa en varios tejidos, tales como la próstata (Prins y cols., 1991) y el cerebro (Fernández-Guasti y cols, 2000).

La presencia del RA en el SNC es importante ya que, aunque controversial, participa en funciones tales como la regulación de la conducta sexual, el comportamiento agresivo y la liberación de gonadotropinas (Mowszowickz y cols., 1989; Clark y Henderson, 2003; Schulkin, 1999; Sachs y Meisel, 1988).

Así pues, la expresión tanto de la proteína como del ARNm del RA, han sido detectados en diversas regiones cerebrales implicadas en la modulación de la conducta de apareamiento; entre ellas podemos mencionar al BNST, al mPOA, el núcleo amigdaloides (MeN, por sus siglas en inglés), el VMH, el LS, y al núcleo periventricular anteroventral (Pe, por sus siglas en inglés) (Sachs y Meisel, 1988). También se han localizado en la región CA1 del hipocampo, los bulbos olfatorios, la neocorteza y en el tallo cerebral y la medula espinal (Chung, 2003). Sumado a esto, se sabe que la castración elimina la conducta copulatoria y que la administración exógena de andrógenos revierte esta inhibición, además, la castración influye sobre la expresión del RA, ya que la inmunoreactividad al RA disminuye a corto plazo después de la castración y se restaura con la administración de andrógenos (Handa, 1996).

Romano-Torres y colaboradores (2007) evaluaron la densidad del RA en diferentes áreas cerebrales de ratas macho a diferentes intervalos post-saciedad.

Al evaluar la densidad del RA a las 48 h post-saciedad en las diferentes áreas cerebrales observaron que en la parte medial del POA, existe una menor densidad del RA en comparación con el grupo de ratas

macho sexualmente expertas que no copularon. A las 72 h o 7 días post-saciedad, se observó una recuperación de la densidad del RA.

Interesantemente, en el VMH, LSV, MeA y en el BNST, a las 48 h post-saciedad no se encontraron alteraciones importantes. Cabe destacar que a los 7 días post-saciedad la densidad del RA de los machos sexualmente saciados fue similar a la del grupo control en todas las áreas cerebrales estudiadas.

Al evaluar la concentración plasmática de testosterona a los diferentes intervalos post-saciedad sexual observaron que no existían diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y los grupos experimentales.

De este experimento se obtuvieron las siguientes conclusiones: a) la inhibición de la conducta copulatoria que caracteriza a la saciedad sexual coincide con una disminución importante en la densidad de RA en el mPOA; b) la recuperación de la conducta sexual, evaluada por la proporción de animales que muestran conducta copulatoria, está relacionada con la recuperación de la densidad del RA (Romano-Torres y cols., 2007), y c) los cambios en la densidad del RA post-saciedad sexual, es un fenómeno independiente de las concentraciones plasmáticas de testosterona medidas a los mismos intervalos (Fernandez-Guasti y cols., 2003, Romano-Torres y cols., 2007).

Del mismo modo, Fernández Guasti y cols. (2003) realizaron un estudio en donde mostraron que la conducta sexual disminuye la expresión del RA. Ellos observaron que 24 h después de la actividad sexual; que consistía en una eyaculación o cópula hasta la saciedad, la densidad del RA se encontraba disminuida en varias regiones cerebrales de la rata con respecto al grupo control (Fernández-Guasti y cols., 2003).

Estos resultados sugieren que la conducta sexual masculina está influenciada por los esteroides gonadales, especialmente los andrógenos (Davidson, 1972; Beach, 1961).

Fernández Guasti y cols. (2003) encontraron que en mPOA del grupo de ratas saciadas sexualmente, presentaron una menor densidad del RA en comparación con el grupo de ratas que sólo presentaron una eyaculación. En ambos grupos, la densidad del RA fue menor en comparación con el grupo control, lo que sugiere que en el mPOA de la rata macho, la disminución de la densidad del RA es dependiente de la cantidad de conducta sexual desplegada.

En el núcleo accumbens (Acb) de ratas macho, observaron que la conducta sexual tiene un efecto negativo sobre la expresión del RA ya que en el grupo de ratas macho que eyacularon sólo una vez así como en el grupo de machos que alcanzaron la saciedad sexual la densidad del RA es menor en comparación con el grupo control. Entre ambos grupos experimentales, la densidad de expresión del RA no mostró diferencias estadísticamente significativas. Esto quiere decir que la disminución de la densidad del RA, en el Acb, no depende de la cantidad de conducta sexual desplegada por la rata macho.

En cambio, en el VMH de ratas macho, sólo se observó una menor densidad del RA en el grupo que copuló hasta alcanzar la saciedad sexual en comparación con el grupo control, mientras que en el grupo de ratas que presentó una sola eyaculación, la densidad del RA no fue diferente con respecto al grupo control.

De igual forma, en el LS de la rata macho sometida a saciedad sexual, pero no en el macho sometido a una eyaculación, la densidad de expresión del RA fue significativamente menor con respecto al macho sexualmente experto que no copuló (Phillips-Farfán y Fernández-Guasti, 2009).

En cambio, en el BNST de la rata macho que copula hasta una eyaculación o bien hasta la saciedad sexual, la densidad de RA no mostró diferencias estadísticamente significativas con respecto a la rata macho sexualmente experta que no copuló (Fernández-Guasti y Rodríguez-Manzo, 2003).

Además, se midieron las concentraciones de testosterona 24 h después de que los individuos copularon hasta la saciedad o 24 h después de haber presentado una eyaculación, es decir, al mismo intervalo al que se evaluó inmunohistoquímicamente la densidad de RA en varias áreas del sistema nervioso central. Interesantemente, se encontró que los niveles de andrógenos circulantes no fueron diferentes entre los grupos (Fernández-Guasti y cols., 2003). Estos resultados, sugieren que la disminución de la densidad del RA en las áreas antes mencionadas se debe principalmente a la conducta sexual desplegada por la rata macho y no a una disminución en los niveles de andrógenos circulantes.

Sin embargo, mientras la inmunoreactividad del RA disminuye por la castración, la densidad del ARNm del RA aumenta. Es decir, se observa una regulación negativa del andrógeno gonadal sobre el ARNm de su receptor (Quarmby y cols., 1990).

3.2.3. El receptor a estrógenos y la conducta sexual

El RE α se ha localizado en áreas límbicas involucradas en la regulación de la conducta sexual, tales como el mPOA, el LS, el BNST, el VMH y el MeA (Baum y cols., 1982; Greco y cols., 1998; Phillips-Farfan y cols., 2007; Phillips-Farfán y Fernández-Guasti., 2009; Romano-Torres y cols., 2007)

La relación funcional entre las neuronas sensibles a los esteroides y el comportamiento sexual masculino en estas áreas del cerebro se deriva principalmente de dos evidencias experimentales: la coexpresión

y la activación directa de esteroides. Respecto a la primera, un alto porcentaje de las neuronas activadas por el comportamiento sexual (establecido por la expresión del c-fos) es positivo al RA o al RE α , o ambos. Además, el implante local de andrógenos o estrógenos en algunas de estas áreas del cerebro facilita el desarrollo de la cópula (Baum y cols., 1982; Clancy y cols, 2000; McGinnis y Dreifuss, 1989; Morali y cols., 1986), y por el contrario, los bloqueadores de RA en mPOA y VMH inhiben eficazmente el comportamiento sexual en machos no castrados (McGinnis y cols., 2002; Harding y McGinnis, 2004).

Existen evidencias de que los andrógenos masculinos promueven la conducta sexual masculina a través de su aromatización a estrógenos que actúan sobre el RE α . Por lo tanto, la inhibición de la aromatasa se traduce en la pérdida de la conducta de apareamiento (Beyer y cols., 1976; Lephart, 1996).

En relación a la saciedad sexual, se ha demostrado que 24 horas después de establecerse la saciedad, aumenta la densidad del RE α en el BNST, LS, MeA, mPOA y Acb. Por el contrario, en el VMH, la densidad del RE α no varía con relación al control, y los niveles de estrógenos en el suero permanecen constantes, ya sea después de una eyaculación o copulando hasta la saciedad (Phillips-Farfán y cols, 2007).

Al igual que el RA, la expresión del RE α dependerá de su síntesis, que se deriva de la traducción de su ARNm y también de la actividad del proteosoma que participa en su degradación (Jaworski, 2006). También al igual que el RA, los cambios en RE α producidos por la cópula, se preceden por cambios en la densidad de ARNm respectivo (Fernández-Guasti y cols, sometido)

4. MICROARREGLOS

Los métodos tradicionales en la biología molecular, generalmente, han trabajado con base en un experimento por cada gene: ciertas moléculas

biológicas, como los ácidos nucleicos, pueden reconocerse unas a otras y formar uniones estables (hibridación), lo que permite identificar secuencias específicas de ADN o ARN entre miles; el rendimiento es limitado y lento, la "visualización" global de la función del gene es difícil de obtener. En años recientes, una nueva tecnología, la llamada "microarreglos de ADN" (DNA microarray) o "chip de ADN" ha causado un gran interés entre los científicos de las áreas bioquímicas y genómicas. Esta novedosa tecnología promete monitorear todo un genoma en un solo "chip" (laminilla), de tal manera que los investigadores pueden tener un mejor panorama de la expresión y, eventualmente inferir las interacciones entre miles de genes en forma simultánea.

Un microarreglo es una preparación ordenada de hasta 100 X 100 gotitas o puntos muy pequeños de muestras de ADN en una laminilla de cristal (portaobjetos de microscopio). Cada punto puede ser un gene distinto y el conjunto de ellos sería un "chip". Estos "chips" se analizan añadiendo una copia complementaria de la población total de ARN mensajero convertida a ácido desoxirribonucleico (ADNc o "ADN copia"), permitiendo que se hibride con los ADNs del "chip". El ADNc está marcado con sustancias con propiedades fluorescentes que pueden ser visualizadas en un lector computarizado que mide la fluorescencia relativa de los puntos arriba mencionados. Cada chip puede hibridarse con más de una muestra de ADNc obtenida a partir de poblaciones de ARN extraídas de diferentes células, tejidos o condiciones fisiológicas de un mismo organismo. Estas poblaciones de ADNc están marcadas con sustancias que emitirán colores diferentes (fluoróforos). Si un gen emite un color más o menos intensamente en el tejido problema que en el de referencia, significa que dicho gen estuvo más o menos activo y que probablemente es importante para el proceso que se está estudiando, por ejemplo, una enfermedad congénita o neurodegenerativa.

Las aplicaciones de esta tecnología son amplísimas: procesos genómicos, diagnóstico de enfermedades, diseño de nuevos fármacos, estudios toxicológicos o investigaciones con impacto en la agricultura y la industria alimentaria, entre otros.

JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La saciedad sexual en la rata macho es un proceso de larga duración en el que están alterados los receptores a hormonas esteroides en el SNC, especialmente en el mPOA. Esta variación en los receptores está mediada por un efecto de la cópula sobre procesos de transcripción-traducción, ya que la conducta sexual modifica la cantidad de ARNm, que finalmente se traduce, en cambios en la cantidad de proteína. Por otro lado, varios sistemas de neurotransmisión parecen participar en la inhibición de la conducta copulatoria que caracteriza a la saciedad sexual. Entre ellos se encuentran los sistemas monoaminérgicos, los opiáceos y el glutamato. Posiblemente la participación de estos sistemas involucre cambios en sus receptores específicos.

Luego entonces se plantea lo siguiente:

¿Estarán involucrados otros genes además del RA y RE α en los cambios drásticos de la expresión del ARNm que ocurren como consecuencia del despliegue de la conducta sexual masculina hasta la saciedad?

¿Habrá diferencias en la regulación de la expresión del ARNm de varias proteínas en el mPOA de la rata macho sexualmente experta y sexualmente saciada?

¿La expresión de estos genes es congruente con los hallazgos de la manipulación farmacológica de diversos sistemas de neurotransmisión y con aquéllos que muestran cambios en el ARNm y en las proteínas de los receptores a esteroides relacionados con la saciedad sexual?

Por lo anterior, en esta tesis se pretende evaluar si el despliegue de la conducta sexual modifica la expresión de diferentes genes posiblemente involucrados en la inhibición de la conducta sexual que caracteriza a la saciedad sexual.

HIPOTESIS

Si la saciedad sexual afecta la expresión de varios genes (incluidos receptores a hormonas esteroides y a neurotransmisores) en algunas estructuras del sistema nervioso central de la rata macho (entre ellas el área preóptica), entonces estos cambios se verán evidenciados por medio de la técnica de microarreglos.

OBJETIVO GENERAL

Estudiar el efecto de la saciedad sexual sobre la expresión de genes que pudieran participar en la inhibición de la conducta copulatoria que caracteriza a este proceso.

OBJETIVOS PARTICULARES

Evaluar la expresión de genes relacionados con los receptores a esteroides en el área preóptica medial de la rata macho sexualmente saciada.

Estudiar la expresión de genes que participan en procesos de neurotransmisión en el área preóptica medial de la rata macho sexualmente saciada.

MATERIALES Y MÉTODOS

- Animales.

Se usaron ratas machos con un peso corporal promedio de 300-350 g, los animales fueron colocados en cajas de acrílico, 8 por caja, a temperatura ambiente bajo un ciclo de 12 h de luz-oscuridad invertido y con libre acceso a comida y agua.

Previo a la prueba experimental, todos los animales recibieron 5 pruebas de conducta sexual de entrenamiento y los machos sexualmente activos se etiquetaron como copuladores (C) y fueron aquellos que mostraron una latencia de eyaculación menor de 15 min. Se separaron de los machos que no mostraron conducta copulatoria, los que se etiquetaron como no copuladores (NC). Se usarán ratas hembras receptivas como estímulos. La receptividad de las hembras se indujo por la administración de benzoato de estradiol a una dosis de 4 µg/rata y 24 h después se le administró progesterona a una dosis de 2 mg/rata.

- Modelo de saciedad sexual.

La prueba de conducta sexual se desarrolló 3 h después del inicio de la fase obscura y 4 h después de la administración de progesterona a las ratas hembras. Las ratas macho copuladoras se introdujeron en un cilindro de acrílico transparente 5 min antes de presentarle a la hembra receptiva. Transcurrido este tiempo de acondicionamiento y exploración del macho, se les presentó la hembra y se les dejó copular hasta la saciedad por un lapso de 4 h.

- Diseño experimental.

Se establecieron los siguientes grupos experimentales con una n de 6 animales:

- 1) Grupo control de animales copuladores, constituido por ratas sexualmente expertas o copuladores. Estos animales fueron sacrificados al menos una semana después de su último entrenamiento.
- 2) Grupo experimental de animales saciados. Lo constituyeron ratas expertas y saciadas sexualmente. Este grupo fue sacrificado inmediatamente concluidas las 4 horas de cópula *ad libitum*.

- Obtención del tejido

Para la obtención de tejido cerebral se procedió de la siguiente manera: las ratas fueron sacrificadas por decapitación con una guillotina. Sin demora, se extrajo el tejido cerebral con materiales de disección y se enjuagó con solución salina para retirar el exceso de sangre. Luego, el cerebro fue almacenado durante toda la noche a -10° C para su posterior disección. Con el uso de una matriz se obtuvo una rebanada de tejido cerebral a nivel del hipotálamo. Se usaron como referencias ventrales del cerebro el quiasma óptico y los cuerpos mamilares.

Posteriormente de la rebanada se disecó el tejido encontrado por debajo de la comisura anterior y el hipotálamo lateral. La disección se realizó de forma bilateral. Naturalmente esta muestra de tejido contiene no sólo el área preóptica sino también áreas hipotalámicas adyacentes. De esta muestra se procedió a extraer el ARN total.

- Extracción del ARN

El tejido se sometió a una extracción de ARN en TRIZOL (Life Technologies Trizol ® Reagent for Total ARN isolation, TECH-LINE™) de acuerdo a los siguientes pasos:

- 1) Se colocó el área de interés en un tubo Eppendorf de 1.5 ml con 1 ml de Trizol. El volumen de tejido no debe exceder el 10% del volumen total de Trizol utilizado para la extracción.

- 2) Se homogenizó el tejido utilizando un homogenizador con cuchillas en tiempos variables de pulso hasta que el tejido se disolvió en fragmentos diminutos o totalmente. El procedimiento se realizó en frío de manera intermitente para evitar la degradación potencial del ARN.
- 3) Se incubaron las muestras homogenizadas por 5 minutos a una temperatura de entre 15 y 30°C para permitir la completa disociación de los complejos núcleoproteicos. Se adicionó 0.2 ml de cloroformo por mililitro de Trizol. Se cerraron herméticamente los tubos. Se agitó vigorosamente por 15 segundos. Se centrifugaron las muestras a 12 000 rpm a 2°C durante 15 minutos. Posterior a la centrifugación, la muestra se separó en tres fases: una roja inferior, una intermedia blanca y una superior incolora. El ARN se queda exclusivamente en la fase acuosa superior.
- 4) Se transfirió la fase acuosa a un tubo limpio. Se precipitó el ARN agregando 0.5 ml de alcohol isopropílico por mililitro de Trizol utilizado. Las muestras se centrifugaron a 12 000 rpm a 2°C por 10 min. El ARN se concentró en una pastilla o pellet en el fondo del tubo Eppendorf
- 5) Se tiró el sobrenadante una vez centrifugada la muestra. Se lavó la pastilla de ARN con etanol al 75%, agregándose la misma cantidad de etanol al 75% que la utilizada de Trizol para la homogenización inicial. Se mezcló la muestra en vórtex y se centrifugó a 7 500 rpm a 2°C por 5 minutos.
- 6) Al final del proceso, se secó por un tiempo breve la pastilla de ARN (no más de 10 minutos). El ARN se redisolvió en agua DPC o libre de ARNsas. Se conservó en una ultracongeladora tipo Revco a -70°C.

7) Con el objeto de comprobar la calidad del ARN, una alícuota de la muestra obtenida fue sometida a análisis espectrofotométrico. Una razón A_{260}/A_{280} superior a 1.8 fue considerada recomendable para proseguir los siguientes pasos de la hibridación. Con objeto del análisis de microarreglos, se requirió de cuando menos 10 microgramos de ARN total diluido en el menor volumen de agua estéril posible. No es crítica la presencia de ADN genómico, así como tampoco trazas de ARN de transferencia o proteínas. Se tomaron fotografías de estos geles y se documentaron en un archivo computarizado.

- Procesamiento del microarreglo

Se utilizó el ARN extraído del cual se había comprobado calidad y cantidad, mediante una corrida en el gel de agarosa con bromuro de etidio y espectrofotometría, de acuerdo a lo mencionado previamente.

Se prepararon a continuación sondas de ADN complementario fluorescente para el ARN mensajero extraído, de acuerdo al siguiente protocolo:

1) Para alinear el primer (iniciador) se mezclaron 2 microgramos de ARN mensajero con 2 μg de un oligo-dT regular o anclado (5´-TTT TTT TTT TTT TTT TTV N-3´) en un volumen total de 15 μl :

- ARNm 2 μg (Cy3 y Cy5)
- Oligo-dt 2 μg (Cy3 y Cy5)
- Volumen total 15 μl (Cy3 y Cy5)

2) Se calentó la muestra a 70°C por 10 minutos y se enfrió en hielo.

- 3) Se agregaron 15 μl de mezcla de reacción a cada una de las reacciones Cy3 y Cy5:
- Mezcla de reacción: 6 μl de buffer de primera cadena 5X, 3 μl de DTT 0.1 M, 0.6 μl de dNTPs no marcados, 3 μl de Cy3 o Cy5 (1mM, Amersham), 2 μl de Superscript II (200 u/ml, Gibco, BRL) en un volumen total de 15 μl .
 - dNTPs no marcados: 25 μl de dATP (100 mM) con una concentración final de 25 mM, 25 μl de dCTP (100 mM) con una concentración final de 25 mM, 25 μl de dGTP (100 mM) con una concentración final de 25 mM, 25 μl de dTTP (100 mM) con una concentración final de 25 mM. Con esto el volumen total es de 100 μl
- 4) Buffer de primera cadena 5X: se compone de 250 mM de Tris-HCl (pH=8.3), 375 mM de KCl y 15 mM de MgCl_2 .
- 5) Se incubó a 42°C por 2 horas.
- 6) Se procedió a degradar el ARN agregando 15 ml de NaOH al 0.1M, y se incubó posteriormente a 70°C por 10 minutos.
- 7) Se neutralizó el pH de la solución al agregar aproximadamente 15 μl de HCl 0.1 M, y se llevó a un volumen de 500 μl con TE (compuesto por 10 mM de Tris y 1 mM de EDTA).
- 8) Se combinaron las sondas concentradas por separado (Cy3 y Cy5) en un centrífugo limpio, se llevaron a un volumen total de 500 μl con TE y se concentraron nuevamente a un volumen menor a los 7 μl .
- 9) Se agregó 1 μl de 10 $\mu\text{l}/\mu\text{l}$ de ARN Poly A (poli-adenilado, Sigma #P9403) y 1 μl de 10 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ de ARNt (Gibco- BRL, # 15401-011).
- 10) Se ajustó el volumen a 9.5 μl con agua destilada.

- 11) Para la preparación final de la sonda, se agregaron 2.1 μl de 20X SSC (compuesta por 1.5 mM de NaCl, 150 mM de Citrato de sodio [ph=8]), y 0.35 μl de SDS al 10%. El volumen final de la sonda se ajusta a 15 μl .
- 12) Se desnaturalizó la sonda por calentamiento durante 2 minutos a 100°C, y posteriormente se incubó a 37°C por 30 minutos.
- 13) Se colocó sobre el arreglo debajo de un cubreobjetos de vidrio.
- 14) Se hibridó a 65°C por 24 horas en una cámara de laminillas con humedad mantenida por un reservorio de SSC 3X.
- 15) Se lavaron los arreglos por sumergimiento y agitación por 5 minutos en SSC 2X con SDS al 0.1%, seguido de SSC al 1X y SSC al 0.1X.
- 16) Se efectuó "spin" en seco por centrifugación por 2 minutos en un rack para laminillas en una centrifuga Beckman GS-6 en contenedores microplus a 650 rpm durante 2 minutos.

El procedimiento del microarreglo consiste en la aplicación de la solución de hibridación con las sondas sobre la laminilla y cubrirla con un cubreobjetos para permitir que la solución cubra todo el microarreglo, de igual forma que una preparación para microscopía. La reacción así es capilar y por eso requiere de muy poco volumen, por lo que hay que tener extrema precaución con la evaporación. Para evitar que esto suceda, los microarreglos se colocan dentro de cámaras húmedas diseñadas específicamente para este procedimiento. Al igual que para la hibridación, el lavado de un microarreglo utiliza las mismas reglas de temperatura y astringencia que en otros experimentos como el Northern blot, sólo que en este caso se requiere del secado de las laminillas. Para

el secado es recomendable utilizar la centrifugación ya que cualquier residuo de sales por evaporación puede afectar la lectura.

