



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
PUEBLA

INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA

**PAPEL DEL CUIDADO MATERNO EN LA
CONDUCTA SEXUAL MASCULINA EN RATAS
DE ALTO (HY) Y BAJO (LY) BOSTEZO Y
SPRAGUE-DAWLEY**

Tesis para obtener el título de:

DOCTORA EN CIENCIAS FISIOLÓGICAS

PRESENTA:

M. C. MARÍA DE LOS ÁNGELES DORANTES NIETO

DIRECTORES:

D. C. JOSÉ RAMÓN EGUIBAR CUENCA

D. C. MA. DEL CARMEN CORTÉS CUENCA



NOVIEMBRE/2019

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	6
RESUMEN	8
ABSTRACT	12
1 INTRODUCCIÓN	16
1.1 LA CONDUCTA DEL BOSTEZO	16
1.2 LA CONDUCTA MATERNA	25
1.3 LA CONDUCTA MATERNA DE LA RATA DE LABORATORIO.....	25
1.4 REGULACIÓN NEUROENDÓCRINA DE LA CONDUCTA MATERNA.....	29
1.5 LAS HORMONAS Y LA CONDUCTA MATERNA	31
1.6 LA CONDUCTA SEXUAL MASCULINA	33
1.7 LA CONDUCTA SEXUAL MASCULINA DE LA RATA NORUEGA ALBINA DE LABORATORIO (<i>Rattus novergicus</i>).....	42
1.8 EL ÁREA PREÓPTICA MEDIAL	52
1.9 EL COMPLEJO ENZIMÁTICO DE LA AROMATASA Y LA CONDUCTA SEXUAL MASCULINA	54
1.10 LA DIFERENCIACIÓN SEXUAL DEL CEREBRO EN LA RATA ALBINA DE LABORATORIO.	60
1.11 EL PATRÓN COPULATORIO EN GRUPOS RATAS MACHO DIFIERE AL EVALUAR GRANDES POBLACIONES.....	66
1.12 LAS ERECCIONES DEL PENE Y SU REGULACIÓN DOPAMINÉRGICA EN LA RATA ALBINA DE LABORATORIO	70
1.12.1 TIPOS DE ERECCIONES EN LA RATA MACHO	76
1.12.2 EL NÚCLEO PARAVENTRICULAR DEL HIPOTÁLAMO Y LOS PRINCIPALES NEUROTRANSMISORES INVOLUCRADOS EN LAS ERECCIONES DEL PENE.....	79
1.12.3 LA DOPAMINA Y LAS ERECCIONES DEL PENE	79
2 ANTECEDENTES	82
2.1 LAS RATAS HY Y LY COMO UN MODELO DE DESORGANIZACIÓN DEL PATRÓN COPULATORIO	82
2.1.1 LAS RATAS HY Y SU FRECUENCIA DE BOSTEZO	82

2.1.2	CORRELACIÓN ENTRE EL BOSTEZO Y LA ERECCIÓN DEL PENE ESPONTÁNEA E INDUCIDA POR AGENTES DOPAMINÉRGICOS.....	83
2.1.3	PATRÓN COPULATORIO EN RATAS HY Y LY	83
2.2	LOS CUIDADOS MATERNOS Y SU IMPACTO SOBRE EL PATRÓN COPULATORIO	90
3	JUSTIFICACIÓN.....	93
4	HIPOTESIS	94
5	OBJETIVOS.....	95
5.1	OBJETIVO GENERAL.....	95
5.2	OBJETIVOS PARTICULARES	95
6	ESQUEMA GENERAL DE TRABAJO	96
7	METODOLOGÍA	97
7.1	CONDICIONES GENERALES.....	97
7.2	INTERCAMBIO DE CAMADAS	97
7.2.1	APAREAMIENTO	97
7.2.2	PREÑEZ Y PREPARACIÓN DE LAS MADRES PARA EL INTERCAMBIO DE CAMADAS	97
7.2.3	INTERCAMBIO DE CRÍAS Y OBSERVACIÓN DE LA CONDUCTA DE LAS MADRES	98
7.3	REGISTRO DEL BOSTEZO Y LAS ERECCIONES ESPONTÁNEAS DEL PENE	101
7.4	REGISTRO DEL BOSTEZO, LAS ERECCIONES DEL PENE, ASEOS Y RASCADOS BAJO EL EFECTO DEL (-)-QUINPIROLE	101
7.5	DETERMINACIÓN DEL DESEMPEÑO SEXUAL	102
7.5.1	PRUEBAS DE CÓPULA.....	102
7.6	DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES PROTEICOS DE LA ENZIMA AROMATASA POR WESTERN BLOT	103
7.7	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	104
7.7.1	CONDUCTA MATERNA.....	104
7.7.2	CONDUCTAS BASALES.....	105
7.7.3	CONDUCTAS BAJO EL EFECTO DEL QUINPIROLE	105
7.7.4	CONDUCTA SEXUAL	106
8	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	108