Descripción General del Microarreglo

- Microarreglo Formato II con anotación (GO y AccN)
- Fuente de Información: RGD/GenBank
- Tamaño de sondas: 70 mers
- Oligos fabricados por: Operon
- Número de Spots por gen: 2
- Número total de spots: 10 368

Los genes que se exploraron participan en el ciclo celular (como factores mitogénicos, tirosincinasas, factores de señalización, transducción, segundos mensajeros, ciclinas, cinasas dependientes de ciclinas, proteínas de degradación como bicuitinas, factores transcripcionales de varios grupos, proteínas estructurales, proteínas ribosomales, entre otras), proliferación (proteínas g, factores transcripcionales, oncogenes, ciclinas, genes homeóticos, calicreínas, desacetilasas de histonas, metaloproteinasas y proteínas de degradación, entre otras), proteínas membranales (canales iónicos, glicoproteínas, receptores hormonales, anclajes de citoesqueleto, marcadores de identidad celular, receptores a neurotransmisores ionotrópicos y metabotrópicos, etc.) y genes relacionados a apoptosis (caspasas, bcl-2, bax, bim, PDCDs, etc.).

Otros genes incluidos en el microarreglo no se expresan en esas condiciones y por tanto sirven de controles negativos para el mismo experimento (oligonucleótidos de arabidopsis, precursor de lipoproteína surfactante pulmonar, etc). Se realizaron corridas adicionales o dobles de los microarreglos, como control interno para evaluar la

reproducibilidad del método y minimizar los posibles sesgos técnicos en la hibridación y procesamiento del microarreglo.

Para obtener el listado completo de los genes incluidos en el microarreglo, se puede visitar la página web de la unidad de microarreglos del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM (<http://microarrays.ifc.unam.mx/principal.html>), en la que se encuentra la etiqueta de productos, el correspondiente al Chip rata abre directo a un archivo con un listado completo de los genes representados con su número de identificación y localización dentro de la laminilla. Se anexan también en este sitio las características físicas del arreglo (ya mencionadas arriba) así como imágenes de arreglos ya hibridados en los que se pueden apreciar los puntos de diferentes colores.

- Lectura e interpretación del microarreglo

Una vez que la laminilla terminó el tiempo de hibridación a 42°C, se lava con buffer salino (SDS 1% + NaCl 0.5 mM) precalentado a 42°C, incubando con agitación leve (70 rpm) por 5 minutos. Se dan dos lavados más con la misma solución, pero a concentraciones descendentes para posteriormente secar la laminilla por minispin, y se pasan al escáner. Cada laminilla es escaneada con dos longitudes de excitación de onda (532 y 635 nm) con un escáner tipo Packard Biosip Scan ARRay 400 (GSI Packard Bioscience/Perkin Elmer, Minnessota, USA) con microscopía confocal.

Existen dos tipos de lectores para microarreglos: los lectores con cámara digital y los lectores confocales. En los lectores con cámaras digitales se registra la imagen fluorescente como si se tomara una fotografía común, mientras que en los lectores confocales se hace en reconstrucción de la imagen utilizando los principios de la microscopía confocal, que consiste en la utilización de foto-multiplicadores para registrar la señal. Estos últimos, que fueron los utilizados para el

presente proyecto, son posiblemente los mejores lectores para microarreglos; ya que permiten obtener una imagen de muy alta resolución, factor determinante en la obtención de resultados; desafortunadamente estos lectores son muy costosos.

En ambos tipos de lectores se utiliza un LASER para excitar las moléculas fluorescentes unidas al ADN complementario y poder obtener la imagen de cada una de las muestras contenidas en el microarreglo. Este procedimiento se hace para cada uno de los fluoróforos obteniéndose dos imágenes, una para el fluoróforo Cy3 (rojo) y una para el fluoróforo Cy5 (verde). Para la obtención de estas imágenes se debe ajustar la intensidad del láser y la sensibilidad de la cámara o de los fotomultiplicadores, de tal forma que ambas imágenes den valores semejantes de fluorescencia total. Comúnmente para lograr esto, en los microarreglos se colocan controles o marcadores que se utilizan para ajustar la señal de fluorescencia para ambos fluoróforos. Una vez obtenidas estas imágenes, pueden ser combinadas para obtener un aspecto visual del microarreglo. En un ejemplo, podemos observar puntos amarillos, verdes, rojos, y un sin número de tonalidades entre verde y rojo. Para este experimento se marcó la muestra experimental en rojo y la muestra control en verde. Todos aquellos puntos que se ven rojos o tonalidades anaranjadas, son interpretados como genes que aumentaron su expresión. Los puntos verdes o tonalidades entre verde y amarillo serán aquellos genes que disminuyeron su expresión. Y finalmente los puntos amarillos representan a los genes que en ambas condiciones se expresan de igual forma.

- Análisis e interpretación de los microarreglos

Para la obtención de los valores cuantitativos de cada una de las señales de fluorescencia contenidas en el microarreglo se requiere del análisis de imágenes. Comercialmente se pueden adquirir programas de cómputo para estos fines, también se les puede encontrar en sitios de Internet con software libre. En la mayoría de estos programas existen una serie de pasos básicos para la interpretación de éstas imágenes.

Las imágenes escaneadas fueron procesadas por un lector denominado Virtek Chip utilizando el programa Array Pro Analyzer de Media Cybernetics. Este software localiza cada spot o mancha con una trama programada (o retícula) para obtener la densidad promedio de la señal de cada spot y el fondo del área que rodea a cada spot.

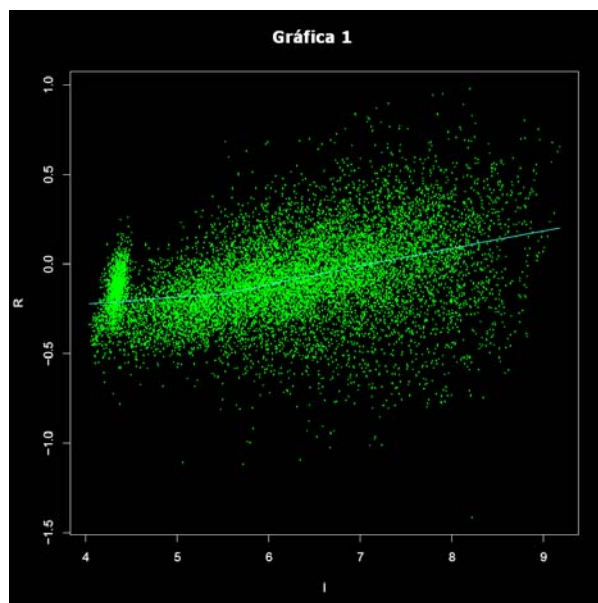
La imagen es inicialmente filtrada en pequeñas imperfecciones en el procesamiento que se observa como puntos más brillantes en el fondo que de manera general es oscuro o negro. Estas señales de error son desechadas junto con los puntos que pudieran ser adecuados pero que debido a este defecto no pueden ser evaluados de manera satisfactoria. Bloques completos de puntos pueden ser eliminados. En el caso de eliminar a más del 30% de los puntos o bloques, el arreglo tiene que repetirse. Cabe aclarar que cada experimento (de comparación directa entre entidades patológicas) se repite una vez más con un cambio de fluorocromo para evitar el sesgo de marcaje.

A continuación, con la imagen ya filtrada de errores de intensidad de otros puntos o contaminantes, se coloca la retícula y se define la zona a incluir o excluir. Con esto empieza el trabajo manual de ajustar a cada punto la retícula de manera individual, tratando de eliminar de manera manual (posteriormente estadística) los puntos que no mostraron una hibridación adecuada. Una vez terminado este proceso se indica al programa el cálculo de todas las intensidades medias (el punto medio de cada mancha) la magnitud de la intensidad para proceder a la

semi-cuantificación. Todos los puntos y sus replicados técnicos son individualmente evaluados de acuerdo a algunos parámetros matemáticos para discriminar variabilidad inaceptable. Los puntos que pasen estos criterios son incluidos en el análisis estadístico de las intensidades de señal. Una razón de la intensidad entre Cy3 y Cy5 para cada punto representa la expresión relativa de los transcritos de ARN que se comparan de manera competitiva en el arreglo que se prueba.

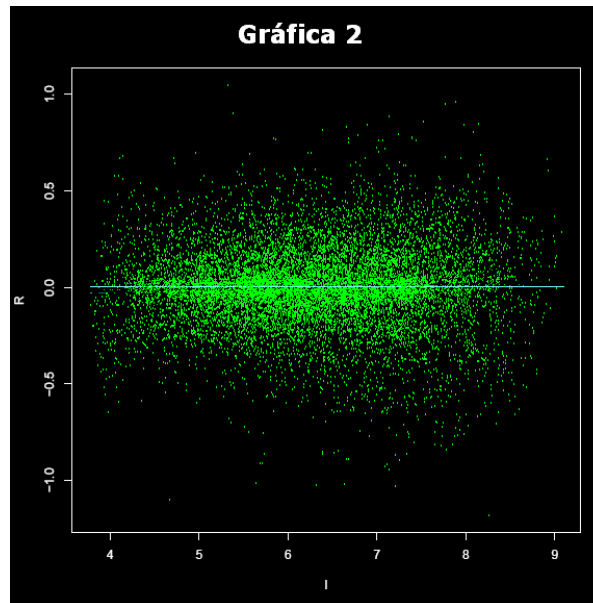
RESULTADOS

Utilizando la lectura obtenida por el escáner tipo Packard Biosip Scan ARRay 400 (GSI Packard Bioscience/Perkin Elmer, Minnessota, USA) se evaluó la correlación lineal para cada duplicado técnico, con el objeto de sólo incluir a aquellos experimentos que tuvieran al menos 0.68 de correlación (de acuerdo al valor r para la prueba de Pearson) para todo el estudio. Los niveles de expresión de todos los genes fueron analizados utilizando un paquete estadístico bioconductor denominado R, el cual ofrece gran variedad de pruebas estadísticas y técnicas graficas para bioinformática (<http://www.r-project.org>). Este programa es una plataforma que permite su modificación para acoplarla a las necesidades individuales de la investigación, y esto fue hecho por genArise (<http://www.ifc.unam.mx/genarise>). GenArise es una herramienta para analizar los datos de microarreglos de doble color aplicado en la programación R. Por medio de dos ecuaciones sencillas, obtiene valores con los que se realiza una gráfica como la siguiente.



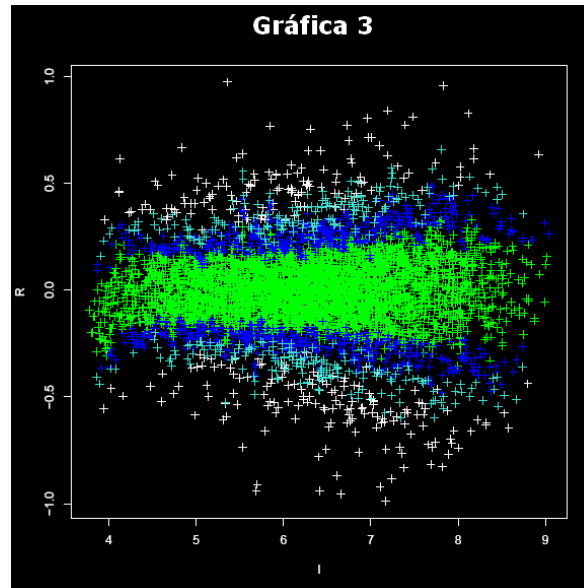
Gráfica 1. Representación gráfica de la expresión génica en los microarreglos, donde R es la diferencia de los logaritmos en base dos de la intensidad luminosa entre Cy5 y Cy3, I es la suma en logaritmo base diez de Cy5 y Cy3. La gráfica 1 muestra todos los genes evaluados con la técnica, utilizando valores en bruto, sin ningún tipo de ajuste, la línea verde muestra la tendencia que presentan

Después se procede a la normalización y corrección de los resultados a través de métodos estadísticos (ajusta por medio de modelos de regresión polinómicos locales para estimar cada punto y luego una las estimaciones *-lowess* o más genericamente *loess*-).



Gráfica 2. Representación gráfica de la expresión génica en los microarreglos con los datos ajustados, la gráfica muestra todos los genes evaluados con la técnica, utilizando valores normalizados y corregidos, la línea verde muestra la tendencia que presentan

Ajustadas las señales emitidas por los spots, es posible evaluar el grado de variación en la expresión génica (z_i). Este se determina con una ecuación con el promedio, la desviación estandar y el valor único de cada punto, con esto se obtiene el grado de variación en la expresión génica (z_i).



Gráfica 3. Representación gráfica de la expresión génica en los microarreglos con los datos ajustados, la gráfica muestra los diferentes niveles de variación, los puntos verdes centrales representan los genes que poseen una variación en la expresión génica entre 1 y -1. Los puntos en azul son los genes cuya variación es entre 1 a 1.5 o -1 a -1.5. Los puntos en cian son genes de variación entre 1.5 a 2 o de -1.5 a -2. Los puntos blancos son genes cuya expresión es mayor a 2 o menor a -2

Una vez que se tiene evaluado el z_i , los genes se caracterizan en diferentes categorías, que para nuestro estudio son: a) Sin variación en su expresión (con valores entre 1.5 y -1.5), y b) Con variación en su expresión (con valores mayores a 1.5 y menores a -1.5). Con esto, los valores mayores a 1.5 los consideraremos un aumento en la expresión, y los valores menores a -1.5 serán de una disminución de la expresión.

Esta clasificación, nos ofrece una visión sumamente amplia para el análisis de nuestros microarreglos. De este modo, de los 5000 genes probados con la técnica, obtuvimos 531 que variaban significativamente, de los cuales 298 aumentan su expresión y 233 la disminuían. Para facilitar su manejo, se utilizaron dos herramientas informáticas, tales como Karma y Babelomics.

Karma es un programa desarrollado por la universidad de Yale, utilizando bases de datos como *Gen Bank*, *LocusLink*, *Unigene*, *Gene ontology*, y *SwissProt* ofrece una interpretación a los datos obtenidos en los microarreglos, proporcionando desde el nombre del gen hasta

su localización a nivel cromosómico (<http://www.biryani.med.yale.edu/karma/cgi-bin/mysql/karma.pl>). A continuación, se muestra una fracción de los genes más importantes relacionados con nuestro estudio.

Genes que aumentan su expresión		
Involucrados con Receptores Metabotrópicos		
Gen	Localización	Gene Bank
Receptor 2b a serotonina (Htr2b)		NM_017250
Transporte de GABA 13 (Slc6a13)	Membrana plasmática	M95762
Receptor 5a a serotonina 5 A (Htr5a)		NM_013148
Transporte vesicular de GABA familia 32 miembro 1 (Slc32a1)	Membrana	NM_031782
Transporte de glicina, familia 6, miembro 5 (Slc6a5)	Membrana	L21672
Receptor colinérgico, nicotina, polipéptido delta (Chrnd)	Membrana plasmática	NM_019298
Receptor colinérgico, nicotina, alfa polipéptido 9 (Chrna9)	Membrana	NM_022930
Receptor 3a a serotonina 3a (Htr3a)	Membrana	NM_024394
Neuroligina 2 (Nlgn2)		U41662
Prokineticina 2 (Prok2)	Espacio extracelular	NM_138852
Receptor purinérgico P2Y, acoplado a proteína G, 14 (P2ry14)	Membrana	U76206
Receptor 7 a serotonina (Htr7)	Membrana	NM_022938
Galanina (Gal)	Espacio extracelular	J03624
Receptor a somatostatina 2 (Sstr2)	Membrana	NM_019348
Receptor adrenérgico, alfa 1a (Adra1a)	Membrana	NM_017191

Involucrados con Receptores Ionotrópicos		
Gen	Localización	Gene Bank
Receptor ionotrópico a glutamato, N-metil D-aspartato 2B (Grin2b)		NM_012574
Receptor ionotrópico a glutamato delta 2 (Grid2)		NM_024379
Canal de voltaje para potasio, miembro 3 (Kcnd3)		NM_031739
Intercambiador sodio/hidrógeno (Slc9a2)	Membrana	NM_012653
Transportador acoplado a protones con ión metálico divalente (Slc11a2)	Membrana plasmática	NM_013173
Canal intracelular a cloruro 5 (Clic5)	Membrana	AF323174
Canal de voltaje para sodio, tipo XI, alfa (Scn11a)	Membrana	NM_019265
Canal de voltaje para potasio, miembro 3 (Kcne3)		NM_022235
Intercambiador sodio/potasio/calcio (Slc24a2)	Membrana plasmática	AF021923
Involucrados con Hormonas esteroides		
Gen	Localización	Gene Bank
Hidroxiesteroide (17-beta) dihidrogenasa 2 (Hsd17b2)	Citosol y mitocondria	NM_024391
Involucrados con Hormonas		
Gen	Localización	Gene Bank
Polipéptido pancreático (Ppy)	E. extracelular	NM_012626
Tipo-insulina 6 (Insl6)		NM_022583
Proteína tipo Prolactina L	E. extracelular	AB022883

Proteína tipo prolactina 1 (Prlpi)	E. extracelular	NM_031316
Relacionado a la proteína tipo prolactina C (LOC286889)	Espacio extracelular	U09099
Oxitocina (Oxt)	E. extracelular	NM_012996
Alfa-fetoproteína (Afp)	E. extracelular	V01222
Péptido tipo hormona paratiroidea (Pthlh)	E. extracelular, citoplasma y núcleo	NM_012636
Receptor a prostaglandina F (Ptgfr)		NM_013115
Hormona estimulante a la tiroides, subunidad beta (Tshb)	Espacio extracelular	NM_013116

Tabla 1. Comparación de la expresión génica entre ratas sexualmente expertas y saciadas. Los genes presentan un valor mayor a 1.5 en relación con los niveles de expresión diferencial. GeneBank es una base de datos de las secuencias genéticas, que por medio de su clasificación alfanumérica, facilita el acceso a la información sin utilizar la nomenclatura clásica.

Genes que disminuyen su expresión		
Involucrados con Receptores Metabotrópicos		
Gen	Localización	Gene Bank
Proteína rica en cisteína y glicina 1 (Csrp1)	Núcleo	NM_017148
Sinaptotagmina IX (Syt9)	Membrana y vesícula sináptica	AF375461
Adrenomedulina (Adm)	Espacio extracelular	NM_012715
Triptofano 2,3-dioxigenasa (Tdo2)		NM_022403
Receptor a GABA, gamma 1 (Gabrg1)	Membrana	X57514
Dominio de familia que contiene Sec1 (Scfd1)	Citoplasma	NM_019364
Receptor acoplada a proteína G asociada a la clasificación de proteína 1 (Gprasp1)		NM_134386
Dopa descarboxilasa (Ddc)	Intracelular	NM_012545
Regulador 7 de señalización de proteína G (Rgs7)	Citoplasma	NM_019343
Receptor al factor de crecimiento opioide (Ogfr)		AF156878
Proteína de unión a GTP 2 relacionada con rad y gem (Rem2)	Membrana	NM_022685
Receptor metabotrópico a glutamato 5 (Grm5)	Membrana	NM_017012
Receptor a adenosina A1 (Adora1)	Membrana	NM_017155

Unión de la proteína para la liberación de la hormona corticotropina (Crhbp)	Citosol	NM_139183
Receptor 1a a serotonina (Htr1a)	Membrana	NM_012585
Receptor colinérgico a nicotina, polipéptido alfa 10 (Chrna10)	Membrana	NM_022639
Sinaptotagmina III (Syt3)	Membrana y mitocondria	NM_019122
Receptor adrenérgico beta 1 (Adrb1)	Membrana	NM_012701
Receptor acoplado a proteína G 149 (Gpr149)		AY030276
Sinaptotagmina XI (Syt11)	Membrana	NM_031667
Acarreador de soluto de la familia 18 (acetilcolina vesicular), miembro 3 (Slc18a3)		NM_031663
Involucrados con Receptores Ionotrópicos		
Gen	Localización	Gene Bank
Receptor ionotrópico a glutamato, N-metil-D-aspartato 3 ^a (Grin3a)		NM_021701
Transportador de cationes orgánicos (Slc22a5)	Membrana y mitocondria	NM_019269
Canal activado por calcio de larga conductancia para el potasio, subfamilia M, alfa miembro 1 (Kcnma1)	Membrana plasmática	NM_031828
Canal catiónico 3 sensible a amilorida (Accn3)	Membrana plasmática	AF013598
Receptor a cationes de canal transitorio de potencial, subfamilia V, miembro 5 (Trpv5)	Membrana plasmática	AB032019

Canal aniónico dependiente de voltaje 1 (Vdac1)	E. extracelular, membrana y mitocondria	NM_031353
Proteincinasa dependiente a calcio/calmodulina II, alfa (Camk2a)		NM_012920
Canal a potasio, subfamilia K, miembro 12 (Kcnk12)	Membrana	NM_022292
Acarreador de soluto de la familia 9 (intercambiador sodio/hidrógeno), miembro 3 (Slc9a3)	Membrana	NM_012654
Canal de voltaje que interactúa con la proteína 2 (Kcnip2)		NM_020095
Involucrados con Hormonas Esteroides		
Gen	Localización	Gene Bank
Sulfotransferasa de la familia 2a, dihidroepiandrosterona (DHEA), miembro 1 (Sult2a1)		D14989
Involucrados con Hormonas		
Gen	Localización	Gene Bank
Tiroglobulina (Tg)	Espacio extracelular	NM_030988
Parecido al receptor a feromonas (Go-VN1) (LOC286915)	Membrana	AF016178
Hormona somatomamotropina corionica 1 (Csh1)	Región extracelular	NM_017363
Liberador de la hormona tirotrópina (Trh)	Región extracelular	NM_013046

Proteína de unión liberadora de la hormona corticotropina (Crhbp)	Citosol	NM_139183
---	---------	-----------

Tabla 2. Comparación de la expresión génica entre ratas sexualmente expertas y saciadas. Los genes presentan un valor menor a - 1.5 en relación con los niveles de expresión diferencial. GeneBank es una base de datos de las secuencias genéticas, que por medio de su clasificación alfanumérica, facilita el acceso a la información sin utilizar la nomenclatura clásica.

El otro paquete informático, Babelomics-fatiGO (<http://babelomics.bioinfo.cipf.es/>), es un conjunto de herramientas para el análisis de grupos de genes, ofrece información de varias bases de datos (Interpro motifs, KEGG, Swiss-Prot keywords, Gene Ontology, etc.) para analizar, diferenciar y agrupar la expresión génica y la proteómica, ofreciendo un resultado semi-cuantitativo de los niveles de expresión diferencial del grupo o grupos de genes, en nuestro caso, encontrados por medio de la técnica de microarreglos. A grandes rasgos, lo que el programa hace es separar los genes en dos categorías: procesos biológicos y función molecular. Los procesos biológicos involucran una ruta en la cual los genes transcritos (la proteína como tal) pueden estar siendo utilizados y la función molecular implica de qué manera actúan las proteínas sintetizadas a partir de los genes que fueron transcritos. Así mismo, cada categoría posee niveles, que mientras más elevado sea, más refinado será el proceso o la función. Esta clasificación se aplica de igual manera para los genes que elevan su expresión, como para los que la disminuyen.















DB	Gene List	
GO biological process at level 3	180 / 320	 56.25%
GO biological process at level 4	174 / 320	 54.37%
GO biological process at level 5	170 / 320	 53.12%
GO biological process at level 6	151 / 320	 47.19%
GO biological process at level 7	119 / 320	 37.19%
GO biological process at level 8	103 / 320	 32.19%
GO biological process at level 9	49 / 320	 15.31%
GO molecular function at level 3	190 / 320	 59.38%
GO molecular function at level 4	166 / 320	 51.88%
GO molecular function at level 5	148 / 320	 46.25%
GO molecular function at level 6	105 / 320	 32.81%
GO molecular function at level 7	55 / 320	 17.19%
GO molecular function at level 8	26 / 320	 8.12%
GO molecular function at level 9	19 / 320	 5.94%

Figura 12. Representación del análisis del programa Babelomics fatiGO de los resultados obtenidos por la técnica de microarreglos para los genes que presentaron un valor mayor a 1.5 en los niveles de expresión diferencial. La primera columna indica en que categoría se clasifica el grupo de genes; la segunda, la cantidad de genes que cumplen con la categoría, y la tercera indica el porcentaje de manera gráfica y numérica.

Una vez hecha esta división, cada categoría incluyendo su nivel, se seleccionan grupos de genes que se puedan reunir por su naturaleza. Por ejemplo, en el caso de los procesos biológicos, que pertenezcan a una ruta metabólica y en el caso de la función molecular, que sean enzimas que hidrolizan.

GO biological process at level 3			
Term	Genes	N ^o of genes	Percentage
cellular metabolic process (GO:0044237)	NM_012982,NM_019257,NM_017088,NM_01...	84	46.67%
primary metabolic process (GO:0044238)	NM_012982,NM_019257,NM_017088,NM_01...	83	46.11%
macromolecule metabolic process (GO:0043170)	NM_017088,NM_012870,AF304384,AF2450...	73	40.56%
regulation of biological process (GO:0050789)	AJ133104,X89982,NM_022896,NM_017250...	56	31.11%
cell communication (GO:0007154)	NM_018993,NM_031613,NM_017255,AF245...	49	27.22%
establishment of localization (GO:0051234)	NM_012574,AY004254,AF323174,NM_0243...	45	25.0%
multicellular organismal development (GO:0007275)	J03624,U00620,NM_023023,NM_022689,N...	30	16.67%
cellular component organization and biogenesis (GO:0016043)	NM_022874,Z48939,AY049038,AY028512...	28	15.56%
anatomical structure development (GO:0048856)	NM_022889,NM_013122,NM_012550,L4859...	27	15.0%
cellular developmental process (GO:0048869)	NM_012550,L48593,NM_031534,NM_02287...	25	13.89%
regulation of biological quality (GO:0065008)	AF367467,NM_012996,NM_013122,NM_012...	14	7.78%
biosynthetic process (GO:0009058)	AF244973,NM_017150,NM_012813,AF0314...	14	7.78%
neurological process (GO:0050877)	M33298,NM_017088,NM_131914,NM_03161...	14	7.78%
response to stress (GO:0006950)	NM_024138,NM_017143,NM_024148,V0122...	12	6.67%
catabolic process (GO:0009056)	X52783,NM_080905,NM_022387,X55995,N...	11	6.11%
cell adhesion (GO:0007155)	AF288593,U41862,U61281,NM_031708,NM...	10	5.56%

Figura 13. Representación del análisis del programa Babelomics fatiGO de los resultados obtenidos por la técnica de microarreglos para los genes que presentaron un valor mayor a 1.5 en los niveles de expresión diferencial. La tabla presenta la categoría de proceso biológico nivel tres, la primera columna es la naturaleza a la que se asocia el grupo de genes. La segunda columna es la lista de genes que se incluyeron en este conjunto. La tercera columna indica el número de genes que conforma el conjunto. La cuarta columna indica el porcentaje de manera gráfica y numérica de los genes implicados en este conjunto, y el número total de genes dentro de esa categoría

Cabe hacer notar que los grupos no son autoexcluyentes, es decir, que un transcrito puede estar involucrado tanto en un proceso biológico, con su respectiva función molecular. A su vez, dentro de la misma categoría puede desempeñar un papel en varias clasificaciones de manera vertical y horizontal, esto es, que puede participar dentro del mismo nivel en varias denominaciones, así también como participando en varios niveles. A continuación se muestra un extracto del este análisis.

Genes que aumentaron su transcripción en más de 1.5	
Proceso biológico	
Nivel 3	
Término	Porcentaje
Proceso metabólico celular	46,67%
Proceso metabólico primario	46,11%
Proceso metabólico de macromoléculas	40,56%
Proceso de regulación biológico	31,11%
Comunicación celular	27,22%
Proceso neurológico	7,78%
Conducta	3,89%
Reproducción sexual	2,78%
Proceso reproductivo	2,78%
Proceso endócrino	0,56%
Nivel 6	
Término	Porcentaje
Regulación del proceso metabólico de bases nitrogenadas, nucleósidos, nucleótidos y ácidos nucleicos	17,22%
Proceso biosintético de ARN	16,56%
Vía de señalización de proteína G acoplada a receptor de proteína	11,26%
Modificación de proteínas	9,27%
Proteólisis	9,27%
Transporte de cationes	7,95%
Neurogénesis	1,99%
Transporte vesicular sináptico	1,32%
Proceso metabólico de esteroides	1,32%

Nivel 9	
Término	Porcentaje
Regulación de apoptosis	14,29%
Angiogénesis	8,16%
Regulación negativa de la muerte celular programada	8,16%
Secreción de neurotransmisores	6,12%
Regulación positiva de la transcripción dependiente de ADN	4,08%
Regulación de la plasticidad neuronal sináptica	2,04%

Tabla 3. Fracción de los resultados obtenidos por medio del análisis con Babelomics fatiGO de los genes que aumentaban en un valor mayor a 1.5 en relación con los niveles de expresión diferencial, y se les clasifica dentro de la categoría de proceso biológico. Cada categoría se divide en varios niveles: 3, 6, y 9. Cada nivel posee varias denominaciones en las cuales se agrupan varios genes. La columna de la derecha indica el porcentaje de genes que se agrupan por cada denominación. Un gen puede estar participando en varias categorías, en varios niveles y en varias denominaciones

De esta manera vemos, por ejemplo, que en los procesos biológicos que aumentan su expresión de manera más evidente, no es el relacionado con los aspectos de la conducta sexual, ni los procesos reproductivos, sino los procesos metabólicos celulares y la comunicación celular. Vemos el aumento en el metabolismo de las bases nitrogenadas, la biosíntesis de ARN, y en menor proporción la neurogénesis, y el transporte vesicular sináptico. Finalmente, se observa que la mayoría de los procesos biológicos están enfocados a la regulación de la apoptosis, a la formación de nuevos vasos sanguíneos, a la comunicación por medio de neurotransmisores y a la transcripción de ADN.

Genes que aumentaron su transcripción en más de 1.5	
Función Molecular	
Nivel 3	
Término	Porcentaje
Unión de proteínas	45,79%
Unión a ión	24,21%
Unión a ácido nucleico	18,42%
Actividad de hidrolasa	16,32%
Unión a nucleótido	14,21%
Actividad de receptor	13,68%
Unión a neurotransmisor	2,63%
Actividad de transportador de neurotransmisor	1,58%
Actividad de activador transcripcional	0,53%
Actividad de represor transcripcional	0,53%
Unión a esteroides	0,53%
Nivel 6	
Término	Porcentaje
Unión a ATP	18,10%
Unión al ión zinc	15,24%
Actividad del receptor tipo rodopsina	10,48%
Unión al ión sodio	4,76%
Unión al ión hierro	3,81%
Unión al ión potasio	2,86%
Unión al ión cobre	2,86%
Actividad de receptor ionotrópico a glutamato	1,90%
Unión al receptor nuclear hormonal	0,95%
Actividad de transportador del ión calcio	0,95%

Nivel 9	
Término	Porcentaje
Acoplado a actividad ATPasa	26,32%
Actividad simportadora de aminoácido-hidrógeno	10,53%
Actividad simportadora de sodio-hidrógeno	10,53%
Actividad antiportadora de sodio-hidrógeno	5,26%
Actividad antiportadora soluto-hidrógeno	5,26%

Tabla 4. Fracción de los resultados obtenidos por medio del análisis con Babelomics fatiGO de los genes que aumentaban en un valor mayor a 1.5 en relación con los niveles de expresión diferencial, y se les clasifica dentro de la categoría de función molecular. Cada categoría se divide en varios niveles: 3, 6, y 9. Cada nivel posee varias denominaciones en las cuales se agrupan varios genes. La columna de la derecha indica el porcentaje de genes que se agrupan por cada denominación. Un gen puede estar participando en varias categorías, en varios niveles y en varias denominaciones

En cuanto a la función molecular, resalta la importancia del metabolismo celular, ya que, la mayoría de los genes en esta categoría, se clasifican dentro de la unión de proteínas, además de existir la presencia de la función de hidrolasa no específica. Aparece nuevamente la transcripción al mencionar la unión de nucleótidos y de ácidos nucleicos, así como la regulación de la misma por medio la presencia del activador/represor transcripcional. Existe la actividad mediada por los receptores, pero siendo en su mayoría por medio de neurotransmisores, no por esteroides. Se ve la importancia de los iones dada la cantidad de genes involucrados en su unión. Cabe hacer notar que los genes enlistados involucrados en la unión a iones, son diferentes para cada denominación.

Genes que disminuyeron su transcripción en más de -1.5	
Proceso biológico	
Nivel 3	
Término	Porcentaje
Proceso metabólico celular	56,36%
Regulación de procesos biológicos	35,76%
Procesos biosintéticos	10,91%
Respuesta al estrés	10,30%
Procesos neurológicos	4,24%
Procesos catabólicos	3,03%
Conducta	1,82%
Reproducción sexual	0,61%
Proceso reproductivo	0,61%
Nivel 6	
Término	Porcentaje
Regulación del proceso metabólico bases nitrogenadas, nucleósidos, nucleótidos y ácidos nucleicos	21,01%
Modificación de proteínas	13,04%
Neurogénesis	4,35%
Transmisión sináptica	3,62%
Replicación de ADN	2,90%
Procesamiento de ARN	2,17%
Desarrollo del sistema nervioso central	2,17%
Nivel 9	
Término	Porcentaje
Regulación de la transcripción para el promotor de la RNA polimerasa II	17,54%

Regulación positiva de la transcripción dependiente de DNA	15,79%
Regulación negativa de la transcripción dependiente de DNA	12,28%
Regulación positiva para la muerte celular programada	7,02%
Desarrollo neuronal	3,51%
Secreción de neurotransmisores	3,51%
Transporte a glutamato	1,75%
Proceso metabólico de dopamina	1,75%

Tabla 5. Fracción de los resultados obtenidos por medio del análisis con Babelomics fatiGO de los genes que disminuyeron en un valor mayor a -1.5 en relación con los niveles de expresión diferencial, y se les clasifica en la categoría de proceso biológico. Cada categoría se divide en varios niveles: 3, 6, y 9. Cada nivel posee varias denominaciones en las cuales se agrupan varios genes. La columna de la derecha indica el porcentaje de genes que se agrupan por cada denominación. Un gen puede estar participando en varias categorías, en varios niveles y en varias denominaciones

De los genes que disminuyen su expresión en cuanto al proceso biológico, vemos nuevamente que la gran mayoría de los genes que varían su expresión, no pertenecen al proceso reproductivo, sino al "proceso metabólico celular". Esto nos indica el gran cambio que se presenta en las neuronas en el mPOA a causa de la saciedad sexual, y que este proceso no se ve restringido a un solo proceso biológico, ni mucho menos a una enzima. Disminuyen a su vez la regulación de procesos biológicos, como la replicación del ADN, el procesamiento del ARN, la regulación de las bases nitrogenadas y la regulación de la transcripción. También se disminuye el transporte de glutamato y el metabolismo de la dopamina.

Genes que disminuyeron su transcripción en más de -1.5	
Función molecular	
Nivel 3	
Término	Porcentaje
Unión a proteínas	46,41%
Unión a iones	27,62%
Actividad de receptor	12,71%
Actividad de transporte de iones	6,08%
Actividad de represor transcripcional	1,66%
Unión a neurotransmisores	1,10%
Unión a hormonas	0,55%
Actividad transportadora de neurotransmisores	0,55%
Unión a esteroides	0,55%
Nivel 6	
Término	Porcentaje
Unión a ATP	23,68%
Unión al ion de Zinc	15,79%
Unión al ion de hierro	7,89%
Receptor metabotrópico a glutamato, con actividad tipo GABA-B	1,75%
Unión a ion sodio	1,75%
Unión al ion potasio	1,75%
Actividad de Receptor a GABA-A	0,88%

Nivel 9	
Término	Porcentaje
Actividad acoplada a ATPasa	41,67%
Actividad MAP cinasa	16,67%
Actividad del receptor a prostaglandinas	8,33%

Tabla 6. Fracción de los resultados obtenidos por medio del análisis con Babelomics fatiGO de los genes que disminuyeron en un valor mayor a -1.5 en relación con los niveles de expresión diferencial, y se les clasifica en la categoría de función molecular. Cada categoría se divide en varios niveles: 3, 6, y 9. Cada nivel posee varias denominaciones en las cuales se agrupan varios genes. La columna de la derecha indica el porcentaje de genes que se agrupan por cada denominación. Un gen puede estar participando en varias categorías, en varios niveles y en varias denominaciones

En los genes que disminuyeron en más de -1.5 en cuanto a la función molecular, vemos la liberación de proteínas, hormonas, neurotransmisores, esteroides, y iones como el hierro, el zinc, el sodio y el potasio; disminución en el represor transcripcional y de la actividad de transporte; tanto para los iones como para los neurotransmisores y vemos que el receptor a glutamato que disminuye su actividad es el metabotrópico.

Con estos resultados, vemos que los cambios más significativos no se presentan sobre la expresión de genes involucrados en la conducta sexual, por lo menos no directamente. Sino que, en su mayoría son enfocados al mantenimiento celular, ya sea por medio de metabolismo o trascrición de proteínas no relacionadas con la cópula.

DISCUSIÓN

Aún con las facilidades ofrecidas por estos programas, la información obtenida resulta excesiva. Por esto, optamos por ajustarnos a la bibliografía ya existente en cuanto al tema de saciedad sexual y comprobar si nuestros resultados son compatibles con los resultados ya reportados y así confirmar y proponer posibles vías de regulación. Las alteraciones fisiológicas producidas por el despliegue de la conducta copulatoria en la rata macho, comienzan en el momento en que entra en contacto con la hembra y se presentan los aspectos motivacionales. En presencia de una hembra receptiva, la primera respuesta biológica del macho consiste en la percepción sensorial (olfativa, visual y auditiva) de estímulos provenientes de la hembra. Posteriormente ocurre un aumento en la liberación de hormonas gonadales masculinas (Hull y Domínguez, 2006). Asociado a estas respuestas los niveles extracelulares de dopamina en el mPOA aumentan, y esta concentración se mantiene elevada durante la cópula (Hull y cols., 1995). Se ha demostrado que la testosterona participa en la liberación de dopamina en el mPOA, así como en el desarrollo de la cópula (Putman y cols., 2001), ya que en ratas castradas, no solamente se pierde la respuesta conductual en presencia de la hembra, sino que también disminuyen las concentraciones de dopamina extracelular, tanto en las condiciones basales como con la presencia de la hembra receptiva (Du y cols. 1998). Este aumento en las concentraciones de hormonas gonadales y de dopamina extracelular, sirven para desinhibir los reflejos genitales y estimular la erección, por medio del sistema parasimpático, y preparar al sujeto para la cópula (Hull y cols., 2006; Peeters y Guiliano, 2008). Sin embargo, la cópula requiere una interacción rápida somato-motora entre los dos individuos, por lo cual, no es suficiente la liberación de hormonas gonadales para el

desarrollo de la cópula. Esta interacción se da inicialmente por la información periférica que llega al cerebro por medio de las neuronas aferentes, que van desde la periferia (Brackett et al., 1998), por la espina dorsal, hasta las áreas somato-sensoriales (Sato y Hull, 2006).

Hull (2004) ha reportado una ruta de activación para la conducta sexual masculina en el mPOA utilizando glutamato. Esta ruta, es activada por información liberada por entradas sensoriales de la amígdala, del núcleo de la base de la estría terminal y del núcleo parafascicular (Sato y Hull, 2006). Todas estas áreas, liberan glutamato sobre el área preóptica medial. El glutamato activa al receptor ionotrópico NMDA, el cual, es el receptor a glutamato más expresado en el mPOA (Brann, 1995). Una vez activado el receptor NMDA, aumenta la concentración intracelular de Ca^{2+} y activa las enzimas fosfoquinasa A (PKA), fosfoquinasa C (PKC) y calmodulina (Park y West, 2009; Domínguez et al., 2007; Garhwaite y cols., 1988). Estas quinasas, especialmente la calmodulina, activan la óxido nítrico sintetasa (Hull y Domínguez, 2006; Park y West, 2009; Bredt y cols., 1992) que se encuentra presente en concentraciones significativas en el mPOA (Bhat et al., 1995), lo que favorece la síntesis del óxido nítrico (NO). El NO, por sus características químicas, se difunde tanto dentro de la célula, como en su exterior (Ignarro, 1991), donde realiza las siguientes acciones: 1) la inducción de la liberación de la dopamina (Domínguez y cols., 2004; Sato y Hull, 2006), 2) la inhibición de su recaptura (Pechnick y cols., 2005) y 3) la inhibición de la aromatasa (Balthazart y cols., 2002; Snyder y cols., 1996; Sato y cols., 2005).

La dopamina liberada, actúa sobre el receptor $DA_{\text{tipo 1}}$ favoreciendo la cópula, y sobre el receptor $DA_{\text{tipo 2}}$ facilitando la eyaculación (Hull et al., 1992).

En cuanto a la aromatasa, se sabe que las concentraciones séricas de testosterona se incrementan con la cópula (Bonilla-Jaime y cols., 2006). Sin embargo, a diferentes intervalos después de la saciedad sexual los valores séricos de testosterona y estradiol no varían significativamente entre el macho sexualmente experto y el macho sexualmente saciado (Romano-Torres et al., 2007; Phillips-Farfán et al., 2007). A estos intervalos o incluso en animales sexualmente expertos poco se ha estudiado acerca de las concentraciones locales (en áreas muy específicas del SNC) de esteroides durante la cópula. La castración, que provoca la disminución de hormonas gonadales circulantes, provoca la pérdida de la conducta sexual masculina, y disminuye los niveles basales de dopamina en el mPOA (Hull y Domínguez, 2006, Du y cols., 1998). La administración de testosterona (T) permite la recuperación de cópula en machos castrados, acompañada de la respuesta de dopamina y el incremento de NO (Putnam y cols., 2001). La administración de 5α -dihidrotestosterona (DHT, andrógeno no aromatizable) o vehículo en el mPOA no inducen la conducta sexual masculina de manera satisfactoria, sin embargo, la administración de DHT y estradiol, mantiene las concentraciones basales de dopamina y provoca el despliegue de la cópula (Putnam y cols., 2003). Esto evidencia la necesidad de que estén presentes ambas hormonas, estrógenos y andrógenos, para realizar la conducta sexual. Como ya se ha mencionado anteriormente, el 85% del estradiol circulante es producido por la enzima aromatasa de manera local (Snyder, 2001). Además, se ha mostrado que la actividad de la aromatasa, que transforma la T a estradiol, es necesaria para desarrollar la conducta sexual masculina (Beyer y cols., 1976; Lephart, 1996; Handa y cols., 1996; Balthazart y cols., 2004). Por lo tanto, al inhibir esta enzima, se evita la formación de estrógenos de manera local y se inhibe el

despliegue de la cópula (Sato y Hull, 2006). La inhibición de la enzima aromatasa produce un exceso local de andrógenos, que, por la interacción con su receptor, provoca la recompartimentalización del mismo, su traslocación al núcleo y la alteración de la expresión génica y la función celular (Carson-Jurica y cols., 1990; Brinkman, 2001; Zhan et al., 2004). Por la activación del RA y su posterior traslocación, se ve alterada la expresión del RE α , ya que este es regulado de manera directa por el RA: cuando se activa el RA, se expresa el RE α , y cuando se activa el RE α , se expresa el RA (Handa y cols., 1996). Este mecanismo podría explicar porqué desaparece el RA y se sobre expresa el RE α en el mPOA una vez establecida la saciedad (Romano-Torres y cols., 2007). Sumando todo esto, es de suponerse que la inhibición de la aromatasa causada por el NO (Sato y cols., 2005), puede ser un regulador de la actividad sexual que participe en el establecimiento de la inactividad sexual en el intervalo posteyaculatorio, y a la larga contribuya a la inhibición de la cópula que caracteriza a la saciedad sexual.