8.1	RESULTADOS DEL EXPERIMENTO 1: EVALUACIÓN DE LA CONDUCTA MATERNA	108
8.2	DISCUSIÓN DEL EXPERIMENTO 1	112
8.3	RESULTADOS DEL EXPERIMENTO 2: EFECTO DEL CUIDADO MATERNO SOBRE LAS CONDUCTAS BASALES BOSTEZOS Y ERECCIONES ESPONTÁNEAS DEL PENE.....	116
8.3.1	FRECUENCIA DE BOSTEZO ESPONTÁNEO	116
8.3.2	ERECCIONES ESPONTÁNEAS DEL PENE.....	117
8.3.3	EPISODIOS DE ASEO.....	118
8.3.4	FRECUENCIA DE RASCADOS.....	119
8.4	DISCUSIÓN DEL EXPERIMENTO 2	120
8.5	RESULTADOS DEL EXPERIMENTO 3: EFECTO DEL CUIDADO MATERNO SOBRE LA RESPUESTA DE LAS CONDUCTAS DE ERECCIONES DEL PENE, BOSTEZOS, ASEOS Y RASCADOS AL AGONISTA DOPAMINÉRGICO QUINPIROLE	124
8.5.1	BOSTEZO	124
8.5.2	ERECCIONES DEL PENE	126
8.5.3	EPISODIOS DE ASEO.....	128
8.5.4	RASCADO	130
8.6	DISCUSIÓN DEL EXPERIMENTO 3	133
8.7	RESULTADOS DEL EXPERIMENTO 4: EFECTO DEL CUIDADO MATERNO SOBRE EN LA CONDUCTA SEXUAL MASCULINA.....	141
8.7.1	CONDUCTA SEXUAL MASCULINA DE LAS RATAS SPRAGUE-DAWLEY, Y DE LAS SUBLÍNEAS DE ALTO Y BAJO BOSTEZO SIN INTERCAMBIO DE CAMADAS.....	141
8.7.2	PORCENTAJE DE NO COPULADORES, COPULADORES LENTOS, COPULADORES PROMEDIO Y COPULADORES PRECOCES EN RATAS SD, LY Y HY SIN INTERCAMBIO DE CAMADAS.....	145
8.7.3	EFECTO DEL CUIDADO MATERNO SOBRE LA PROPORCIÓN DE NO COPULADORES, COPULADORES LENTOS, COPULADORES PROMEDIO Y PRECOCES.....	146
8.7.4	EXPRESIÓN DE LA ENZIMA AROMATASA DEL HIPOTÁLAMO DE NO COPULADORAS, COPULADORAS LENTAS, COPULADORAS PROMEDIO Y PRECOCES EN RATAS SD, LY Y HY SIN INTERCAMBIO DE CAMADAS.	151
8.7.5	EFECTO DEL CUIDADO MATERNO SOBRE LOS COMPONENTES DE LA CONDUCTA SEXUAL MASCULINA.....	153
8.8	DISCUSIÓN DEL EXPERIMENTO 4	161
9	DISCUSIÓN GENERAL	165
10	CONCLUSIONES	168
11	BIBLIOGRAFÍA	169

La presente tesis se realizó con el apoyo de CONACYT, beca para Doctorado No. 164220. También se contó con apoyos vía proyectos de la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado, área de la salud 2015, 2016, 2017, 2018 y 2019; y CONACyT No. 243247 y 243333 a favor de los Dres. José Ramón Eguibar Cuenca y Ma. del Carmen Cortés Sánchez.

Agradecimientos

A mis tutores, el Dr. José Ramón Eguibar Cuenca y a la Dra. María del Carmen Cortés Sánchez, por su dedicación, responsabilidad, asertividad y por el apoyo recibido en cada momento.