Este intervalo de inactividad sexual posiblemente es necesario por dos razones: primero debido a la toxicidad por la sobreexposición al glutamato, y segundo, debido al estrés al que es sometida el mPOA al realizar la cópula. El glutamato tiene la cualidad de desempeñar un papel neurocitotóxico a cierta concentración, y a pesar de que el mPOA muestra cierta resistencia, soportando 10 veces las concentraciones que producen un 90 % de pérdida neuronal en la corteza, sigue siendo susceptible a esta toxicidad (Ebling y cols., 1998). Esto puede estar relacionado con los valores de la tabla 3, donde el porcentaje mayor de genes que se expresan en animales sexualmente saciados están incluidos en el proceso biológico de regulación de la apoptosis. Durante el despliegue de la conducta sexual, el mPOA sufre tantos cambios en su plasticidad, que

probablemente requiera de un tiempo relativamente prolongado para recuperar su homeostasis. Esto se ve evidenciado en la conducta de la rata macho en el intervalo post eyaculatorio, donde el sujeto, a pesar de estar frente a una hembra receptiva, no es capaz de reiniciar la cópula de manera inmediata. Además, es posible sugerir que cambios homeostáticos en el mPOA podrían mediar la inhibición de la conducta sexual que caracteriza a la saciedad. Como ya se ha mencionado, después de cierto número de eyaculaciones, 7 en promedio (Fernandez-Guasti y Rodríguez-Manzo, 2003), se presenta la inhibición completa de la conducta sexual por varios días (Rodríguez-Manzo y Fernandez-Guasti, 1994) que podría estar mediado por un punto de no regreso en el metabolismo neuronal. Sin embargo, hay que considerar que es posible revertir la saciedad sexual al presentar a una nueva hembra receptiva, esto se conoce como el efecto Coolidge (Wilson y cols., 1995). Este efecto se observa en ratas macho que han copulado 4 h *ad libitum* y se les cambia la pareja sexual por una nueva hembra receptiva (Wilson y cols., 1995; Rodríguez-Manzo, 1999). Una vez hecho esto, el macho es capaz de desplegar nuevamente la conducta de cópula. Usando el efecto Coolidge, se puede mostrar que el mPOA es funcional, que las vías somato-sensoriales siguen funcionando y que es posible que el individuo responda al estímulo de la hembra receptiva. Este despliegue conductual parecería ser contradictorio con la idea de que la inhibición de la cópula que caracteriza la saciedad está mediada por un proceso homeostático alterado en el mPOA. Esta aparente contradicción puede explicarse de la siguiente manera: al entrar en contacto con la nueva hembra receptiva, el macho, estimulado por los aspectos apetitivos desplegados por la hembra, libera testosterona anticipando la cópula (Bonilla-Jaime y cols., 2006) la que reactiva a la enzima aromatasa (Roselli y Resko, 1997;

Balthazart y cols., 2004). De esta manera, con la aromatasa activada, los andrógenos son metabolizados a estrógenos (Snyder, 2001), que a través de la interacción con el RE α activan la expresión del RA (Handa y cols., 1996). Al estar presentes ambos receptores, el RE α y el RA, en los niveles de expresión adecuados, es posible que la rata macho sexualmente saciada sea capaz de recuperar su capacidad de cópula. En cuanto a la cuestión conductual, es de suponer que la causa del efecto Coolidge, sea el aseguramiento del depósito de espermatozoides en la mayor cantidad de hembras receptivas posibles asegurando la descendencia de sus genes (Huck y cols., 1985). Por otro lado, el efecto Coolidge sólo se presenta en machos recién saciados sexualmente y no 24 h después de la cópula repetida (Rodríguez-Manzo, 1999; Fernández-Guasti y Rodríguez-Manzo, 1994). Este hallazgo invita a comparar la expresión de genes en el mPOA y posiblemente en otras áreas cerebrales de animales recién saciados sexualmente con la de aquéllos que llegaron a la saciedad sexual 24 o 48 h antes del sacrificio.

La serie de resultados obtenidos con la técnica de microarreglos es un ejemplo que sugiere cambios en receptores a neurotransmisores y hormonas, pero marca la importancia de cambios metabólicos fundamentales. La ruta metabólica propuesta por Hull en el 2004 se ha podido complementar, gracias a la información obtenida por esta metodología. En su idea original, Hull establece una serie de eventos que involucran neurotransmisores (dopamina) y esteroides (testosterona) como pasos esenciales en el desarrollo de la conducta sexual, pero no implica nada del mantenimiento celular que necesita la neurona del mPOA para desplegar esta conducta, ni el metabolismo necesario para recuperar la capacidad de cópula. Pensamos que estos aspectos se reflejan en el hecho de que la mayoría de los genes que se expresaron

diferencialmente, entre sujetos sexualmente saciados y sus controles, no están directamente relacionados con la expresión de la conducta sexual, sino con los procesos metabólicos. Los cambios en la expresión génica sugieren el establecimiento de la saciedad a través de un proceso homeostático en el mPOA. Debido a que la prueba conductual exige 90 minutos de inactividad para asegurar la saciedad sexual, los microarreglos no reflejan el cambio de la experiencia a la saciedad, sino que posiblemente, muestran el cambio una vez establecida la saciedad a un macho que comienza a recuperar la capacidad de desplegar la conducta copulatoria.

Otro punto que vale la pena discutir, es el referente a los cambios en los receptores a hormonas esteroides en el mPOA producidos por la saciedad sexual. Estos cambios se han observado por diferentes técnicas: inmunohistoquímica (ver la revisión de Phillips-Farfán y Fernández Guasti, 2009) e hibridación *in situ* (Fernández-Guasti et al., sometido). De manera interesante, por la técnica de microarreglos no se observaron cambios tan drásticos como los encontrados con las técnicas antes mencionadas. Por ejemplo, los cambios en la proteína RA debido al despliegue de la cópula, se han evaluado 24, 48 y 72 h y 7 días después de establecida la saciedad (Phillips-Farfán y Fernández-Guasti, 2009). Al compararlo con machos sexualmente expertos sin copular, se observó una disminución en la densidad del RA a las 24 y 48 h después de la saciedad sexual (Fernández-Guasti et al., 2003; Romano-Torres et al., 2007). Mientras que con la técnica de hibridación *in situ*, se estableció que la disminución máxima en el ARNm que sintetiza para el RA ocurre 24 h después de la saciedad sexual, pero se observa una inhibición inmediata después de la saciedad. En concordancia con los resultados obtenidos con la proteína, 7 días después de la saciedad

sexual los niveles del ARNm para el RA han recuperado los niveles control (Fernández-Guasti y cols, sometido).

En cuanto al RE α , a pesar de no estar tan estudiado el RA, se ha demostrado su importancia en la regulación de la conducta sexual masculina (Hull y Domínguez, 2006). Se ha observado que, 24 h después de la cópula *ad libitum*, los machos sexualmente saciados, comparados con machos sexualmente expertos y los que presentaron una sola eyaculación, presentan mayor densidad del RE α en el mPOA (Phillips-Farfán et al., 2007). Un hallazgo similar se obtuvo cuando se analizó el ARNm que sintetiza para el RE α (Fernández-Guasti y cols, sometido). Sin embargo, estos resultados no fueron tan evidentes en el presente estudio utilizando microarreglos. De acuerdo con esta técnica se estableció que efectivamente existe una variación en la expresión génica del RA y del RE α ; sin embargo, los valores de variación fueron de -0.431 para el RA y 1.0743 para el RE α . A pesar de lo discreto de este cambio, cabe hacer notar que el sentido de cambio, negativo para el ARNm del RA y positivo para el ARNm del RE α , corresponde con los cambios observados utilizando la técnica de hibridación *in situ* y de inmunohistoquímica.

Esto nos invita a realizar un nuevo análisis de los microarreglos utilizando un valor más cercano a cero en la variación de expresión génica, o utilizar otras técnicas, como la RT-PCR, para evaluar la expresión del ARNm para estos dos genes (RA y RE α) a diferentes tiempos después de alcanzar la saciedad sexual.

CONCLUSIONES

- La saciedad sexual en la rata macho es un proceso de larga duración en el que está alterada la expresión del ARNm como consecuencia del despliegue de la conducta sexual masculina.
- Esta alteración de la expresión del ARNm no se limita a los receptores a hormonas esteroides, sino que se ve modificada la expresión del ARNm de otras proteínas.
- Existe una diferencia en la regulación de la expresión del ARNm entre la rata sexualmente experta y sexualmente saciada
- Se involucran el receptor a andrógenos, el receptor a estrógenos alfa, además del receptor ionotrópico a glutamato NMDA, en los cambios en la expresión del ARNm debidos a la saciedad sexual.
- Los hallazgos obtenidos por los microarreglos son congruentes con los resultados de las manipulaciones farmacológicas en el mPOA utilizando los sistemas glutamatérgicos, serotoninérgicos y dopaminérgicos.
- El despliegue de la cópula hasta la saciedad modifica la expresión de diferentes genes posiblemente involucrados en la inhibición de la conducta sexual que la caracteriza.

PERSPECTIVAS

- Nuestro equipo de trabajo ha visto la necesidad de continuar con esta investigación, actualmente se ha iniciado una serie de experimentos para seguir evaluando el cambio en la expresión génica debida al despliegue de la conducta sexual.
- Debido a esto, sería prudente variar la prueba conductual de saciedad sexual, para poder obtener machos sexualmente saciados sin que exista el lapso de hora y media entre la última eyaculación y el sacrificio de los mismos. Dado que la inhibición de la cópula es un proceso en función del tiempo, sería de esperar que también lo sea la regulación de la expresión del ARNm debido a la saciedad sexual.
- Recientemente hemos confirmado las diferencias en la expresión de algunos genes en el mPOA de animales sexualmente expertos y saciados, por la técnica de microarreglos utilizando la técnica de PCR.
- Sumado a lo anterior, deberíamos de utilizar la técnica de microarreglos a diferentes intervalos, proponiendo 24 o 48 h, o hasta 7 o 21 días después de establecida la saciedad, y así asociar el reestablecimiento total o parcial en la capacidad de cópula con la expresión génica.
- También proponemos utilizar la técnica de microarreglos para comparar la expresión génica en el mPOA medial usando machos sexualmente saciados y machos que presenten el efecto Coolidge.
- Sumar pruebas metabólicas para comprobar la activación/inactivación de enzimas fundamentales para la cópula y la saciedad sexual.
- A pesar de las evidencias aquí mostradas, debe de considerarse que el mPOA no es la única estructura involucrada en el fenómeno de saciedad sexual. Por esto, proponemos estudiar otras áreas cerebrales.

ANEXOS

Tabla obtenida del análisis de los microarreglos con un nivel de variación superior a 1.5, utilizando el paquete informático Karma

Id	Símbolo del gen	Función	Componente celular
NM_017238	Vipr2	Receptor intestinal al péptido vasoóctivo 2	Integral a la membrana plasmática
NM_017021	Il9r	Receptor a Interleucina 9	Integral a membrana
NM_024379	Grid2	Receptor a Glutamato ionotrópico, delta 2	
NM_013037	Il1r1	Receptor a Interleucina 1 tipo 1	
BF560218		Locus transcrito, sumamente parecido a XP_218291.3	Núcleo
NM_031151	Mor1	Malato deshidrogenasa mitocondrial	Matriz mitocondrial
U03407	Muc10	Mucina 10	
NM_022861	Unc13a	Proteína Unc-13 (C. elegans)	
NM_019284	Cspg5	Proteoglicanos de condroitín sulfato 5	
BF403302	Nog	Noggin	Espacio extracelular
U32577	Hnrpm	Ribonucleoproteína nuclear heterógena M	Región telomérica del cromosoma
M62891	Klrb1b	Receptor tipo lectina de células asesinas, subfamilia B miembro 1B	Integral a membrana plasmática externa
BM388579		Locus transcrito sumamente parecido a NP_035265.1	Citoplasma y núcleo
NM_031055	Mmp9	Matriz de metalopeptidasa 9	
NM_012682	Ucp1	Proteína de desacoplamiento 1 (acarreador de protones mitocondrial)	Integral a la membrana mitocondrial interna

BG663111		Locus transcrito, sumamente parecido a XP_238166.2	Nucleolo, núcleo y complejo ribonucleoproteína
NM_012982	Msx2	Homólogo a Msh 2 (Drosophila)	Núcleo
NM_017250	Htr2b	Receptor 2B a serotonina	
NM_019177	Sell	Selectina de linfocito	Integral a la parte externa de la membrana plasmática
NM_031575	Akt3	Proto-oncogen 3 a timoma viral	
NM_024391	Hsd17b2	Hidroxi esteroide deshidrogenasa 2	Integral a membrana, citosol y mitocondria
M95762	Slc6a13	Transporte de neurotransmisores, GABA	Integral a membrana plasmática
NM_031739	Kcnd3	Canal de Voltaje de potasio	
NM_012922	Casp3	Caspasa 3	Citosol
NM_013148	Htr5a	Receptor a serotonina 5 ^a	
NM_130421	Lcp2	Proteína citosólica de linfocito 2	
AF021936	Cdc42bp b	Cdc42 Proteína de unión a quinasa beta	
BU671010		PREDICHO: Similar a Oxa1 en Rattus norvegicus (LOC498512)	
AA819151		Locus transcrito, sumamente parecido a XP_341949.2	Complejo de espliceosoma, mitocondria y núcleo
U61261	Lama3	Laminina alfa 3	Membrana, citoplasma, matriz extracelular, citoesqueleto, laminina basal
BG668660	Pou4f1	Dominio POU, clase 4, factor de transcripción 1	Núcleo
D88586	Ear11	Ribonucleasa asociada a eosinófilo, familia A miembro 11	Espacio extracelular

NM_019311	Inpp5d	Inositol polifosfato 5 fosfatasa D	Fracción de membrana
NM_019620	Znf386	Proteína de dedo de Zinc 386 (Tipo Kruppel)	
U83895	Pscd1	Homólogo a pleckstrina	Intracelular
NM_019322	Tpsab1	Triptasa alfa/beta 1	Espacio extracelular
U89743	LOC207125	Proteína desconocida	
NM_022949	Rpl14	Proteína ribosomal L14	
AF015911	Btbd14b	Dominio que contiene BTB (POZ) 14B	
NM_031782	Slc32a1	Transporte vesicular de GABA	Integral a membrana
AB000928	Zp1	Glicoproteína 1 de zona pelucida	
M33296	Cyp2g1	Citocromo P450, subfamilia 2G, polipéptido 1	Integral a membrana y retículo endoplásmico
NM_012550	Ednra	Receptor a endotelina tipo A	Integral al espacio extracelular de la membrana plasmática
NM_012582	Hp	Haptoglobina	Región extracelular
NM_022506	Rpl31	Proteína ribosomal L31	Ribosoma
U93692	Nup88	Nucleoporina 88	
NM_012653	Slc9a2	Intercambiador de sodio/hidrógeno	Integral a membrana plasmática
NM_031766	Cpz	Carboxipeptidasa Z	Espacio extracelular
NM_017063	Kpnb1	Importina beta 1	
U57391	Sh2bpm1	Dominio que contiene el mediador de señalización SH2-B PH	
U34843	D123	Producto del gen D123	

NM_017255	P2ry2	Receptor purinérgico P2Y, acoplado a proteína G	
NM_017084	Gnmt	Glicina N-metiltransferasa	Citosol y núcleo
NM_031627	Nr1h3	Receptor nuclear, subfamilia 1, grupo H, miembro 3	Citoplasma y núcleo
NM_022674	H2afz	Familia de las histonas H2A, miembro Z	Cuerpo de Barr, cromosomas politénicos, complejo histona acetil transferasa, núcleo
NM_024138	Gng7	Proteína de unión a guanina, gama 7	
NM_017061	Lox	Lisil oxidasa	Espacio extracelular
NM_019249	Ptpnf	Proteína tirosín fosfatasa, tipo receptor	Integral a membrana plasmática
NM_031655	Lxn	Latexina	Integral a membrana
M77362	LOC498113	Esta característica similar a la CDS se incluye para mostrar la traducción de la región V correspondiente. En la actualidad clasificación para la traducción de las características de la región V son ilegales	Espacio extracelular
M35602	Fgb	Fibrinógeno, polipéptido beta	Espacio extracelular
NM_013173	Slc11a2	Transporte acoplado a protón y ión metálico divalente	Integral a la membrana del endosoma
A1412964		Locus transcrito, sumamente parecido a XP_233782.3	
X89962	Csdc2	Dominio de shock frío con C2, unión a ARN	
AB029342	Cand2	Posiblemente asociada a culina	
BG666505	Eif4g2	Factor 4 de la iniciación de la translación eucariótico	

BF522647	Osbp12	Proteína de unión a oxisterol tipo 2	
AF245040	Dkk3	Homólogo a Dickkopf 3 (Xenopus laevis)	Espacio extracelular
BI284886	Ctsql2	Catepsina tipo Q	Lisosoma y región extracelular
AJ133104	Vamp2	Proteína de membrana 2 asociada a vesícula	
NM_013156	Ctsl	Catepsina L	Espacio extracelular y lisosoma
NM_017177	Chkb	Colina quinasa beta	
AF031483	Bzw2	Cremallera básica a leucina y dominio W2	
AF220455	Ddx20	DEAD/H (Asp-Glu-Ala-Asp/His) polipéptido de casilla 20, 103kD	Núcleo
AW918775		Locus transcrito sumamente parecido a XP_342100.2	
Y15054	Coro7	Coronina 7	Integral a membrana, citoesqueleto y aparato de Golgi
NM_021837	Mycs	Oncogén tipo Myc	Núcleo y cromatina
AF115768	Defcr4	Defensina relacionada con criptidina 4	Región extracelular
AA964638		DD6A4-2(8) ARNm, Secuencia Parcial	
NM_031630	Ddx25	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) polipéptido de casilla 25	Citoplasma, poro nuclear y núcleo
AY128946	Krt1-9	Complejo de queratina 1, gen 9	Filamento de keratina y núcleo
AF009511	Klrk1	Receptor tipo lectina de células asesinas, subfamilia K, miembro 1	Integral a membrana plasmática

NM_019356	Eif2s1	Factor de iniciación de translación eucariótico 2, subunidad 1 alfa	Polisoma
AJ271158	Usmg5	Factor de crecimiento de músculo esquelético 5	
L08446	Fcgr3	Receptor Fc, IgG, de baja afinidad III	Espacio extracelular e integral a membrana
AF111111	Spag5	Antígeno asociado a esperma 5	Membrana, citoplasma, citoesqueleto
AF244973	Ggtl3	Tipo gama-glutamilttransferasa 3	Integral a membrana y espacio periplásmico
L40364	RT1-Aw2	RT1 clase Ib, locus Aw2	Integral a membrana
AF257746	Abcb1a	Sitio de unión a ATP, subfamilia B (MDR/TAP), miembro 1A	Integral a membrana plasmática
AF123651	Spata2	Asociado a espermatogénesis 2	Citoplasma
AI230991		Locus transcrito, sumamente parecido a XP_573559.1	
AJ007016	Ptp4a2	Proteína tirosín fosfatasa 4 ^a 2	
AW525037		Locus transcrito, sumamente parecido a XP_507812.1	
BI296499		Locus transcrito, sumamente parecido a NP_579930.1	Integral a membrana
AF218826	Gnpat	Gliceonfosfato O-aciltransferasa	Membrana peroxisomal
BF287719	Nr2f2	Receptor nuclear subfamilia 2, grupo F, miembro 2	
AB089316	Osbpl1a	Tipo proteína de unión a oxisterol 1A	
AB022883	Prpl	Proteína tipo prolactina L	Espacio extracelular
AF323174	Clic5	Canal intracelular a cloruro 5	Membrana
BE114116	Prosc	Co transcrito de prolinasintetasa	Citoplasma

AF039584	Daf1	Factor acelerador de decaimiento 1	Espacio extracelular e integral a membrana
BE127852	LOC498225	Similar a ligatina	Membrana
NM_012501	Apoc3	Apolipoproteína C-III	Región extracelular
NM_013160	Mxi1	Proteína de interacción Max 1	Núcleo
NM_031656	Stx8	Syntaxin 8	
NM_021681	Epb4.111	Proteína de eritrocito de banda 4.1	Membrana, citoplasma, y citoesqueleto
AB025581	Anp32b	Fosfoproteína nuclear ácida 32, miembro B	
AF181992	Dync1li1	Dienina citoplasmática 1, cadena intermedia ligera 1	
NM_019387	Hgs	Sustrato de tirosín cinasa regulada por HGF	Endosoma
NM_022799	Nucks	Caseincinasa nuclear	Núcleo
NM_012790 U63111	Dspp	Sialofosfoproteína dentinaria	Espacio extracelular
NM_017143	F10	Factor de coagulación X	Región extracelular
NM_017085	Cyp19a1	Citocromo P450, familia 19, subfamilia a, polipéptido 1	Membrana, retículo endoplásmico y microsoma
AF247450	Hcn1	Canal de potasio de hiperpolarización activado por nucleótidos cíclicos 1	Citoplasma, núcleo y complejo de protein cinasas dependiente de AMPc
BE112403		Locus transcrito sumamente parecido a XP_235164.2	
AI102053		Locus transcrito sumamente parecido a XP_344663.2	Integral a membrana
M61726	Ubtf	Factor de transcripción, ARN polimerasa 1	Subunidad citosólica ribosomal pequeña, cromosoma, mitocondria y cromatina

NM_012783	Bsg	Basigina	Espacio extracelular e integral a membrana
X97477		Proteína NKR-P1B	Integral a membrana
BF555199		Locus transcrito sumamente parecido a XP_215658.3	
NM_031136	Tmsb4x	Timosina, beta 4	
AF304364	Keap1	Proteínas de unión ECH tipo Kelch	Citoesqueleto
AF094821	Mbtps1	Peptidasa de factor de transcripción unido a membrana, sitio 1	Espacio extracelular, membrana y retículo endoplásmico
NM_144744	Adipoq	Adiponectina, C1Q	Espacio extracelular, citoplasma y retículo endoplásmico
X78689	Epha5	EphA5	Integral a membrana
AF026505	Argbp2	Proteína de interacción ArgBP2	Citoplasma y núcleo
NM_022387	Pafah1b2	Factor activador de plaquetas acetilhidrolasa, isoforma 1b, alfa 2	Citoplasma
NM_031572	Cyp2c40	Citocromo P450, familia 2, subfamilia c, polipéptido 40	Espacio extracelular, integral a membrana, microsoma y retículo endoplásmico
X74125	Idh3g	Isocitrato deshidrogenasa 3 (NAD), gama	Mitocondria
X77953	Rps15a	Proteína ribosomal S15a	Ribosoma y complejo de ribonucleoproteína
NM_031978	Psmd1	Proteosoma 26S subunidad 26S	Proteosoma y citosol
NM_012620	Serpine1	Peptidasa inhibidora de serina (o cisteína)miembro 1	
AB009372	LOC246266	Lisofosfolipasa	
NM_032070	Hmga2	Grupo de alta movilidad de hook 2	Núcleo y cromatina

NM_022957	Serpina5	Peptidasa inhibidora de serina (o cisteína) miembro 5	Espacio extracelular y membrana
NM_019265	Scn11a	Canal de voltaje de sodio, tipo XI, alfa	Integral a membrana plasmática
NM_019332	Padi1	Deiminasa de arginina, tipo I	
AJ011035	Plcb2	Fosfolipasa C, beta 2	Núcleo
NM_031680	P2ry4	Receptor pirimidérgico P2Y, acoplado a proteína G, 4	Integral a membrana plasmática
NM_031817	Omd	Osteomodulina	Integral a membrana
AF361476	Cited2	Transactivador que interacciona con Cbp/p300	Núcleo
NM_017313	Rab3ip	Proteína de interacción RAB3A	
AF022247	Cubn	Cubilina	
X70369	Col3a1	Procolágeno, tipo III, alfa 1	Espacio extracelular, membrana y citoplasma
NM_031316	Prloi	Proteína tipo prolactina 1	Espacio extracelular
A1230682	Prpf4b	PRP4 factor de pre procesamiento del ARNm 4 homólogo B	
Y12178	Cp	Ceruloplasmina	Espacio extracelular
X56190	Apoc4	Apolipoproteína C-IV	Espacio extracelular
NM_012891	Acadvl	Acil coenzima A deshidrogenasa	Mitocondria
U25746	Ddx46	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) caja de polipéptidos 46	
M19262	Cltb	Clatrina	Vesículas
L21672	Slc6a5	Neurotransmisor de glicina	Integral a membrana plasmática
BM986293	Eif3s7	Factor de iniciación de translación eucariótico 3, subunidad 7	
BF543467	Smtnl1_	"Smoothelin-like" 1 (predicho)	

AY026512	Dncl2a	Dienina citoplasmática, cadena ligera 2A	
AY057076	Snd1	Dominio que contiene nucleasa estafilococsica	
NM_012556	Fabp1	Proteína de unión a ácido graso 1	Citoplasma
X55995	Dmgdh	Precursor a dimetilglicina deshidrogenasa	Citoplasma y mitocondria
U20525	Tpt1	Proteína de tumor	Espacio extracelular, citoplasma y tubulina
AF304429	Brp44l	Proteína cerebral tipo 44	Mitocondria
D26178	Ick	Cinasa de célula intestinal	
U09099	LOC286889	Proteína tipo proláctica C	Espacio extracelular
NM_145673	Mafk	Proteína oncogénica V-maf, fibrosarcoma músculo aponeurótico, proteína K	Núcleo y cromatina
AF372501	Bik	Interactuador asesino Bcl2	
U77880	Pde7a	Fosfodiesterasa 7 ^a	Espacio extracelular
M86870	Pdia4	Protein disulfuro isomerasa 4	Retículo endoplásmico
BG664103	Cops3	COP9 (constitutivo fotomorfogénico) subunidad 3	Proteosoma y citosol
NM_017150	Rpl29	Proteína ribosomal L29	Ribosoma
BU671289	LOC500855	Proteína hipotética LOC500855	
NM_022696	Hand2	Crestas derivadas de la expresión de transcrito 2 de corazón y neurona	Núcleo
AF364071	Smpx	Proteína de músculo pequeña, ligada al cromosoma X	

NM_019298	Chrnd	Receptor colinérgico a nicotina	Integral a membrana, membrana post-sináptica y aparato de Golgi
AF367467	Ratsg2	Ratsg2	
NM_021682	Negr1	Regulador de crecimiento neuronal 1	Espacio extracelular y membrana
NM_022944	Inpp1	Inositol polifosfato fosfatasa tipo 1	
S75437		Similar a TRGV9	Integral a membrana
U00620	Csf2	Factor 2 estimulador de colonias de granulocitos-macrófagos	Espacio extracelular
NM_017086	Egr3	Respuesta temprana de crecimiento 3	Núcleo
NM_024381	Gyk	Glicerol cinasa	Citoplasma y mitocondria
U51898	Pla2g6	Fosfolipasa A2, grupo VI	
NM_022235	Kcne3	Canal de voltaje de potasio, miembro 3	
BF549625		Locus transcrito sumamente parecido a XP_238256.3	Espacio extracelular
NM_023023	Dpysl5	Tipo dihidropirimidina 5	
NM_021770	Olig1	Factor de transcripción de oligodendrocitos 1	Núcleo
NM_022669	Scg2	Secretogranina 2	Espacio extracelular
AF348446	Fgf12	Factor 12 de crecimiento de fibroblastos	Espacio extracelular y núcleo
BF563205	RGD156 4996_predicted	Similar al receptor del factor de necrosis tumoral, miembro 19	
U14192	Vdp	Proteína de acoplamiento de vesícula	Membrana, citoplasma, citoesqueleto y membrana de Golgi

BF564263	Cdv1	Gen 1 asociado a la deficiencia de carnitina, expresado en ventrículo	Membrana, citoplasma y citoesqueleto
BG375928	Nasp	Proteína nuclear de esperma autogénicas	
NM_022583	Insl6	Tipo insulina 6	
NM_019204	Bace1	APP-beta, sitio de corte de la enzima1	Integral a membrana plasmática, endosoma, mitocondria, axón, vacuola y aparato de Golgi
NM_012996	Oxt	Oxytocina	Región extracelular
AF353305	Cbwd1	Dominio 1 que contiene COBW	Citoplasma
BF566173	Theg	Gen haploide testicular expresado	
BF287132		Locus transcrito sumamente parecido a NP_001005370.1	Componente celular desconocido y núcleo
AF092090	Pmfbp1	Factor 1 modulador de poliaminas, proteína de unión 1	Membrana, citoplasma y citoesqueleto
AB066103	Xrcc5	Complemento de reparación defectuosa por rayos X en hamster Chino, células 5	
NM_152849	Homez	Cremallera de homeodominio del gen codificante a leucina	
NM_013016	Ptpns1	Protein tirosin fosfatasa, tipo no receptor, substrato 1	
NM_012848	Fth1	Ferritina, polipeptido pesado 1	Membrana plasmática y complejo de ferritina
NM_019257	Sfrs5	Factor 5 de empalme, rico en arginina/serina	Núcleo
NM_022930	Chrna9	Receptor colinérgico, nicotínico, alfa polipeptido 9	Espacio extracelular, integral a membrana y membrana post-sináptica

AF268593	Itgam	Integrina alfa M	Fibra contractil, parte exterior de la membrana plasmática, complejo de integrina y núcleo
BE110636		Locus transcrito, sumamente parecido a XP_227230.2	Citoplasma, centrosoma y núcleo
AF000578	Cdc5l	Ciclo de división celular, tipo 5	Núcleo
NM_024394	Htr3a	Receptor a serotonina 3ª	Integral a membrana plasmática y membrana post-sináptica
U41662	Nlgn2	Neuroligina 2	
BF522850	Nfx1	Factor nuclear de transcripción 1	Núcleo
NM_024148	Apex1	Endonucleasa 1apurínica/apirimidínica	Retículo endoplásmico, citoplasma, ribosoma y núcleo
X52783	Psmb1	Proteosoma subunidad beta, tipo 1	Complejo de proteosoma y citosol
BF399588	Spnb4	Espectrina beta 4	Membrana, citoplasma, citoesqueleto y núcleo
NM_033021	Sec31l1	Tipo SEC31 1	Núcleo
NM_022605	Hpse	Heparanasa	
NM_144562	Fmo4	Flavina que contiene monooxigenasa 4	Espacio extracelular, membrana, retículo endoplásmico
AI136886		Locus transcrito, sumamente parecido a XP_341952.2	Núcleo
NM_023961	Fgf20	Factor 20 de crecimiento de fibroblastos	
NM_023987	Birc3	Contenido repetido de IAP baculoviral 3	Intracelular
NM_030840	Slc26a5	Acarreador de soluto, familia 26, miembro 5	Integral a membrana plasmática
AF277900	Zfp597	Proteína de dedo de Zinc 597	

NM_012823	Anxa3	Anexina A3	
AF230367	Gab2	Proteína 2 del receptor de unión al factor de crecimiento	
NM_013122	Igfbp2	Proteína 2 de unión al factor de crecimiento tipo insulina	Espacio extracelular
NM_012670	Tcp1	Proteína 1 del complejo T	
NM_080905	Siah1a	"Seven in absentia" 1A	Núcleo
NM_031613	Tmod2	Tropomodulina 2	
AF021923	Slc24a2	Intercambiador de sodio/potasio/calcio	Integral a membrana plasmática
NM_130415	Slc36a1	Simportador protón/aminoácido	Integral a membrana y vacuola
A1598642		Locus transcrito, sumamente parecido a XP_342529.1	Núcleo y complejo de ribonucleoproteína
NM_012974	Lamb2	Laminina, beta 2	Membrana
NM_138890	Ehd3	Dominio 3 que contiene EH	
NM_131914	Cav2	Caveolina 2	Integral a membrana
NM_138852	Prok2	Prokineticina 2	Espacio extracelular
M15114	Scd2	Esteroil-coenzima A desaturasa 2	Integral a membrana y retículo endoplásmico
D50580	Ces5	Carboxylesterasa 5	Retículo endoplásmico
AB012233	Nfic	Factor nuclear I/C	Núcleo
AF375874	Trpm7	Proteína relacionada al receptor de potencial transitorio, ChaK	
U76206	P2ry14	Receptor purinérgico P2Y, acoplado a proteína G, 14	Integral a membrana
NM_022938	Htr7	Receptor a serotonina 7	Integral a membrana
NM_012615	Odc1	Ornitina descarboxilasa 1	Citoplasma
NM_017224	Slc22a6	Transporte de anión orgánico	Integral a membrana y mitocondria

AW918457	LOC302640	Similar a acil-CoA tioesterasa	Mitocondria
NM_152861	Rbm10	Motivo 10 de unión de proteínas a ARN	Intracelular y núcleo
NM_022394	Safb	"Scaffold attachment" factor B	
NM_017092	Tyro3	TYRO3 proteintirosin cinasa 3	Espacio extracelular e integral a membrana plasmática
AB032419	Egr2	Respuesta temprana de crecimiento 2	Intracelular y núcleo
M97380	Slc18a1	Transporte de monoaminas vesiculares	Integral a membrana
J03624	Gal	Galanina	Espacio extracelular
AW914284		Locus transcrito, sumamente parecido a XP_222946.2	Citoplasma
U23377	Xcl1	Quimiocina (motivo C) ligando 1	Espacio extracelular
NM_012713	Prkcb1	Proteincinasa C, beta 1	Citoplasma, citoesqueleto y núcleo
BF398376		Locus transcrito, sumamente parecido a LOC297626	Núcleo
V01222	Afp	Alfa feto proteína	Espacio extracelular
NM_031534	Wt1	Tumor de Wilms 1	
NM_031708	Adrm1	Molécula reguladora de la adhesión 1	
AW913871	PNAS-4	Proteína CGI-146	
NM_024404	Hnrpd	Ribonucleoproteína D nuclear heterógena	Cromosoma, región telomérica, citosol y núcleo
BF562805		Locus transcrito, sumamente parecido a XP_220940.1	
BF566626		Locus transcrito, sumamente parecido a XP_341808.2	

M59859	Marcks	"Myristoylated alanine rich protein kinase C substrate"	Integral a membrana
AY049038	Cmbp	Proteína de citomatriz p110	Membrana, citoplasma y citoesqueleto
NM_012813	St8sia1	ST8 alfa-N-acetil-neuraminida alfa-2,8-sialiltransferasa 1	Integral a membrana e integral al aparato de Golgi
NM_012574	Grin2b	NMDA 2B	
NM_024484	Alas1	Ácido aminolevulínico sintetasa 1	Matriz mitocondrial
NM_012636	Pthlh	Péptido tipo hormona paratiroidal	Espacio extracelular, citoplasma y núcleo
NM_012626	Ppy	Polipeptido pancreático	Espacio extracelular
NM_013115	Ptgfr	Receptor a prostaglandina F	
NM_031112	Rps24	Proteína Ribosomal S24	Subunidad ribosomal pequeña citosólica
AY090783	Pdgfrb	Receptor del factor de crecimiento de plaquetas, polipeptido beta	Espacio extracelular e integral a membrana plasmática
A1170715		Locus transcrito, sumamente parecido a XP_342143.2	
NM_019125	Pbsn	Probasina	Núcleo
NM_017364	Zfp260	Proteína de dedo de Zinc 260	Núcleo
NM_012677	Ton	Tonina	
NM_017322	Mapk9	Proteincinasa activada por mitógeno 9	Núcleo
NM_017185	Tnni2	Troponina I tipo 2	
NM_019348	Sstr2	Receptor a somatostatina 2	Integral a membrana plasmática
D00920	Svp4	Proteína 4 de vesícula seminal	

BU671390		Locus transcrito, sumamente parecido a XP_217279.3	Integral a membrana, retículo endoplásmico y aparato de Golgi
NM_013116	Tshb	Hormona estimulante de la tiroides, subunidad beta	Espacio extracelular
U92564	Zfp423	Proteína de dedo de Zinc 423	
U15408	Atp2b4	ATPasa, transporte de Ca ²⁺	Integral a membrana plasmática
NM_017191	Adra1a	Receptor adrenérgico, alfa 1a	Integral a membrana
NM_016993	Bcl2	Célula B de leucemia/linfoma 2	Integral a membrana, citosol, retículo endoplásmico y núcleo

Tabla obtenida del análisis de los microarreglos con un nivel de variación inferior a -1.5, utilizando el paquete informático Karma

Id	Símbolo del gen	Función	Componente celular
NM_022848	Atp1a4	ATPasa, transporte de sodio/potasio, polipéptido alfa 4	Integral a membrana plasmática, aparato de Golgi
NM_031665	Stx6	Sintaxina 6	
NM_024158	Dck	Deoxicitidina quinasa	
NM_022643	Hist1h2ba	Histona 1, H2ba	Complejo histona acetiltransferasa, cromosoma y núcleo
U39206	Cyp4f4	Citocromo P450, familia4 subfamilia4 polipéptido 4	Membrana y retículo endoplásmico
NM_130428	Sdha	Complejo del succinato deshidrogenasa, subunidad A, flavoproteína (Fp)	
U56936	Klrb1b	Receptor tipo lectina de célula asesina, subfamilia B, miembro 1B	Integral a membrana plasmática
NM_019180	Mcpt6	Proteasa de mastocito 6	Espacio extracelular
AF375461	Syt9	Sinaptotagmina IX	Integral a membrana, vesícula sináptica
J02585	Scd1	Estearoil coenzima A desaturasa 1	Integral a membrana y retículo endoplásmico
AB060092	Cxcl2	Quimiocina (motivo C-X-C) ligando 2	Espacio extracelular
NM_012715	Adm	Adrenomedulina	Espacio extracelular
NM_013086	Crem	Elemento modulador de respuesta CAMP	
NM_017269	Ptprj	Protein tirosin fosfatasa, tipo receptor, J	

NM_022403	Tdo2	Triptofano 2,3-dioxigenasa	
NM_012738	Apoa1	Apolipoproteína A-I	Espacio extracelular
NM_024136	Erabp	Proteína epididimal de unión a ácido retiónico	
X57514	Gabrg1	Receptor GABA A, gama 1	Integral a membrana, membrana post-sináptica
V01255	Scgb1d2	Secretoglobina, familia 1D, miembro 2	
NM_023976	Prx	"Periaxin"	
NM_030988	Tg	Tiroglobulina	Espacio extracelular
NM_019630	Gip	Inhibidor polipeptídico gástrico	Espacio extracelular
U57049	Mthfr	5,10-metilenetetrahidro folato reductasa (NADPH)	Citoplasma y mitocondria
NM_130812	Cdkn2b	Inhibidor de cinasas dependiente de ciclina 2B	
NM_019188	Ncoa4	Coactivador de receptor nuclear 4	
NM_012549	Edn2	Endotelina 2	Espacio extracelular
NM_017059	Bax	Bcl2 proteína asociada al cromosoma X	
X69834	Serpina3m	Proteinasa inhibidora de serina o cisteina, miembro 3M	Región extra celular e intracelular
D38072	Ptpn12	Protein tirosin fosfatasa tipo 12	
NM_012941	Cyp51	Citocromo P450, subfamilia 51	Membrana y retículo endoplásmico
NM_017237	Uchl1	Ubiquitin carboxi hidrolasa L1	Citoplasma, citosol y axón
NM_019318	Maf	V-maf proteína oncogénica para fibrosarcoma musculoaponeurótico	Citoplasma y núcleo
AF329827	Zyx	Zixina	Integral a la membrana plasmática y unión célula-célula

AY026068	Rhoa	Ras gen homólogo, miembro A	Membrana plasmática, punta de proyección de apareamiento, citoesqueleto, intracelular, peroxisoma, membrana externa de la mitocondria y núcleo
NM_012920	Camk2a	Calmodulina dependiente de calcio alfa	
NM_019364	Scfd1	Sec1 dominio que contiene la familia 1	Citoplasma
AF016178	LOC286915	Probablemente receptor a feromonas	Integral a membrana plasmática
NM_017148	Csrp1	Proteína rica en cisteína y glicina 1	
NM_031129	Tceb2	Factor B de elongación de la transcripción (SIII), polipéptido 2	
NM_134386	Gprasp1	Receptor acoplado a proteína G	
NM_019184	Cyp2c	Citocromo p450, subfamilia IIC	Integral a membrana y retículo endoplásmico
NM_012743	Foxa2	Forkhead A2	Núcleo
NM_017077	Foxa3	Forkhead A3	Núcleo
NM_012734	Hk1	Hexoquinasa 1	Integral a membrana y cloroplasto
NM_019271	Stch	Proteína chaperona de estrés 70	
NM_017246	Map2k5	Proteincinasa activada por mitógeno 5	
NM_012545	Ddc	Dopa descarboxilasa	Intracelular
NM_022507	Prkcz	Protein cinasa C, zeta	Citoplasma, citoesqueleto, sitio de crecimiento polarizado y núcleo

NM_031703	Aqp3	Aquaporina 3	Integral a membrana plasmática
NM_019157	Aqp7	Aquaporina 7	Integral a membrana plasmática
NM_017079	Cd1d1	Antígeno CD1d1	Integral a membrana plasmática, lisosoma y endosoma tardío
NM_017112	Hpn	Hepsina	Integral a membrana plasmática
AF035963	Havcr1	Molécula de daño a riñón 1	
NM_130738	Snrpn	Ribonucleoproteína pequeña nuclear N	Complejo ribonucleoproteína y núcleo
U07201	Asns	Asparagina sintetasa	Fracción soluble de la membrana
U35776	Arfgap1	Factor de ribosilación de ADP 1	
NM_017363	Csh1	Hormona coriónica 1 somatomamotropina	Región extracelular
NM_013103	Tcf2	Factor de transcripción 2	
NM_017320	Ctss	Catepsina S	Lisosoma
NM_138837	Pou3f3	Dominio POU, clase 3, factor de transcripción 3	Núcleo
NM_031236	Fut1	Fucosiltransferasa 1	Integral a membrana y aparato de Golgi
NM_013194	Myh9	Miosina, polipéptido pesado 9, no muscular	Filamentos de músculo estriado
NM_019343	Rgs7	Regulador 7 de señalización por proteína G	Citoplasma y proyecciones de células neuronales
NM_031350	Pex3	Factor 3 biogénico peroxisomal	Integral a membrana plasmática e integral membrana peroxisomal

AF063102	Lphn2	Latrofilina 2	
NM_031821	Plk2	Quinasa tipo polo 2	Cromosoma y centrosoma
M92340	Il6st	Interleucina 6 transductora de señal	
BQ210080	Vars2	Sintetasa Valyl-tARN 2	Intracelular, citoplasma y mitocondria
NM_023990	Six3	Homólogo 3 a sine oculis	Núcleo
NM_017257	Psme2	Proteosoma 28 beta	Activador del complejo de proteosoma y citosol
NM_130825	Cgi94	Transcripción comparativa con el gen 94	Complejo de ribonucleoproteína nuclear pequeño y núcleo
AF158186	Nip7	Importador nuclear 7	Subunidad larga ribosomal citosólica, nucleolo y núcleo
NM_145880	Lhx1	Proteína LIM 1	Núcleo
AB032019	Trpv5	Receptor catiónico de canal de potencial transitorio, subfamilia V, miembro 5	
AF234600	Nploc4	Proteína 4 de localización nuclear	
NM_031083	Pik4cb	Fosfatidilinositol 4-cinasa, polipéptido beta	Complejo fosfatidilinositol 3 cinasa
AF139809	Plfr	Proteína relacionada a la proliferina	Espacio extracelular
AJ238717	Aatf	Factor de transcripción antagonista de apoptosis	
NM_021762	Tsn	Translina	Citoplasma y núcleo
AF156878	Ogfr	Receptor del factor de crecimiento opioide	
NM_031027	Dpyd	Dihidropirimidina deshidrogenasa	Membrana y mitocondria

NM_012817	Igfbp5	Proteína de unión 5 al factor de crecimiento tipo insulina	Región extracelular
NM_012839	Cycs	Citocromo C, somático	Parte interna de la membrana mitocondrial
NM_031776	Gda	Guanina desaminasa	
AF044201	Faim2	Fas molécula inhibitoria de apoptosis 2	Integral a membrana
NM_024355	Axin2	Axin2	Núcleo
AY029199	Pi4k2a	Fosfatidilinositol 4 cinasa tipo 2 alfa	
AF160978	C1qr1	Componente del complemento 1, subcomponente q, receptor 1	
NM_031346	Rod1	Regulador de la diferenciación 1	
NM_022685	Rem2	Proteína 2 de unión relacionada al GTP	Membrana plasmática y región intracelular
AF092207	Ccdc5	"Coiled-coil domain containing 5"	
NM_023957	Arhgef9	Cdc42 factor intercambiador de nucleótidos de guanina 9	Membrana plasmática y núcleo
NM_012619	Pah	Fenilalanina hidroxilasa	
NM_133620	Zhx1	Dominio de dedo de Zinc 1	
AF369384	Map2k6	Proteincinasa activada por mitógeno 6	
NM_012595	Ldhb	Lactato deshidrogenasa B	Citoplasma
NM_053299	Ubd	Ubiquitina D	
NM_031769	Pdxk	Pyridoxalcinasa	
NM_031242	Cds1	CDP-diacilglicerol sintetasa 1	Integral y retículo endoplásmico
NM_012612	Nppa	Precursor del péptido natriuretico tipo A	Región extracelular, citoplasma

NM_080902	Hig1	Gen 1 inducido por hipoxia	
NM_012797	Id1	Inhibidor 1 de la unión a ADN	Núcleo
NM_130429	Lef1	Factor potenciador vinculante a linfoide 1	Núcleo
NM_013046	Trh	Hormona liberadora de tirotropina	Región extracelular
NM_022381	Pcna	Antígeno nuclear de proliferación celular	Lamina nuclear, complejo replicador de ADN, núcleo
NM_013172	Myf6	Factor miogénico 6	
U70050	Jag2	Jagged 2	Espacio extracelular, integral a membrana plasmática y núcleo
AF321552	Ocil	Lectina inhibidora de osteoclastos	
L48209	Cox8a	Citocromo C oxidasa, subunidad VIIIa	Integral a membrana y mitocondria
NM_012675	Tnf	Factor de necrosis tumoral	Espacio extracelular, integral a membrana plasmática y granulo secretor
U67139	Dlgap3	Discos grandes, proteína homóloga asociada 3 (Drosophila)	Membrana, dendrita, membrana post-sináptica
NM_017124	Cd37	Antígeno CD37	Integral a membrana plasmática
AF013598	Accn3	Canal catiónico sensible a amilorida 3	
NM_031699	Cldn1	Claudina 1	Espacio extracelular e integral a membrana
AF223642	Cxcr3	Receptor a quimiocina 3 (motivo C-X-C)	Integral a Membrana plasmática y citoplasma
AFO41374	Picalm	Proteína de ensamble clatrina fosfatidilinositol	Parche cortical de actina