A la M. en C. Araceli Ugarte y al M.V.Z. Omar Isidro Maldonado, integrantes del Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor, quienes más allá de su trabajo, me brindaron su amistad, enseñanza y apoyo desinteresado para la realización de esta tesis.

A mis revisores: Dr. Alejandro Clemente Moyaho Martínez, Dr. Gonzalo Flores Álvarez, Dr. Julio César Morales Medina y al Dr. Raúl Gerardo Paredes Guerrero, por las acertadas observaciones que permitieron mejorar y enriquecer todos los aspectos de la tesis.

Al Psicólogo Héctor Alejandro Cepeda Freire por solidaridad y entusiasmo al realizar el análisis estadístico del presente trabajo, además de su amistad y consejo.

A la Psicóloga Sandra Luz Rugerio Rojas por su, solidaridad, entusiasmo, amistad y por el apoyo recibido en la realización de los diversos experimentos del presente trabajo.

A la M. C. Lilia Días Espinosa por su amistad y ayuda en varias actividades y experimentos.

A la Dra. María de los Ángeles Carrasco Ruíz por su amistad y por la realización de los experimentos de Western blot.

A Karely Espinoza por su apoyo en los últimos experimentos.

A Doña Emma Aguas Villegas por alimentarme a mi familia y a mí durante la realización de este proyecto y de tratarme como a una hija.

A mis compañeros de laboratorio.

Dedico esta tesis a mi hijo y a mi madre.

De niña leía fascinada acerca de los seres vivos que pablaban la selva amazónica, seres extraordinarios, la vida parecía maravillosa, hoy tristemente está desapareciendo, ¿la vida humana tiene algún sentido?

RESUMEN

Las ratas Sprague-Dawley (SD), y las sublíneas endogámicas de alto y bajo bostezo, HY y LY (de sus siglas en inglés high-yawning y low-yawning, respectivamente), en diversos estudios han mostrado diferencias en el despliegue de varias conductas. En una investigación previa acerca de la conducta materna, las ratas SD dedicaron más tiempo a permanecer el nido y menos tiempo a su autoaseo respecto a las madres HY y LY. Además, las madres HY realizaron más acarreo atípicos y construyeron nidos de mala calidad respecto a las madres SD y LY. En otros reportes, los machos SD, LY y HY han mostrado diferencias significativas en la frecuencia de bostezo basal, erecciones espontáneas del pene y episodios de aseo en un ambiente novedoso y bajo el efecto de la administración sistémica de agonistas dopaminérgicos como el (-)-quinpirole. Finalmente se reportó que varios componentes de la conducta sexual masculina obtuvieron diferencias significativas en los tres grupos de ratas, en el cual las ratas macho SD mostraron mejor desempeño sexual desde de la 1ª sesión de cópula y mejoraron con la experiencia sexual, a diferencia de las ratas macho HY, en las cuales ya se había observado que presentan un número mayor de no copuladores respecto a las ratas SD y LY. Estas diferencias entre las sublíneas pueden estar, al menos parcialmente, originadas por la calidad y cantidad del cuidado que proveen las madres de los tres grupos de ratas.

Con lo anterior nos dimos a la tarea en evaluar el papel de la conducta materna sobre el bostezo basal, los episodios de aseo y las erecciones del pene espontáneas e inducidas con la administración sistémica de (-)-quinpirole y la conducta sexual masculina en los tres grupos de ratas. Además, nos dimos a la tarea de medir la proporción de machos no copuladores, copuladores lentos, copuladores promedio y precoces en los machos SD, LY y

HY sin intercambio de camadas (controles) y los niveles de expresión de la enzima aromatasa en cada tipo de copulador. Posteriormente medimos si la proporción de cada tipo de macho se modificaba en función del cuidado materno recibido.