NM_019279	Pcsk1n	Inhibidor de la pro proteína convertasa kexin 1	
Y11321	Foxe1	Factor de transcripción tiroideo 2	Núcleo
NM_013058	Id3	Inhibidor de unión a ADN 3	
NM_031981	Nsfl1c	Cofactor NSFL1	Citoplasma y núcleo
NM_019237	Pcolce	Proteína potenciadora de procolágeno C endopeptidasa	Espacio extracelular
NM_031762	Cdkn1b	Inhibidor de cinasa dependiente de ciclina 1 B	Citoplasma y núcleo
NM_017012	Grm5	Receptor a glutamato metabotrópico 5	Integral a membrana
NM_019146	Bsn	"Bassoon"	
NM_022958	Pik3c3	Fosfoinositido 3 cinasa, clase 3	Complejo de fosfoinositido 3 cinasa
NM_145676	Pgea1	Interactuador PKD2	
NM_139336	Uxs1	UDP-glucuronato descarboxilasa 1	
NM_031828	Kcnma1	Canal activado de potasio de larga conductancia, subfamilia M miembro alfa 1	
AF336041	Nfs1	Gen de fijación de nitrógeno 1 (S. cerevisiae)	Espacio extracelular, matriz mitocondrial, citosol, mitocondria y núcleo
NM_017155	Adora1	Receptor a adenosina A1	Integral a membrana
AB075607	Lzts1	Cremallera de leucina, posible supresor tumoral 1	
NM_013060	Id2	Inhibidor 2 de la unión a ADN	
NM_019349	Slk	Serina/tronina cinasa 2	
X73371	Fcgr2b	Receptor de Fc, IgG, baja afinidad IIb	Integral a membrana plasmática

NM_133583	Ndrp2	Gen regulador N-myc 2	
AF281632	Sybl1	Tipo sinaptobrevina 1	Integral a membrana y retículo endoplásmico
NM_031549	Tagln	Transgelina	
NM_139183	Crhbp	Proteína de unión a la hormona liberadora de corticotropina	Fracción soluble
NM_053323	Degs1	Homólogo a degenerativo espermatocítica (Drosophila)	
L08814	Ssrp1	Proteína 1 de reconocimiento de estructura específica	Núcleo, cromosoma y cromatina
NM_017015	Gusb	Glucuronidasa beta	Retículo endoplásmico y lisosoma
NM_019242	Ifrd1	Regulador del desarrollo 1 relacionado con interferón	Núcleo
AF168362	Hspbap1	Proteína 1 asociada a Hspb	
NM_031970	Hspb1	Proteína 1 de shock térmico de 27kDa	
NM_144737	Fmo2	Monooxigenasa 2 que contiene flavinas	Espacio extracelular, integral a membrana y retículo endoplásmico
NM_021592	Hand1	Crestas derivadas de la expresión de transcrito 1	Núcleo
NM_017234	Pxmp3	Proteína 3 de membrana peroxisomal	Integral a membrana peroxisomal
NM_017180	Phlda1	Dominio homologo tipo pleckstrina, familia A, miembro 1	
NM_021587	Ltbp1	Proteína de unión 1 al factor transformante de crecimiento beta	
NM_031111	Rps21	Proteína ribosomal S21	Complejo de la ribonucleoproteína
NM_021680	Nxph4	"Neurexophilin" 4	Region extracelular

NM_021695	Synpo	Sinaptopodina	
NM_021701	Grin3a	Receptor ionotrópico a glutamato, NMDA, 3A	Complejo calcineurínico
NM_030857	Lyn	Sarcoma viral de Yamaguchi (v-yes-1) oncogén homólogo	Citoplasma y núcleo
NM_021758	Lin7b	Lin-7 homólogo b (C. elegans)	Cortex apical, membrana plasmática basolateral, citoplasma y citoesqueleto
NM_022193	Acaca	Acetil-coenzima A carboxilasa alfa	Citoplasma, parte interna de la membrana mitocondrial y retículo endoplásmico
NM_013084	Acadsb	Acil-Coenzima A deshidrogenasa, Ramificación de cadena corta	Mitocondria
NM_019199	Fgf18	Factor 18 de crecimiento de fibroblastos	
NM_012585	Htr1a	Receptor a serotonina 1A	Integral a membrana
AY028438	Rtn4r	"Reticulon 4 receptor"	
L19699	Ralb	Oncogén homólogo a leucemia viral en simio V-ral	Membrana plasmática e intracelular
NM_022675	Fkbp1b	Proteína de unión 1b a FK506	Espacio periplásmico
NM_022639	Chrna10	Receptor colinérgico, nicotínico polipéptido alfa 10	Espacio extracelular, integral a membrana, membrana post-sináptica,
NM_022942	Bche	Butirilcolinesterasa	Región extracelular
NM_019122	Syt3	Sinaptotagmina III	Integral a membrana, integral a vesícula sináptica, mitocondria
NM_012812	Cox6a2	Citocromo c oxidasa, subunidad VIa, polipéptido 2	Membrana mitocondrial

NM_017072	Cps1	Carbamoilfosfato sintetasa 1	Citoplasma y parte interna de la mitocondria
D38261	Ppp2r2c	Proteinfosfatasa 2, subunidad reguladora B, isoforma gama	
NM_031353	Vdac1	Canal aniónico dependiente de voltaje 1	Espacio extracelular, integral a la membrana, parte interna de la membrana mitocondrial
NM_023090	Epas1	Proteína endotelial de dominio PAS 1	Núcleo
NM_021598	Mcpt8	Proteasa de mastocito 8	Espacio extracelular
NM_012569	Gls	Glutaminasa	Mitocondria
AY075037	Serp1b10	Peptidasa inhibidora B de serina o cisteina, miembro 10	
AB040609	Acot12	Acil-Coa tioesterasa 12	
NM_017326	Calm2	Calmodulina 2	Citoplasma
NM_019194	Tef	Factor embrionario tirotrófico	
NM_013218	Ak3	Adenilato cinasa 3	Mitocondria
NM_031729	Ppp5c	Proteinfosfatasa 5, subunidad catalítica	Núcleo y citoplasma
NM_024353	Plcb4	Fosfolipasa C, beta 4	Núcleo y cromosoma
NM_024390	Hpgd	Hidroxi-prosta-glandina deshidrogenasa 15 (NAD)	
NM_022292	Kcnk12	Canal de potasio, subfamilia K, miembro 12	Integral a membrana, complejo del canal de voltaje de potasio
D13121	Atp5i	ATP sintetasa, transporte de H ⁺ , complejo mitocondrial FO, subunidad E	Mitocondria, complejo de ATP sintetasa transportador de H ⁺
AB085944	Npb	Neuropeptido B	
AJ309150	LOC171412	Proteína E-3 de fluido epididimal	

NM_031752	Bcam	Molécula basal de adhesión celular	Integral a membrana plasmática
NM_144754	Cant1	Nucleopeptidasa activada por calcio 1	
AF095585	Pdlim7	Dominio 7 de PDZ y LIM	
AF388527	Serbp1	Proteína 1 de unión a serpina 1 ARNm	
NM_134466	Stau2	Proteína de unión a ARN Staufen, homólogo 2 (Drosophila)	
NM_032075	Ghr	Receptor de la hormona de crecimiento secretagogue	Integral a membrana plasmática
AY030278	Wif1	Factor 1 inhibidor Wnt	Espacio extracelular
NM_133309	Capn8	Calpaína 8	
J03886	Myk2	Cinasa 2 de cadena ligera de miosina	
NM_130753	Fgf15	Factor 15 de crecimiento a fibroblasto	Espacio extracelular
NM_133290	Zfp36	Proteína de dedo Zinc 36	Núcleo y citoplasma
NM_012701	Adrb1	Receptor adrenérgico, beta 1	Integral a membrana
NM_017220	Pts	6-piruvil-tetrahydropterina sintetasa	
NM_013153	Has2	Ácido hialurónico sintetasa 2	Integral a membrana
NM_012874	Ros1	Oncogén homólogo de sarcoma viral UR2	Integral a membrana y complejo ATPasa intercambiadora de sodio y potasio
NM_019156	Vtn	Vitronectina	Espacio extracelular
M34136	Tpm1	Tropomiosina 1, alfa	Citoesqueleto
AF135839	Rax	"Retina and anterior neural fold homeobox"	Núcleo

NM_019269	Slc22a5	Transporte de catión orgánico	Integral a membrana y mitocondria
NM_031622	Mapk6	Protein cinasa activada por mitógeno 6	Citoplasma
NM_012959	Gfra1	Línea celular glial, neutrófico derivado, familia alfa, factor 1	Anclado a membrana plasmática
NM_021662	Pold1	Polimerasa, delta 1	Núcleo
AJ001713	Myo9a	Miosina IXA	Citoesqueleto
NM_013221	Hbp1	Factor de transcripción de alta movilidad 1	
NM_017351	Itih3	Inhibidor de tripsina alfa, cadena larga 3	Region extracelular
AJ000696	Kif1c	Miembro 1C de la familia de quinesina	Retículo endoplásmico, microtúbulos, citoplasma, citoesqueleto y aparato de Golgi
NM_031130	Nr2f1	Receptor nuclear de la subfamilia 2, grupo F, miembro 1	Núcleo
NM_017299	Slc19a1	Acarreador de soluto de la familia 19, miembro 1	Integral a membrana plasmática
NM_031101	Rpl13	Proteína ribosomal L13	
NM_138888	Phf5a	Proteína PHD 5A	Núcleo
D14989	Sult2a1	Sulfotransferasa, familia 2A, dihydroepiandrosterona (DHEA) miembro 1	
BG667467		Locus transcrito sumamente parecido a NP_079887.3	Complejo promotor de anafase
NM_031833	Nme2	Expresado en células no metastasicas 2	Mitocondria y núcleo
AY040767	Hint3	Proteína de unión de histidina-nucleotido 3	

AB020209	Abcc5	Unión a ATP, subfamilia C (CFTR/MRP), miembro 5	Integral a membrana plasmática
NM_133566	Cst6	Cistatina E/M	Espacio extracelular
AY030276	Gpr149	Receptor 149 acoplado a proteína G	
NM_012654	Slc9a3	Intercambiador de sodio/hidrogeno	Membrana plasmática basolateral
NM_013196	Ppara	Activador del receptor de proliferador de peroxisoma alfa alpha	Núcleo
NM_012829	Cck	Colecistoquinia	Región extracelular
AB003104	Bfsp1	Proteína de filamento estructural 1	Membrana, citoplasma y citoesqueleto
NM_031667	Syt11	Sinaptotagmina XI	Integral a membrana plasmática, vesícula sináptica
NM_031520	Myh10	Miosina, polipéptido largo 10, no muscular	Filamento de músculo estriado
NM_012935	Cryab	Cristalina alfa B	Citoplasma y núcleo
X54862	Mgmt	O-6-metilguanina-ADN metiltransferasa	Núcleo
NM_020095	Kcnip2	Proteína 2 que interactúa con el canal dependiente de voltaje	
AF202265	Jmjd1c	"Jumonji domain containing 1C"	
NM_012806	Mapk10	Protein cinasa activada por mitógeno 10	
NM_031663	Slc18a3	Acetilcolina vesicular	

Tabla de resultados analizados por "fatiGo" para los genes con un valor menor a -1.5 en la diferenciación de expresión génica para proceso biológico a nivel 3.

Nivel 3	
Término	Porcentaje
Proceso metabólico primario	56.97%
Proceso metabólico celular	56.36%
Proceso metabólico de macromoléculas	41.82%
Regulación de procesos biológicos	35.76%
Comunicación celular	26.06%
Establecimiento de la localización	21.82%
Proceso de desarrollo celular	21.21%
Desarrollo del organismo multicelular	19.39%
Desarrollo de la estructura anatómica	19.39%
Componente de la organización celular y biogénesis	17.58%
Procesos biosintéticos	10.91%
Respuesta al estrés	10.30%
Ciclo celular	7.27%
Muerte	6.67%
Compuesto metabólico de compuestos de nitrógeno	6.67%
Localización de proteínas	6.06%
Regulación de calidad biológica	5.45%
Respuesta a estímulos externos	5.45%
Respuesta a estímulos endógenos	4.85%
Proliferación celular	4.85%
Localización de células	4.24%
Respuesta a estímulos químicos	4.24%
Procesos neurológicos	4.24%

Procesos catabólicos	3.03%
Regulación de la función molecular	2.42%
Respuesta a estímulos abióticos	2.42%
Adhesión celular	2.42%
Respuesta de defensa	2.42%
Respuesta inmune	2.42%
Activación celular	1.82%
Remodelación de tejido	1.82%
Respuesta a estímulos bióticos	1.82%
Circulación	1.82%
Conducta	1.82%
División celular	1.82%
Detección de estímulos	1.21%
Crecimiento del cuerpo	1.21%
Contracción muscular	1.21%
Proceso metabólico de organismo multicelular	0.61%
Producción de citocinas	0.61%
Desarrollo de la maduración	0.61%
Procesos endocrinos	0.61%
Procesamiento y presentación de antígenos	0.61%
Respuesta celular a estímulos	0.61%
Acoplamiento de membrana	0.61%
Reproducción sexual	0.61%
Interacción interespecie entre organismos	0.61%
Ritmo circadiano	0.61%
Proceso reproductivo	0.61%

Tabla de resultados analizados por "fatiGo" para los genes con un valor menor a -1.5 en la diferenciación de expresión génica para proceso biológico a nivel 6

Nivel 6	
Término	Porcentaje
Regulación del proceso metabólico de nucleobases, nucleósidos, nucleótidos y ácidos nucleicos	21.01%
Proceso biosintético de RNA	19.57%
Proceso metabólico de macromoléculas	13.04%
Fosforilación	8.70%
Regulación positiva del proceso metabólico celular	7.97%
Muerte celular	7.97%
Vía de señalización de receptor a proteínas acoplado a proteína G	7.97%
Proceso metabólico de aminoácidos	5.80%
Transporte intracelular	5.80%
Proceso metabólico de ácido monocarboxílico	5.80%
Transporte de cationes	5.80%
Regulación negativa del proceso metabólico celular	5.07%
Regulación del progreso del ciclo celular	5.07%
Cascada de protein cinasa	5.07%
Neurogénesis	4.35%
Desarrollo de órganos hematopoyéticos y linfoides	4.35%
Montaje de componentes celulares	4.35%
Proteólisis	4.35%
Secreción celular	4.35%
Morfogénesis de órganos	4.35%
Desarrollo de tejido	4.35%
Transmisión sináptica	3.62%

Desarrollo de corazón	3.62%
Regulación positiva de la transducción de señales	3.62%
Reparación de DNA	3.62%
Proceso metabólico celular de carbohidratos	3.62%
Transducción de señales mediado por GTPasa	2.90%
Procesos basados en filamentos de activa	2.90%
Replicación de DNA	2.90%
Regulación negativa de la diferenciación celular	2.90%
Vía de señalización por el receptor Wnt	2.90%
Proceso biosintético de lípidos	2.90%
Proceso metabólico de mRNA	2.90%
Desarrollo vascular	2.90%
Translación	2.90%
Procesamiento de RNA	2.17%
Desarrollo muscular	2.17%
Señalización mediada por segundos mensajeros	2.17%
Regulación del tamaño celular	2.17%
Desarrollo de esqueleto	2.17%
Proceso basado en microtúbulos	2.17%
Diferenciación durante la morfogénesis celular	2.17%
Desfosforilación	2.17%
Proceso biosintético de aminas	2.17%
Desarrollo del sistema nervioso central	2.17%
Proceso metabólico de aminas biogénicas	2.17%
Morfogénesis de proyección celular	2.17%
Regulación positiva de la proliferación celular	2.17%
Regulación negativa de la proliferación celular	2.17%
Proceso metabólico derivado del indol	1.45%

Tabla de resultados analizados por "fatiGo" para los genes con un valor menor de -1.5 en la diferenciación de expresión génica para proceso biológico a nivel 9.

Nivel 9	
Término	Porcentaje
Regulación del promotor de la transcripción de la RNA polimerasa II	17.54%
Regulación positiva de la transcripción dependiente de DNA	15.79%
Regulación negativa de la transcripción dependiente de DNA	12.28%
Regulación de la apoptosis	10.53%
Angiogénesis	7.02%
Regulación positiva de la muerte celular programada	7.02%
Regulación positiva de la cascada I-kapaB cinasa/NF-kapaB	7.02%
Proceso metabólico de la glucosa	5.26%
Regulación negativa del factor de transcripción	3.51%
Regulación de la diferenciación de las células mieloides	3.51%
Programación apoptótica	3.51%
Desarrollo neuronal	3.51%
Regulación del fosforilación de los amino ácidos	3.51%
oligomerización de proteínas	3.51%
Proceso biosintético de ribonucleósidos trifosfatados de purina	3.51%
Proceso catabólico de la L-fenilalanina	3.51%
Diferenciación de osteoblastos	3.51%
Secreción de neurotransmisores	3.51%
Diferenciación linfoide	3.51%
Diferenciación mieloides de leucocitos	3.51%
Empalme del RNA, por medio de reacciones de transesterificación con adenosina como nucleófilo	1.75%
Proceso biosintético de proteínas amiloides precursoras	1.75%
Desestabilización del RNA	1.75%
Proceso biosintético de la arginina	1.75%

Proceso biosintético de la asparagina	1.75%
Regulación positiva de la actividad del factor de transcripción	1.75%
Proceso metabólico de UTP	1.75%
Desarrollo de fibras de músculo esquelético	1.75%
Transporte a glutamato	1.75%
Procesamiento de hormonas peptídicas	1.75%
Proceso metabólico de prostanoide	1.75%
Proceso biosintético de colesterol	1.75%
Homeostasis de cationes inorgánicos di-, tri-valentes	1.75%
Migración celular debido a sustrato, extensión celular	1.75%
Regulación positiva del crecimiento celular	1.75%
Corrección de la replicación de DNA	1.75%
Regulación negativa de la muerte celular programada	1.75%
Transducción de señales reguladas por la proteína Rho	1.75%
Proceso metabólico de ácido hialurónico	1.75%
Regulación de la diferenciación neuronal	1.75%
Desarrollo celular de músculo estriado	1.75%
Diferenciación eritrocítica	1.75%
Proceso biosintético de ribonucleósidos trifosfatados de pirimidina	1.75%
Exocitosis dependiente del ion calcio	1.75%
Proceso catabólico dependiente de la modificación de proteínas	1.75%
Transporte mitocondrial del ion calcio	1.75%
Formación de plaquetas	1.75%
Regulación positiva de la respuesta a comida	1.75%
Regulación del apetito	1.75%
Proceso metabólico de la dopamina	1.75%

Tabla de resultados analizados por "fatiGo" para los genes con un valor menor de -1.5 en la diferenciación de expresión génica para función molecular a nivel 3

Nivel 3	
Término	Porcentaje
Unión a proteínas	46.41%
Unión a iones	27.62%
Unión a nucleótidos	18.23%
Unión a ácidos nucleicos	17.68%
Actividad de hidrolasa	14.36%
Actividad de transferasa	13.81%
Actividad de receptor	12.71%
Actividad de oxidoreductasa	8.29%
Actividad transportadora de iones	6.08%
Unión a lípidos	4.42%
Actividad de transporte por canal o poro	3.87%
Actividad inhibidora de enzimas	2.76%
Unión a tetrapirrol	2.21%
Unión a cofactores	2.21%
Actividad de ligasa	2.21%
Activador transcripcional	2.21%
Unión a carbohidratos	2.21%
Unión a vitaminas	1.66%
Actividad acarreadora	1.66%
Activador de enzimas	1.66%
Represor de la actividad transcripcional	1.66%
Regulador de la actividad de GTPasa	1.66%
Unión a péptidos	1.10%
Unión a cromatina	1.10%
Unión a neurotransmisores	1.10%
Actividad de liasa	1.10%

Actividad motora de microfilamentos	1.10%
Transportador de drogas	1.10%
Constituyente estructural del cristalino del ojo	1.10%
Constituyente estructural del ribosoma	1.10%
Patrón de unión	0.55%
Unión a hormonas	0.55%
Unión a metal	0.55%
Regulador de la actividad de cinasa	0.55%
Actividad desaminasa	0.55%
Actividad motora de microtúbulos	0.55%
Actividad transportadora de neurotransmisores	0.55%
Actividad desmetilasa	0.55%
Actividad transportadora de proteínas	0.55%
Unión a aminas	0.55%
Unión a antígenos	0.55%
Unión a esteroides	0.55%
Actividad transportadoras de aminas	0.55%
Unión a ribonúcleoproteínas	0.55%
Actividad del factor transcripcional para la RNA polimerasa II	0.55%
Transportador xenobiótico	0.55%

Tabla de resultados analizados por "fatiGo" para los genes con un valor menor de -1.5 en la diferenciación de expresión génica para función molecular a nivel 6

Nivel 6	
Término	Porcentaje
Unión a ATP	23.68%
Unión al ion zinc	15.79%
Actividad de proteincinasa	9.65%
Unión al ion hierro	7.89%
Actividad de pirofosfatasa	7.89%
Actividad de receptor tipo rodopsina	6.14%
Unión a GTP	3.51%
Inhibidor de endopeptidasa tipo serina	3.51%
Unión al ion manganeso	2.63%
Actividad carboxilesterasa	2.63%
Hidrolasa monoester fosfórico	2.63%
Endopeptidasa tipo serina	2.63%
Actividad cinasa de nucleobase, nucleósido y nucleótido	2.63%
Transporte del ion hidrogeno	2.63%
Mono-oxigenasa inespecífica	1.75%
Cinasa de inositol o fosfatidil-inositol	1.75%
Exonucleasa	1.75%
ADN polimerasa dirigida	1.75%
Canal iónico dependiente de voltaje	1.75%
Unión al ión sodio	1.75%
Unión al ion potasio	1.75%
Anclaje unido a GPI	1.75%
Receptor metabotrópico a glutamato tipo GABA-B	1.75%
Unión a FAD	1.75%
Actividad de hormona neuropeptídica	1.75%

Unión a ADP	0.88%
6-piruvil tetrahydropterina sintetasa	0.88%
Metilentetrahydrofolato reductasa (NADPH)	0.88%
14 esteroles desmetilasa	0.88%
Endopeptidasa tipo cisteína	0.88%
Hidrolasa CoA	0.88%
Proteasa específica a proteína de conjugación pequeña	0.88%
Guanina desaminasa	0.88%
Dimetilánilina monooxigenasa (formación de N-óxidos)	0.88%
Acetil-CoA carboxilasa	0.88%
Cinasa de lípidos	0.88%
Unión a la doble cadena de DNA	0.88%
Actividad simportadora	0.88%
Actividad de lipasa	0.88%
Actividad a receptor a GABA-A	0.88%
Unión mRNA 3'-UTR	0.88%
triptofan 2,3 dioxigenasa	0.88%
Receptor tipo secretina	0.88%
Cistein desulfurasa	0.88%
Actividad de ribonucleasa	0.88%
Unión a fosfatidil inositol	0.88%
Aminoácido L aromático descarboxilasa	0.88%
dihidroorotato oxidasa	0.88%
Unión a heparina	0.88%
L-lactato deshidrogenasa	0.88%

Tabla de resultados analizados por "fatiGo" para los genes con un valor menor a -1.5 en la diferenciación de expresión génica para función molecular nivel 9.