Se obtuvieron hembras preñadas de los tres grupos de ratas, al parir se realizó un intercambio de camadas entre madres del mismo o diferente grupo de ratas, se evaluó la conducta materna en los días 1, 3, 5 y 7 postparto, a los machos descendientes de esos intercambios y a los machos control se les registró el bostezo basal, los episodios de aseo y erecciones espontáneas del pene a los 60 días de edad, a los 90 días de edad a algunos de esos machos se les registraron esas mismas conductas pero bajo el efecto de varias dosis sistémicas de (-)-quinpirole y a otros machos se les evaluó la conducta sexual masculina en cuatro pruebas de cópula de 30 min cada 72 horas. Una semana después de terminados los experimentos se sacrificaron a los machos y se disecó el cerebro para obtener estructuras como el hipotálamo y la corteza prefrontal las cuales fueron conservadas a -80 °C, posteriormente se midió la expresión de la enzima aromatasa con Western blot en el hipotálamo en los diferentes tipos de copuladores en los machos control.

Los resultados obtenidos mostraron que la conducta de bostezo, los episodios de aseo y erecciones del pene espontáneas no fueron sensibles al cuidado materno, tampoco las respuestas conductuales al (-)-quinpirole. Por lo que estas conductas y la sensibilidad al agonista dopaminérgico D₂ puede estar determinado a factores genéticos, ya que por lo menos el ambiente materno no tiene efecto en estas conductas.

La conducta sexual masculina fue muy sensible al intercambio de camadas, ya que la latencia y número de montas e intromisiones se modificaron significativamente debido

principalmente al proceso de adopción más que por el tipo de madre que crio a los machos, estas diferencias fueron significativamente más notorias en los machos LY.

La proporción de cada tipo de copulador fue significativamente diferente en los machos de los tres grupos de ratas criados por sus madres biológicas. La proporción de los machos con una latencia de eyaculación promedio fue más alta en la cepa SD, los machos con una latencia de eyaculación lenta fue más alta en la sublínea LY; y los machos no copuladores y machos con latencia de eyaculación precoz fue más alta en la sublínea HY. La expresión de la enzima aromatasa fue significativamente mayor en los copuladores lentos SD respecto a los copuladores promedio SD. No se encontraron diferencias significativas en la expresión de la enzima aromatasa de los diferentes tipos de copuladores en la sublínea LY y HY, por lo que la diferencia en la latencia de eyaculación de los diferentes tipos de copuladores en las dos sublíneas puede deberse a diferencias en la expresión del receptor para estrógenos alfa y/o a diferencias en la expresión del receptor para andrógenos o para progesterona a nivel del área preóptica medial o a nivel de otras estructuras involucradas en la regulación de la conducta sexual masculina como la amígdala y el bulbo olfatorio. También se podrían hallar diferencias en el tono dopaminérgico en la corteza prefrontal medial y otras diferencias neurofisiológicas en otros sitios integradores de la conducta sexual masculina como el núcleo paraventricular del hipotálamo, el hipotálamo lateral y el hipotálamo ventromedial.

Los machos SD no cambiaron de manera significativa la proporción de cada tipo de macho debido al tipo de madre que los crio, ni debido a la adopción. No se obtuvieron no copuladores en los machos LY control, pero cuando fueron criados por madres SD y madres adoptivas LY la proporción de no copuladores fue mayor al 40% y la proporción de

copuladores promedio disminuyó de un 54% a menos del 8%, de manera interesante, cuando los machos LY fueron criados por madres HY la proporción de cada tipo de copulador fue similar al de los LY control con un ligero incremento de los machos precoces. En la sublínea HY no hubo un cambio significativo en la proporción de cada tipo de copulador en función del tipo de madre que los crio a los machos, aunque hubo una tendencia en el incremento de los machos copuladores promedio y precoces debido a la adopción. Nuestros resultados muestran que los machos LY fueron sensibles al cambio de madre. Esta mayor sensibilidad de los machos LY puede deberse a que presentan un fenotipo ansioso, en un trabajo previo se obtuvo que los machos LY exploran menos en el campo abierto, la caja luz-oscuridad y el laberinto en cruz elevado respecto a los SD y HY, Además los machos LY presentan una mayor concentración de corticosterona en suero sanguíneo ante un estresor que los otros dos grupos de ratas. Las ratas HY parecen tener un fenotipo resiliente, ya que suelen explorar más el compartimento iluminado de la caja luz oscuridad y los brazos abierto del laberinto en cruz elevado, además de tener una mejor memoria espacial respecto a las LY.

ABSTRACT

The Sprague-Dawley (SD) rats, and the high and low yawning inbred sublines, HY and LY (high and low yawning, respectively), in various studies have shown differences in the deployment of various behaviors. In a previous investigation of maternal behavior, SD dams spent more time staying in the nest and less time in their self-grooming compared to HY and LY dams. In addition, HY dams had more atypical retrievings and built poor quality nests compared to SD and LY dams. In other reports, males SD, LY and HY have shown significant differences in the frequency of basal yawning, spontaneous penile erections and grooming episodes in a novel environment and under the effect of systemic administration of dopamine agonists such as (-)-quinpirole. Finally, it was reported that several components of male sexual behavior obtained significant differences in the three groups of rats, in which SD male rats showed better sexual performance since the 1st copulatory session and improved with sexual experience, unlike HY male rats, in which it had already been observed that they present a greater number of non-copulators with respect to SD and LY rats. These differences between the sublines may be, at least partially, caused by the quality and quantity of care provided by the mothers of the three groups of rats.

With the above we set out to evaluate the role of maternal behavior on basal yawning, episodes of grooming and spontaneous penile erections or induced by the systemic administration of (-)-quinpirole and male sexual behavior in the three groups of rats. In addition, we were given the task of measuring the proportion of non-copulators, sluggish copulators, average and rapid copulators in SD, LY and HY males without cross-fostering and in-fostering manipulation and the aromatase enzyme expression levels in each type of

copulator. Later we measured if the proportion of each type of male was modified according to the maternal care received.

Pregnant females were obtained from the three groups of rats, when giving birth it was carried out the in-fostering and cross-fostering of litters, the maternal behavior was evaluated on days 1, 3, 5 and 7 postpartum. The male descendants of these infostering and crossfostering and the control males (without in or crossfostering) were registered basal yawning, episodes of grooming and spontaneous erections of the penis at 60 days of age, at 90 days of age some of those males were recorded the same behaviors but under the effect of several systemic doses of (-)-quinpirole and other males were evaluated for sexual behavior in four 30-minute copulatory tests every 72 hours. A week later the males were sacrificed and the brain was dissected to obtain structures such as the hypothalamus and prefrontal cortex which were stored at -80 °C, subsequently the expression of the aromatase enzyme with Western blot was measured in the hypothalamus in the different types of copulators in the control males.

The results obtained showed that yawning behavior, grooming episodes and spontaneous penile erections were not sensitive to maternal care, nor were behavioral responses to (-)-quinpirole. Therefore, this behaviors and the sensitivity to the D₂ dopamine agonist may be determined to genetic factors, since at least the maternal environment has no effect on these behaviors.

Male sexual behavior was very sensitive to cross and in-fostering, since the latency and number of mounts and intromissions were significantly modified mainly due to the

adoption process rather than the type of mother who raised the males, these differences were significantly more noticeable in males LY.

The proportion of each type of copulator was significantly different in the males of the three groups of rats raised by their biological mothers. The proportion of males with an average ejaculation latency was higher in the SD strain, males with a slow ejaculation latency was higher in the LY subline and non-copulatory males and males with rapid ejaculation latency was higher in the HY subline. The aromatase enzyme expression was significantly higher in the sluggish SD males compared to the average SD copulators. No significant differences were found in the expression of the aromatase enzyme of the different types of copulators in the LY and HY subline, so the difference in ejaculation latency of the different types of copulators in the two sublines may be due to differences in alpha estrogen receptor expression and/or differences in androgen or progesterone receptor expression at the level of the medial preoptic area or at the level of other structures involved in the regulation of male sexual behavior such as the amygdala and the olfactory bulb. Differences in the dopaminergic tone in the medial prefrontal cortex and other neurophysiological differences could also be found in other sites integrating male sexual behavior such as the paraventricular nucleus of the hypothalamus, the lateral hypothalamus and the ventromedial hypothalamus.

SD males did not significantly change the proportion of each type of copulators due to the type of mother that raised them, nor due to adoption. Non-copulators weren't obtained in the LY control males, but when they were raised by SD mothers and LY adoptive mothers the proportion of non-copulators was greater than 40% and the average copulators proportion decreased from 54% to less than 8%, of Interestingly, when LY males were

raised by HY mothers, the proportion of each type of copulator was similar to that of the LY control with a slight increase in rapid copulators. In the HY subline there was no significant change in the proportion of each type of copulator depending on the type of mother that raised them to the males, although there was a tendency in the increase of the average and rapid copulators due to adoption. Our results show that the LY were sensitive to the change of dam.