Nivel 9	
Término	Porcentaje
Actividad acoplada a ATPasa	41.67%
Actividad MAP-cinasa	16.67%
Receptor a quimosinas	8.33%
fosfoinosítidos fosfolipasa C	8.33%
Desoxicitidina cinasa	8.33%
3'-5'-exoribonucleasa	8.33%
Receptor a prostaglandinas	8.33%

Tabla de resultados analizados por "fatiGo" para los genes con un valor mayor a 1.5 en la diferenciación de expresión génica para proceso biológico a nivel 3

Nivel 3	
Término	Porcentaje
Proceso metabólico celular	46.67%
Proceso metabólico primario	46.11%
Proceso metabólico de macromoléculas	40.56%
Proceso de regulación biológica	31.11%
comunicación celular	27.22%
establecimiento de la localización	25.00%
Desarrollo de organismos multicelulares	16.67%
organización y biogénesis de componentes celulares	15.56%
Desarrollo de la estructura anatómica	15.00%
Proceso de desarrollo celular	13.89%
Calidad de la regulación biológica	7.78%
Proceso biosintético	7.78%
Proceso neurológico	7.78%
Respuesta a estrés	6.67%
Proceso catabólico	6.11%
Adhesión celular	5.56%
Muerte	5.56%
Respuesta a estímulos químicos	5.00%
Localización de proteínas	4.44%
Respuesta a estímulos externo	4.44%
Ciclo celular	4.44%
Conducta	3.89%
Respuesta inmune	2.78%
Reproducción sexual	2.78%
Proceso reproductivo	2.78%
Regulación de fluidos corporales	2.22%

Respuesta de defensa	2.22%
Proceso metabólico de compuestos de nitrógeno	2.22%
Respuesta a estímulos endógenos	2.22%
Proliferación celular	2.22%
Coagulación	1.67%
Activación celular	1.67%
Localización de celular	1.67%
Respuesta a estímulos bióticos	1.67%
Circulación	1.67%
Respuesta a estímulos abióticos	1.11%
Contracción muscular	1.11%
Movimiento del organismo	0.56%
Regulación de la función molecular	0.56%
Detección de estímulos	0.56%
Proceso metabólico orgánico multicelular	0.56%
Segregación de cromosomas	0.56%
Remodelación de tejido	0.56%
Proceso endocrino	0.56%
Crecimiento de órganos	0.56%
Procesamiento y presentación de antígenos	0.56%
Respuesta celular a estímulos	0.56%
Localización del mantenimiento	0.56%
División celular	0.56%
Interacción interespecies entre organismos	0.56%

Tabla de resultados analizados por "fatiGo" para los genes con un valor mayor a 1.5 en la diferenciación de expresión génica para proceso biológico a nivel 6

Nivel 6	
Término	Porcentaje
Regulación del proceso metabólico de nucleobases, nucleósidos, nucleótidos y ácidos nucleicos	17.22%
Proceso biosintético de RNA	16.56%
Vía de señalización de receptor acoplado a proteína G	11.26%
Modificación de proteínas	9.27%
Proteólisis	9.27%
transporte de cationes	7.95%
Muerte celular	6.62%
Fosforilación	5.96%
Transmisión sináptica	5.30%
Transporte intracelular	5.30%
Proceso metabólico de mRNA	4.64%
Translación	4.64%
Procesamiento de RNA	3.97%
Secreción celular	3.97%
Cascada de protein cinasas	3.97%
Transporte de aniones	3.97%
Montaje de componentes celulares	3.31%
Vía de señalización de receptor unido a enzima	3.31%
Desarrollo vascular	3.31%
Morfogénesis de órganos	3.31%
Desarrollo del corazón	2.65%
Regulación positiva de transducción de señales	2.65%
Señalización mediada por segundo mensajero	2.65%
Proceso celular metabólico de carbohidratos	2.65%
Desarrollo de tejidos	2.65%

Proceso catabólico de proteínas	2.65%
Neurogénesis	1.99%
Espermatogénesis	1.99%
Regulación de tamaño celular	1.99%
Regulación negativa de proceso metabólico celular	1.99%
Vía de señalización por el receptor Wnt	1.99%
Proceso biosintético de lípidos	1.99%
Proceso metabólico de aminoácidos	1.99%
Homeostasis celular redox	1.99%
Percepción sensorial de los olores	1.99%
Regulación del progreso a través del ciclo celular	1.99%
Coagulación de sangre	1.99%
Proceso catabólico dependiente de la modificación de macromoléculas	1.99%
Regulación negativa de la proliferación celular	1.99%
Transducción de señales mediadas por pequeñas GTPasas	1.32%
Importación de proteínas	1.32%
Proceso basado en filamentos de actina	1.32%
Proceso metabólico de lípidos de membrana	1.32%
Transporte de vesículas sinápticas	1.32%
Plegamiento de proteínas	1.32%
Desarrollo de órganos linfoides y hematopoyéticos	1.32%
Replicación de DNA	1.32%
Proceso metabólico de esteroides	1.32%
Desarrollo del esqueleto	1.32%
Regulación positiva del proceso metabólico celular	1.32%

Tabla de resultados analizados por "fatiGo" para los genes con un valor mayor a 1.5 en la diferenciación de expresión génica para proceso biológico a nivel 9

Nivel 9	
Término	Porcentaje
Regulación de apoptosis	14.29%
Angiogénesis	8.16%
Regulación negativa de la muerte celular programada	8.16%
Regulación positiva de la muerte celular programada	6.12%
Señalización de proteína G, segundo mensajero acoplado a cAMP	6.12%
Proceso catabólico dependiente de la modificación de proteínas	6.12%
Iniciación de la translación	6.12%
Secreción de neurotransmisores	6.12%
Regulación positiva de la transcripción dependiente de ADN	4.08%
Diferenciación leucocito mieloide	4.08%
Transporte del ion hierro	4.08%
exocitosis dependiente del ion calcio	4.08%
Importación de proteínas dentro del núcleo	4.08%
Transporte a glicina	4.08%
Proceso catabólico de hexosas	4.08%
Morfogénesis del epidídimo	4.08%
Proceso metabólico de la glucosa	4.08%
Regulación de la cascada I-kappaB cinasa/NF-kappaB	2.04%
Diferenciación de las células de Schwann	2.04%
Diferenciación de proteoblastos	2.04%
Regulación negativa del proceso metabólico de nucleótidos cíclicos	2.04%
Regulación del proceso biosintético de nucleótidos cíclicos	2.04%

Vía de señalización de la regulación de la transformación del receptor del factor de crecimiento beta	2.04%
Homeostasis de iones metálicos	2.04%
Transporte transepitelial de cloruro	2.04%
Regulación negativa del proceso biosintético de nucleótidos	2.04%
Transporte de prolina	2.04%
Homeostasis de cationes inorgánicos di- tri-valentes	2.04%
Ensamble de la cromatina	2.04%
Regulación de la plasticidad neuronal sináptica	2.04%
Regulación de la estabilidad de ARNm	2.04%
Elongación de cadena	2.04%
Transporte de alanina	2.04%
Regulación del proceso metabólico de cAMP	2.04%
Regulación positiva de la atracción quimiotáctica	2.04%
Citólisis de las células de otro organismo	2.04%
Regulación de la muerte celular programada no apoptótica	2.04%
Transporte del ion cobalto	2.04%
Fosforilación de peptidiltirosina	2.04%
Regulación de exocitosis	2.04%
Ensamble del complejo de proteínas celulares	2.04%
Modificación introducida por simbionte de la membrana de la célula huésped	2.04%
Beta oxidación de ácidos grasos	2.04%
Segregación mitótica de cromátidas hermanas	2.04%
Regulación del desarrollo de la epidermis	2.04%
Regulación negativa de la proliferación de linfocitos	2.04%
Proceso metabólico de la fosfatidilcolina	2.04%
Activación de la fosfolipasa C	2.04%
Programa apoptótico	2.04%
Transporte de carga por el axón	2.04%

Tabla de resultados analizados por "fatiGo" para los genes con un valor mayor a 1.5 en la diferenciación de expresión génica para función molecular a nivel 3.

Nivel 3	
Término	Porcentaje
Unión a proteínas	45.79%
Unión a iones	24.21%
Unión a ácidos nucleicos	18.42%
Actividad de hidrolasa	16.32%
Unión a nucleótidos	14.21%
Actividad de receptor	13.68%
Actividad de transferasa	9.47%
Actividad de transporte de iones	7.89%
Actividad de oxidoreductasa	6.32%
Actividad acarreadora	4.74%
Actividad de transporte por canal o poro	3.68%
Unión a lípidos	3.16%
Actividad inhibidora de enzimas	2.63%
Unión a neurotransmisores	2.63%
Constituyente estructural del ribosoma	2.63%
Unión a cofactores	2.11%
Unión a carbohidratos	2.11%
Unión a péptidos	1.58%
Actividad de transporte a neurotransmisores	1.58%
Actividad de helicasa	1.58%
Unión a antígenos	1.58%
Actividad de transporte de aminas	1.58%
Actividad de transporte de ácidos orgánicos	1.58%
Unión a tetrapirrol	1.05%
Unión a vitaminas	1.05%
Activador de enzimas	1.05%

Actividad de transportador de proteínas	1.05%
Actividad de liasa	1.05%
Actividad reguladora de GTPasa	1.05%
Unión odorante	0.53%
Actividad a ligasa	0.53%
Unión a cromatina	0.53%
Unión a selenio	0.53%
Unión a drogas	0.53%
Constituyente estructural de la matriz extracelular	0.53%
Unión a oxígeno	0.53%
Activador transcripcional	0.53%
Represor transcripcional	0.53%
Actividad de isomerasa	0.53%
Unión a esteroides	0.53%
Actividad de transportador de drogas	0.53%

Tabla de resultados analizados por "fatigo" para los genes con 1.5 para funcion molecular nivel 6

Nivel 6	
Término	Porcentaje
Unión de ATP	18.10%
Unión al ion zinc	15.24%
Actividad de receptor a rodopsina	10.48%
Actividad de proteincinasa	8.57%
Actividad simportadora	5.71%
Actividad de pirofosfatasa	5.71%
Unión al ion sodio	4.76%
Actividad tipo serina endopeptidasa	4.76%
Unión al ion hierro	3.81%
Actividad transportadora de L-aminoácidos	2.86%
Unión al ion potasio	2.86%
Actividad de hidrolasa para monoester fosfórico	2.86%
Unión al ion cobre	2.86%
Unión a FAD	2.86%
Actividad de receptor ionotrópico a glutamato	1.90%
Actividad de carboxil esterasa	1.90%
Unión a GTP	1.90%
Actividad de endopeptidasa tipo cisteina	1.90%
Actividad de lipasa	1.90%
Actividad antiportadora	1.90%
Actividad de ribonucleasa	1.90%
Actividad de 1-alquil-2-acetilglicerofosfocolina esterasa	1.90%
Actividad de hidrolasa para el diester fosfórico	1.90%
Actividad de aciltransferasa	1.90%
Actividad inhibidora de endopeptidasa tipo serina	1.90%
Actividad de receptor a interleucina	1.90%
Actividad transportadora de hidrógeno	1.90%

Actividad transportadora de amino ácidos neutros	1.90%
Actividad de endonucleasa	1.90%
Unión a receptor a vasopresina	0.95%
Actividad transportadora al ion hierro	0.95%
Unión al ion manganeso	0.95%
Actividad transportadora al ion manganeso	0.95%
Actividad inhibidora de metaloendopeptidasa	0.95%
Actividad de metaloendopeptidasa	0.95%
Unión al factor de crecimiento tipo insulina I	0.95%
Unión al factor de crecimiento tipo insulina II	0.95%
Actividad co-activadora de transcripción	0.95%
Actividad de ferroxidasa	0.95%
Actividad inespecífica de mono-oxigenasa	0.95%
Unión a receptor hormonal nuclear	0.95%
Actividad metaloexopeptidasa	0.95%
Actividad ornitina descarboxilasa	0.95%
Actividad transportadora de ion calcio	0.95%
Actividad de endopeptidasa tipo aspártico	0.95%
Actividad transportadora al ion cadmio	0.95%
Actividad transportadora al ion cobalto	0.95%
Actividad de exonucleasa	0.95%
Actividad de lisina 6 oxidasa	0.95%
Actividad de treonina endopeptidasa	0.95%

Tabla de resultados analizados por "fatiGo" para los genes con un valor mayor a 1.5 en la diferenciación de expresión génica para función molecular nivel 9.

Nivel 9	
Término	Porcentaje
Actividad de ATPasa acoplada	26.32%
Actividad simportadora de hidrógeno/amino ácidos	10.53%
Actividad simportadora neurotransmisores/sodio	10.53%
Actividad antiportadora sodio/hidrógeno	5.26%
Actividad de ribonucleasa pancreática	5.26%
Actividad de inositol polifosfato 5 fosfatasa	5.26%
Actividad de ribonucleasa H	5.26%
Actividad de MAP cinasa	5.26%
Actividad de fosfolipasa independiente a calcio A2	5.26%
Actividad de receptor al factor de crecimiento vascular endotelial	5.26%
Actividad simportadora ácido orgánico/sodio	5.26%
Actividad de glicerín-fosfato O-acil-transferasa	5.26%
Actividad receptora a somatostatina	5.26%
Actividad de receptor a "ephrin"	5.26%
Actividad antiportadora de soluto/hidrógeno	5.26%

BIBLIOGRAFIA

- Adolphs R. (2003). Is the human amygdala specialized for processing social information?. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 985: 326-340.
- Agmo A. (2003). Unconditioned sexual incentive motivation in the male Norway rat. *J. Comp. Psychol.*, 117: 3-14.
- Agmo A., Paredes R. (1988). Opioids and sexual behavior in the male rat. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 30: 1021-1034.
- Ahlenius S., Eriksson H., Larsson K., Modigh K., Södersten P. (1971). Mating behavior in the male rat treated with *p*-chlorophenyl-alanine methyl ester alone and in combination with pargyline. *Psychopharmacology*, 20: 383-388.
- Ahlenius S., Larsson K. (1984). Lisuride, LY-141865 and 8-OH-DPAT facilitate male rat sexual behavior via a non-dopaminergic mechanism. *Psychopharmacology (Berlin)*, 83: 330-334.
- Balthazart, J., Baillien, M., Ball, G. F. (2002). Interactions between aromatase (estrogen synthase) and dopamine in the control of male sexual behavior in quail. *Comp. J Biochem. Physiol. B*, 1332 : 37-55
- Balthazart, J., Baillien, M., Cornil, C. A., Ball, G. F. (2004). Preoptic aromatase modulates male sexual behavior: slow and fast mechanism of action. *Physiol. Behave.*, 83; 247-270
- Baum, M. J. Neuroendocrinology of sexual behavior in the male. In: Becker, JB.; Breedlove, SM.; Crews, D.; McCarthy, MM.;, Editors. Behavioral Endocrinology. MIT Press; Cambridge, Mass: (2002) p. 153-203.
- Baum, M. J., Tobet, S. A., Starr, M. S., Bradshaw, W. G. (1982). Implantation of dihydrotestosterone propionate into the lateral

septum or medial amygdale facilitates copulation in castrated rats given estradiol systemically. *Horm. Behav.*, 16: 208-223.

- Beach, F. A. (1940). Effects of cortical lesions upon the copulatory behavior of male rats. *J. Comp. Psychol.*, 24: 193-245.
- Beach, F. A., (1961). *Hormones and Behavior. Cooper Square, New York.*
- Beach, F. A., Jordan, L. (1956). Sexual exhaustion and recovery in the male rat. *Q. J. Exp. Psychol.*, 8: 121-133.
- Beato, M., Chavez, S., Truss, M. (1996). Transcriptional Regulation by Steroid Hormones. In: *Steroid*, 61: 240-250. San Francisco.
- Beyer, C., Morali G., Naftolin F., Larsson K. (1976). Effect of some antiestrogens and aromatase inhibitors on androgen induced sexual behavior in castrated male rats. *Horm. Behav.*, 7: 353–363.
- Bhat, G. K., Mahesh, V. B., Lamar, C. A., Ping, L., Aguan, K., Brann, D. W. (1995). Histochemical localization of nitric oxide neurons in the hypothalamus: association with gonadotropin-releasing hormone neurons and co-localization with N-methyl-d-aspartate receptors. *Neuroendocrinology*. 62: 187-197
- Binart, N., Chambraud, B., Rdumas, B., Rowlands, D. A., Bigogne, C., Leni, J. M., Garnier, J., Baulieu, E. E., Catelli, M. G. (1989). The cDNA-derived amino acid sequence of chick heat shock protein Mr. 90,000 (HSP90) reveals a “DNA like” structure: potential site of interaction with steroid receptors. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 159: 140-147.
- Boden, A. G., Harris, M. C., Parkes, M. J. (2000). The preoptic area in the hypothalamus is the source of the additional respiratory drive at raised body temperature in anaesthetized rats. *Exp. Physiol.*, 85: 527-537.

- Bonilla-Jaime, H., Vázquez-Palacios, G., Arteaga-Silva, M., Retana-Márquez, S. (2006). Hormonal response to different sexually related conditions in male rats. *Horm. Behav.*, 49: 376-382
- Brackett, N. L., Ferrel, S. M., Aballa, T. C., Amador, M. J., Padron, O. F., Sonksen, J., Lynne, C. M. (1998). An analysis of 653 trials of penile vibratory stimulation in men with spinal cord injury. *Journal of Urology.*, 159: 1931-1934
- Brann, D. W. (1995) Glutamate: a major excitatory transmitter in neuroendocrine regulation. *Neuroendocrinology*, 61: 213-225
- Bredt, D. S., Ferris, C. D., Snyder, S. H. (1992). Nitric oxide synthase regulatory sites. Phosphorylation by cyclic AMP-dependent protein kinase, protein kinase C, And Calcium/calmodulin protein kinase; identification of flavin and calmodulin binding sites. *J. Biol. Chem.*, 267: 10976-10981
- Brinkmann, A. O. (2001). Lessons to be learned from the androgen receptor. *Eur J. Dermatol.*, 11: 301-303.
- Caballero-Cerda, R. A., Rodríguez-Manzo, G. (2007). Participación del sistema DA en el efecto Coolidge y sus consecuencias en ratas macho saciadas sexualmente. Programa: C-136a. L Congreso Nacional de Ciencias Fisiologicas; Puebla, Pue.: Sociedad Nacional de Ciencias Fisiologicas.
- Canteras, N. S., Simerly, R. S., Swanson, L. W. (1995). Organization of projections from the medial nucleus of the amygdala: a PHAL study in the rat [Publisher erratum appears in *J. Comp. Neurol.* (1996). 369:328-330]. *J. Comp. Neurol.*, 360: 213-245.
- Carr, W. J., Loeb, L. S., Dissinger, M. L. (1965). Responses of rats sex odors. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 59: 370-377.

- Carson-Jurica, M.A., Schrader, W.T., O'Malley, B.W. (1990). Steroid receptor family: structure and functions. *Endocr. Rev.*, 11: 201-20.
- Catelli, M. G., Binart, N., Jun-Testas, I., Renoir, J. M., Baulieu, E. E., Feramisco, J. R., Welch, W. J. (1985). The common 90 kD protein component of nontransformed "8S" steroid receptors is a heat-shock protein. *EMBO J.*, 4: 3131- 3135.
- Chang, C., Kokontis, J., Liao, S. (1988). Structural analysis of complementary DNA and amino acid sequences of human and rat androgen receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85: 7211-7215.
- Charlier, T. D., Ball, G. F., Balthazart, J. (2005). Sexual behavior activates the expression of the immediate early genes c-fos and Zenk (egr-1) in catecholaminergic neurons of male Japanese quail. *Neuroscience*, 131: 13-30.
- Chung, W. C. J. (2003). Sexual differentiation of the human and rodent forebrain. Thesis. University of Amsterdam.
- Clancy, A. N., Coquelin, A. Macrides, F., Gorski, R. A., Nobel, E. P. (1984). Sexual behavior and aggression in male mice: involvement of the vomeronasal system. *J. Neurosci.*, 4: 2222-2229.
- Clancy, A. N., Zumpe, D., Michael, R. P. (2000). Estrogen in the medial preoptic area of male rats facilitates copulatory behavior. *Horm. Behav.*, 38: 86-93.
- Clark, A. S., Henderson, L. P. (2003). Behavioral and physiological responses to anabolic-androgenic steroids. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 27: 413-436.
- Clark, J. T., Smith, E. R., Davidson, J. M. (1985). Evidence for the modulation of sexual behavior by alpha adrenoceptors in male rats. *Neuroendocrinology*, 41: 36-43.

- Coolen, L. M., Peters, H. J., Veening, J. G. (1996). Fos immunoreactivity in the rat brain following consummatory elements of sexual behavior: a sex comparison. *Brain Res.*, 738: 67-82
- Davidson, J. M. (1966). Characteristics of sex behavior in male rats following castration. *Anim. Behav.*, 14: 266-272.
- Davidson, J. M. (1972). Hormones and Reproductive Behavior. In: Levine S. (ed). Hormones and Behavior. *Academic Press, New York*, p 63.
- DeFrance, J. F. (1976). The Septal Nuclei. *New York: Plenum Press*.
- Denis M., Gustafsson J. A., Wikstrom A. C. (1988). Interaction of the Mr= 90,000 heat shock protein with the steroid-binding domain of the glucocorticoid receptor. *J. Biol. Chem.*, 263: 18520-18523.
- Deslypere, J- P., Young, M., Wilson, J. D. y McPhaul, M. J. (1992). Testosterone and 5 alpha-Dihydrotestosterone interact differently with the androgen receptor to enhance transcription of MMTV-CAT reporter gene. *Mol. Cell Endocrinol.*, 88: 15-22.
- Dewsbury, D. A. (1979). Description of Sexual Behavior in Research on Hormone-Behavior Interations. In: Endocrine Control of Sexual Behavior. Edited by C. Beyer. Raven Press, New York.
- Dingledine, R., Borges, D., Bowie, D., & Traynelis, S. F. (1999). The glutamate receptor ion channels. *Pharmacological Review*, 51: 7-61
- Domínguez, J. M., Balfour, M. E., Lee, H. S., Brown, J. L., Davis, B. A., Coolen, L. M., (2007). Mating activates NMDA receptors in the medial preoptic area of Male rats. *Behavioral Neuroscience*, 121: 1023-1031.

- Domínguez, J. M., Muschamp, J. W., Schmich, J. M., Hull, E. M. (2004). Nitric oxide mediates glutamate-evoked dopamine release in the medial preoptic area. *Neuroscience*, 125: 203-210
- Domínguez-Salazar, E., Portillo, W., Baum, J. M., Bakker, J., Paredes, R. G. (2002). Effects of prenatal androgen receptor antagonist or aromatase inhibitor on sexual behavior, partner preference and neuronal Fos response to estrous female odors in the rat accessory olfactory system. *Physiol. Behav.*, 75: 337-346.
- Du, J., Lorrain, D. S., Hull, E. M. (1998). Castration decrease extracellular, but increases intracellular, dopamine in medial preoptic area of male rats. *Brain Res.* 782:11-17.
- Ebling, F. J. P., Cronin, A. S., Hastings, M. H. (1998). Resistance of gonadotropin-releasing hormone neurons to neurotoxicity. *Brain Res. Bull.*, 47: 575-584.
- Emery, D. E., Sachs, B. D. (1976). Copulatory behavior in male rats with lesions in the bed nucleus of the terminalis. *Physiol. Behav.*, 17: 803-806.
- Everitt, B. J. (1990). Sexual motivation: a neural and behavioural analysis of the mechanisms underlying appetitive and copulatory responses of male rats. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 14: 217-232.
- Fernández-Guasti, A., Arteaga-Lopez, P., Antonio-Cabrera, E. (sometido). Copulation modifies AR and ER α mRNA expression in the male rat brain. *Physiology and behavior*.
- Fernández-Guasti, A., Escalante, A. L. (1991). Role of presynaptic serotonergic receptors on the mechanism of action of 5-HT $1A$ and 5-HT $1B$ agonist on masculine sexual behavior: physiological and pharmacological implications. *J. Neural Transm.*, 85: 95-107.
- Fernández-Guasti, A., Escalante, A. L., Ahlenius, S., Hillegaart, V., Larsson, K. (1992). Stimulation of 5-HT $1A$ and 5-HT $1B$ receptors

- Fernández-Guasti, A., Kruijver, F. P. M., Fodor, M., Swaab, D. F. (2000). Sex differences in the distribution of androgen receptors in the human hypothalamus. *J. Comp. Neurol.*, 425:422-435.
- Fernández-Guasti, A., Larsson, K., Beyer, C. (1986). GABAergic control of masculine sexual behavior. *Pharmacol. Biochem. and Behav.*, 24: 1065-1070.
- Fernández-Guasti, A., Rodríguez-Manzo, G. (2003). Pharmacological and physiological aspects of sexual exhaustion in male rats. *Scand. J. Psychol.*, 44:257-263.
- Fernández-Guasti, A., Swaab, D., Rodríguez-Manzo, G. (2003). Sexual behavior reduces hypothalamic androgen receptor immunoreactivity. *Psychoneuroendocrinology*, 28: 501-512.
- Fiorino, D. F., Cury, A., Phillips, A. G. (1997). Dynamic changes in nucleus accumbens dopamine efflux during the Coolidge effect in male rats. *J. Neurosci.*, 17: 4849-4855.
- Fonnum, F. (1984) Glutamate_ A neurotransmitter in mammalian brain. *Journal of Neurochemistry*, 42: 1-11
- Forrest, D., Yuzaki, M., Soares, H. D., Ng, L., Luk, D. C., Sheng, M. (1994) Targeted disruption of NMDA receptor 1 gene abolishes NMDA response and results in neonatal death. *Neuron*. 13: 325-338.
- Garduño-Gutiérrez, R. (2007). Evaluación de la participación de los opioides endógenos en el establecimiento de la inhibición sexual característica de la saciedad sexual. Tesis de maestría en ciencias. Coordinador: Dra. Gabriela Rodríguez-Manzo. Departamento de Farmacobiología. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. México, Distrito Federal.

- Garthwaite, J., Charles, S. L., Chess-Williams, R. (1988). Endothelium delivered relaxin factor release on activation of NMDA receptors suggest role as intercellular messenger in the brain. *Nature*, 336: 385-388
- Greco, B., Edwards, D. A., Michael, R. P., Clancy, A. N. (1998). Androgen receptor and estrogen receptors are colocalized in male rat hypothalamic and limbic neurons that express FOS immunoreactivity induced by mating. *Neuroendocrinology*, 67: 18-28.
- Handa, R. J., Kerr, J. E., DonCarlos, L. L., McGivern, R.F., Hejna, G. (1996). Hormonal regulation of androgen receptor messenger RNA in the medial preoptic area of the male rat. *Brain Res Mol Brain Res.*, 39: 57-67.
- Harding, S. M., McGinnis M. Y. (2004). Androgen receptor blockade in the mPOA or VMN: effects on male sociosexual behaviors. *Physiol. Behav.*, 81: 671-80.
- Harris, V. S., Sachs, B. D. (1975). Copulatory behavior in male rats following amygdaloid lesions. *Brain Res.*, 86: 514-518.
- Heimer, L., Larsson, K. (1966/1967). Impairment of mating behavior in male rats following lesions in the preoptic anterior hypothalamic continuum. *Brain Res.*, 3: 248-263.
- Huck, U. W., Lisk, R. D. (1985). Determinants of mating success in the golden hamster (*Mesocricetus auratus*): I. Male capacity. *Journal of Comparative Psychology*, 99: 98-107.
- Hull, E. M., Domínguez, J. M. (2006). Getting his act together: Roles of glutamate, nitric oxide, and dopamine in the medial preoptic area. *Brain research*, 1126: 66-45.
- Hull, E. M., Du, J., Lorrain, D. S., Matuszewich, L. (1995). Extracellular dopamine in the medial preoptic area: implications

for sexual motivation and hormonal control of copulation. *J. Neurosci.*, 15: 7465-7471.

- Hull, E. M., Eaton, R. C., Markowski, V. P., Moses, J., Lumley, L. A., Loucks, J. A. (1992). Opposite influence of medial preoptic D1 and D2 receptors on genital reflexes: implications for copulation. *Life sciences*. 51: 1705-1713
- Hull, E. M., Muschamp, J. W., Sato, S. (2004). Dopamine and serotonin: influences on male sexual behavior. *Physiology & Behavior*. 83: 291-307.
- Hull, E. M., Wood, R. I., McKenna, K. E. Neurobiology of Male Sexual Behavior. In: Knobil and Neill's Physiology of Reproduction. Edited for Jimmy D. Neill. Third Edition. American Press (Ed). New York (2005). pp 1729-1823.
- Hurtazo, H. A., Paredes, R. G. (2006). Olfactory preference and Fos expression in the accessory olfactory system of male rats with bilateral lesions of the medial preoptic area/anterior hypothalamus. *Neuroscience*, 135: 1035-1044.
- Ignarro, L. J. (1991). Signal transduction mechanisms involving nitric oxide. *Biochem. Pharmacol.*, 41: 485-490
- Jarry, H., Leonhardt, S., Schwarze, T., Wuttke, W. (1995). Preoptic rather than mediobasal hypothalamic amino acid neurotransmitter release regulates GnRH Secretion during the estrogen-induced LH surge in the ovariectomized rat. *Neuroendocrinology*, 62: 479-486
- Jaworski, T. (2006). Degradation and beyond: control of androgen receptor activity by the proteasome system. *Cell. Mol. Biol. Lett.*, 11: 109-131.
- Jost, A. (1953). Problems in fetal endocrinology; the gonadal and hypothalamic hormones. *Rec. Prog. Horm. Res.*, 8: 379-418.

- Kondo, Y., Tomihara, K., Sakuma, Y. (1993). P-chlorophenylalanine facilitates copulatory behavior in septal lesioned but not in preoptic lesioned male rats. *J. Neuroendocrinol.*, 5: 629-633.
- Kronenberg, H., Melmed, S., Larsen P. R., Polonsky, K. (2003). Principles of Endocrinology. En: Williams Textbook of Endocrinology. Eds.: Larsen P. R., Kronenberg H. M., Melmed S. y Polonsky K. Saunders (Ed). 10a (ed). pp 1-9.
- Larsson, K. (1956). Conditioning and Sexual Behavior in the Male albino Rat. Stockholm. *Almqvist and Wikesll.*
- Larsson, K. (1979). Features of Neuroendocrine Regulation of Masculine sexual Behavior. In: Beyer C. (ed), *Endocrinol Control of Sexual Behavior*, 77-163. New York: Raven Press.
- Lawrence, K., Barfield, R. (1975). Diferential rates of exhaustion and recovery of several parameters of male rat sexual behavior. *J. Comp. Physiol.*, 8: 693-703.
- Lee, H. J., Chang, C. (2003). Recent advances in androgen receptor action. *CMLS, Cell Mol. Life Sci.*, 60: 1613-1622.
- Lephart, E. D. (1996). A review of brain aromatase cytochrome P450. *Brain. Res. Rev.*, 22: 1–26.
- Li, H. Y., Blaustein, J. D., De Vries, G. J., Wade, G. N. (1993). Estrogen receptor immunoreactivity in hamster brain: preoptic area, hypothalamus and amygdala. *Brain Res.*, 631: 304-312.
- Lisk, RD. (1967) Neural localization for androgen activation of copulatory behavior in the male rat. *Endocrinology*, 80: 754-761.
- Liu, Y. C., Salamone, J. D., Sachs, B. D. (1997). Lesions in medial preoptic area and bed nucleus of the stria terminalis: differential effects on copulatory behavior and noncontact erection in male rats. *J. Neurosci.*, 17: 5245-5253.

- MacDonald, P. C., Madden, J. D., Brenner, P. F., Wilson, J. D., Siiteri, P. K. (1979). Origin of estrogen in normal men and in men with testicular feminization. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 49: 905-916.
- Malsbury, C. W. (1971). Facilitation of male rat copulatory behavior by electrical stimulation of the medial preoptic area. *Physiol. Behav.*, 7: 797-805.
- Mas, M., Fumero, B., Fernandez-Vera, J. R., Gonzales-Mora, J. L. (1995). Neurochemical correlates of sexual exhaustion and recovery as assessed by in vivo microdialysis. *Brain Research*, 675: 13-19.
- Mathews, D., Donovan, K. M., Hollingsworth, E. M., Hutson, V. B., Overstreet, C. T. (1983). Permanent deficits in lordosis behavior in female rats with lesions of the ventromedial nucleus of the hypothalamus. *Exp. Neurol.*, 79: 714-719.
- Mc Connell, S., Baum, M., Badger, T. (1981). Lack of correlation between naloxone-induced changes in sexual behavior and serum LH in male rats. *Horm. Behav.*, 15: 16-35.
- McGinnis, M. Y., Dreifuss, R. M. (1989). Evidence for a role of testosterone–androgen receptor interactions in mediating masculine sexual behavior in male rats. *Endocrinology*, 124: 618–626.
- McGinnis, M. Y., Montana, R. C., Lumia, A. R. (2002). Effects of hydroxyflutamide in the medial preoptic area or lateral septum on reproductive behaviors in male rats. *Brain. Res. Bull.*, 59: 227-34.
- McIntosh, T. K., Vallano, M. L., Barfield, R. J. (1980). Effects of morphine, β -endorphin and naloxone on catecholamine levels and sexual behaviour in the male rat. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 13: 435-441.

- Meisel, R. L. (1983). Recovery of masculine copulatory behavior from lesions of the medial preoptic area: effects of age versus hormonal state. *Behav. Neurosci.*, 97: 785-793.
- Menard, C. S., Harlan, R. E. (1993) Up-regulation of androgen receptor immunoreactivity in the brain by adrenogenic-anabolic steroids. *Brain Res.*, 622: 226-236
- Monaghan, D. T., Bridges, R. J., Cotman, C. W. (1989). The excitatory amino acid receptors: their classes, pharmacology, and distinct properties in the function of the central nervous system. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.*, 29: 365-402
- Moralí, G., Hernández, G., Beyer, C. (1986). Restoration of the copulatory pelvic thrusting pattern in castrated male rats by the intracerebral implantation of androgen. *Physiol. Behav.*, 36: 495-499.
- Mowszowicz, I., Stamatiadis, D., Wright, F., Kuttann, F., Mauvais-Jarvis, P. (1989). Androgen receptor in sexual differentiation. *J. Steroid Biochem.*, 32: 157-162.
- Nakanishi, S. (1992) Molecular diversity of glutamate receptors and implications for brain function. *Science*, 258: 597-603
- Nef, S., Parada, L. F. (1999). Cryptorchidism in mice mutant for *Insl3*. *Nat. Genet.* 22: 295–299.
- Newman, S. W. (1999). The medial extended amygdala in male reproductive behavior. A node in the mammalian social behavior network. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 877: 242-257.
- Ozawa, S., Kama, G., & Tsuzuki, D. (1998). Glutamate receptors in the mammalian central nervous System. *Progress in Neurobiology*, 54: 863-870
- Paredes, R. G., Baum, M. J. (1997). Role of the medial preoptic area/anterior hypothalamus in the control of masculine sexual behavior. *Annu. Rev. Sex Res.*, 8: 68-101.

- Park, D. J., West, A. R. (2009). Regulation of striatal nitric oxide synthesis by local dopamine and glutamate interactions. *Journal of Neurochemistry*, 111: 1457-1465
- Pechnick, R. N., Bresee, C. J., Poland, R. E. (2006). The role of antagonism of NMDA receptor-mediated neurotransmission and inhibition of the dopamine reuptake in the neuroendocrine effects of phencyclidine. *Life Sci*, 78: 2006-2011.
- Peeters, M., Giuliano, F. (2008). Central neurophysiology and dopaminergic control of ejaculation. *Neuroscience and Biobehavioral reviews*, 32: 438-453
- Pfaus, J. G., Damsma, G., Nomikos, G. G., Wenkstern, D. G., Blaha, C. D., Phillips, A. G., Fibiger, H. C. (1990). Sexual behavior enhances central dopamine transmission in the male rat. *Brain Res.*, 530: 345-348.
- Pfaus, J. G., Gorzalka, B. B. (1987). Opioids and sexual behavior. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 11: 1-34.
- Phillips-Farfán, B. V. (2007). Participación de regiones cerebrales, estrógenos y su receptor tipo alfa en la saciedad sexual. Tesis de doctorado en ciencias. Coordinador: Dr. José Alonso Fernández-Guasti. Departamento de Farmacobiología. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional. México D. F.
- Phillips-Farfán, B. V., Fernández-Guasti, A. (2009). Endocrine, neural and pharmacological aspects of sexual satiety in male rats. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 33: 442-455.
- Phillips-Farfán, B. V., Lemus, A. E., Fernández-Guasti, A. (2007). Increased estrogen receptor alpha immunoreactivity in the forebrain of sexually satiated rats. *Horm. Behav.*, 51: 328-334.

- Pi, X., Grattan, D. R. (1999). Expression of prolactin receptor mRNA is increased in the preoptic area of lactating rats. *Endocrine*, 11: 91-98.
- Powell, W. S., Domínguez, J. M., Hull, E. M. (2003). An NMDA antagonist impairs copulation and the experience-induced enhancement of male sexual behavior in the rat. *Behav. Neurosci.*, 117: 69-75
- Powers, J. B., Newman, S. W., Bergondy, M. L. (1987). MPOA and BNST lesions in male Syrian hamsters: differential effects on copulatory and chemoinvestigatory behavior. *Behav. Brain Res.*, 23: 181-195.
- Portillo, W., Paredes, R. G. (2004). Sexual incentive motivation, olfactory preference, and activation of the vomeronasal projection pathway by sexually relevant cues in non-copulating and naive male rats. *Horm. Behav.*, 46: 330-340.
- Prins, G. S., Birch, L., Greene, G. L (1991). Androgen receptor localization in different cell types of the adult rat prostate. *Endocrinology*, 129: 3187-3199.
- Putnam, S. D., Du, J., Sato, S., Hull, E. M. (2001). Testosterone restoration of copulatory behavior correlates with medial preoptic dopamine release in castrated male rats. *Hormones and behavior*. 39: 216-224.
- Putnam, S- K., Sato, S., Hull, E. M. (2003). Hormonal maintenance of copulation in castrates: association with extracellular dopamine in MPOA. *Horm. Behav.* 44: 419-426
- Quarmby, V. E., Yarbrough, W. G., Lubahn, D. B. French, F. S., Wilson, E. M. (1990). Autologous down-regulation of androgen receptor messenger ribonucleic acid. *Mol. Endocrinol.*, 4: 22-28.
- Rodríguez-Manzo, G. (1996). Caracterización de la participación de diferentes sistemas de neurotransmisión en la saciedad sexual.

Tesis de doctorado en ciencias. Coordinador: Dr. José Alonso Fernández-Guasti. Departamento de Farmacología y Toxicología. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politecnico Nacional. México D. F.

- Rodríguez-Manzo, G. (1999). Yohimbine interacts with the dopaminergic system to reverse sexual satiation: further evidence for a role of sexual motivation in sexual exhaustion. *Eur. J. Pharmacol*, 372: 1-8.
- Rodríguez-Manzo, G., Asai, M., Fernandez-Guasti, A. (2002). Evidence for changes in brain enkephalin contents associated to male rat sexual activity. *Behav. Brain Res.*, 131: 47-55.
- Rodríguez-Manzo, G., Fernández-Guasti, A. (1994). Reversal of sexual exhaustion by serotonergic and noradrenergic agents. *Behav. Brain Res.*, 62: 127- 134.
- Rodríguez-Manzo, G., Fernández-Guasti, A. (1995). Participation of the central noradrenergic system in the reestablishment of copulatory behavior of sexually exhausted rats by yohimbine, naloxone, and 8-OH-DPAT. *Brain Res. Bull.*, 38(4): 399-404.
- Rodríguez-Manzo, G., Fernández-Guasti, A. (1995a). Saciedad sexual. Temas Selectos de Neurociencias. Editor: Javier Velásquez Moctezuma. Universidad Autónoma Metropolitana. Primera edición
- Rodríguez-Manzo, G., Fernández-Guasti, A. (1995b). Opioid antagonists and the sexual satiation phenomenon. *Psychopharmacology*, 122: 131-136.
- Rodríguez-Manzo, G., Pellicer, F., Larsson, K., Fernández-Guasti, A. (2000). Stimulation of the medial preoptic area facilitates sexual behavior but does not reverse sexual satiation. *Behav. Neurosci.*, 114: 553-60.
- Romano-Torres, M., Phillips-Farfán, B. V., Chavira, R., Rodríguez-Manzo, G., Fernández-Guasti, A. (2007). Relationship between

- Roselli, C. E., Resko, J. A. (1997). Sex difference in androgen-regulated expression of cytochrome P450 aromatase in the brain. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 61: 365-374.
- Sachs, B. D., Meisel, R. L. (1988). The Physiology of Male Sexual Behavior. In: The Physiology of Reproduction, volume 2. Edited by Knobil E., Neill J. D. y cols. Raven Press, Ltd., New York. pp 1393-1485.
- Sato, S. M., Braham, C. S., Putman, S. K., Hull, E. M. (2005). Neuronal nitric oxide synthase and gonadal steroid interaction in the MPOA of male rats: Co-localization and testosterone-induced restoration of copulation and nNOS-immunoreactivity. *Brain research*, 1043: 205-213
- Sato, S. M., Hull, E. M. (2006). The nitric oxide-guanosine 3',5'-cyclic monophosphate pathway regulates dopamine efflux in the media preoptic area and copulation in male rats. *Neuroscience*, 139: 417-428.
- Schulkin, J. (1999). Neuroendocrine Regulation of Behavior. *Cambridge University Press*.
- Segovia, S., Guillamon, A. (1993). Sexual dimorphism in the vomeronasal pathway and sex differences in reproductive behaviors. *Brain Res. Brain Res. Rev.*, 18: 51-74.
- Simerly, R. B., Chang, c., Muramatsu, M., Swanson, I. W. (1990). Distribution of androgen and estrogen receptor mRNA-containing cells in the rat: an *in situ* hybridization study. *J. Comp. Neurol.*, 294: 76-95.
- Simerly, F. B., Swanson, L. W. (1986). The organization of neural inputs to the medial preoptic núcleo of the rat. *J. Com- Neurol.*, 246: 312-342

- Simerly, R. B., Swanson, L. W. (1988). Projections of the medial preoptic nucleus: a *Phaseolis vulgaris* leucoagglutinin anterograde tract-tracing study in the rat. *J. Comp. Neurol.*, 270: 209-242
- Stack E. C., Balakrishnan R., Numan M. J., Numan M. (2002). A functional neuroanatomical investigation of the role of the medial preoptic area in neural circuits regulating maternal behavior. *Behav. Brain Res.*, 131: 17-36.
- Snyder, G. D., Holmes, R. W., Bates, J. N. Van Voorhis, B. J (1996). Nitric oxide inhibits aromatase activity: mechanisms of action. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 58: 63-69
- Snyder, P. J. (2001). Androgens. In: Goodman and Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics. Eds.: Hardman J. G. y Limbird L. E. McGrawG-Hill (Ed). 10a (ed). pp 1635-1648.
- White, W. F., Nadler, J. V., Hamberger, A., Cotman, C. W., & Cummins, J. T. (1977). Glutamate as transmitter of hippocampal perforant path. *Nature*, 270: 356-357
- Wilbert, D. M., Griffin, J. E., Wilson, J. D. (1983). Characterization of the cytosol androgen receptor of the human prostate. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 56: 113-120.
- Wilson, C., Kuehn, R. E., Beach, F. A. (1963). Modification in the sexual behaviour of male rats produced by changing the stimulus female. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 56: 636-644.
- Wilson, J. R., Normikos, G. G., Collu, M., Fibiger, H. C. (1995). Dopaminergic correlates of motivated behavior, importance of drive. *J. Neurosci.*, 15: 5169-5178.
- Xiao, L., Jordan, C. L. (2002). Sex differences, laterality, and hormonal regulation of androgen receptor immunoreactivity in rat hippocampus. *Horm. Behav.*, 42: 327-336.

- Zimmermann, S., Steding, G., Emmen, J. M., Brinkmann, A. O., Nayernia, K., Holstein, A. F., Engel, W., Adham, I. M. (1999). Targeted disruption of the *Insl3* gene causes bilateral cryptorchidism. *Mol. Endocrinol.*, 13: 681–691.
- Zhang, Z., Burch, P. E., Cooney, A. J., Lanz, R. B., Pereira, F. A., Wu, J., Gibbs, R. A., Weinstock, G., Wheeler, D. (2004). Genomic analysis of nuclear receptor family: New insights into structure, regulation, and evolution from the rat genome. *Genome Research*, 14(4): 580-590.
- <http://www.r-project.org>
- <http://www.ifc.unam.mx/genarise>
- <http://babelomics.bioinfo.cipf.es/>
- <http://biryani.med.yale.edu/karma/cgi-bin/mysql/karma.pl>