This greater sensitivity of the LY males may be due to the fact that they have an anxious phenotype, in a previous work it was obtained that the LY males explore less in the open field maze, the light-dark box and elevated plus maze with respect to the SD and HY. In addition, LY males have a higher concentration of corticosterone in blood serum after a stressor than the other two groups of rats. HY rats appear to have a resilient phenotype, as they tend to further explore the illuminated compartment of the dark light box and the open arms of the elevated plus maze, in addition to having a better spatial memory with respect to LY.

1 INTRODUCCIÓN

1.1 LA CONDUCTA DEL BOSTEZO

La conducta de bostezo es el fenotipo en base el cual han sido seleccionadas por endogamia las ratas HY y LY a partir de la cepa Sprague-Dawley, por lo que es importante iniciar este escrito describiendo esta conducta (Urbá-Holmgren et al., 1990).

El bostezo es un comportamiento filogenéticamente antiguo mantenido a lo largo de la evolución y con poca variación, que se puede observar en la mayoría de las especies de vertebrados desde las etapas fetales hasta la vejez, por lo que se considera ontogenéticamente primitivo (Guggisberg et al., 2010; Walusinski, 2013). El origen y la función de este fenómeno conspicuo ha estado sujeto a especulaciones durante siglos (Guggisberg et al., 2010).

El bostezo es altamente estereotipado y se inicia con una amplia abertura de la boca con una inspiración amplia, lenta y profunda, seguida de una breve interrupción de los flujos de ventilación una vez que el tórax está lleno (el llamado estado acmé, que a menudo se acompaña de estiramiento de las extremidades y oclusión ocular) y concluye con una corta expiración, acompañada por la relajación de todos los músculos participantes (Collins y Eguibar, 2010; Walusinski, 2013; véase Figura 1).

Se ha demostrado claramente la influencia de los ritmos circadianos en la frecuencia de los bostezos, en los seres humanos el bostezo ocurre con más frecuencia temprano en la mañana y al final de la tarde, cerca del inicio del sueño y después del despertar, y puede estar relacionado con la propensión al sueño (Zilli et al., 2007). En las ratas HY la frecuencia de bostezo es más alta justo antes de la fase oscura tanto con luz natural como

artificial (véase Figura 2; Anías et al, 1984). El pico en el bostezo desapareció cuando las ratas fueron sometidas a condiciones de luz constante, lo que sugiere que este patrón de bostezo no se genera de manera endógena (Anías et al, 1984). Curiosamente, cuando estas ratas fueron sometidas a un horario de alimentación restringido de solo 2 h por día, se observó un aumento significativo en el bostezo justo antes de la alimentación, lo que sugiere que la anticipación de los alimentos es capaz de funcionar como un zeitgeber para la regulación circadiana de bostezo (Holmgren et al., 1991). Se han reportado casos similares de bostezos anticipatorios justo antes de alimentarse en animales del zoológico, como carnívoros, peces y monos, así como en hienas salvajes, que bostezan repetidamente mientras circundan a un animal muerto justo antes de comerlo (Collins y Eguibar, 2010). Estos picos en el bostezo se correlacionan con el aumento de los niveles de corticoides (Collins y Eguibar, 2010), un estudio con ratas Wistar ha demostrado la importancia de estas hormonas del estrés, en el cual las ratas adrenalectomizadas no bostezaron y la inyección de dexametasona restituyó la frecuencia normal de bostezo (Anías-Calderón et al., 2004).

Se han clasificado a los bostezos en diferentes tipos:

“Bostezo universal”, el cual es visto en casi todos los vertebrados, es asociado con el sueño y el despertar, el hambre y la saciedad (Giganti et al., 2010; Giganti y Salzarulo, 2010; Walusinski, 2013).

“Bostezo emocional”, el cual se ha observado sólo en algunos mamíferos (Walusinski, 2013). En los mamíferos, se ha observado que más del 90% de los bostezos ocurren en reposo, mientras que los bostezos restantes parecen ser provocados por estímulos sociales o

emocionales (Guggisberg et al., 2010; Walusinski, 2013). Este es el bostezo que ayuda a apaciguar después del estrés. Los perros en situaciones veterinarias o los chimpancés enjaulados bostezan con más frecuencia que en momentos sin estrés (Walusinski, 2013). Los etólogos llaman a este tipo de comportamiento una actividad de desplazamiento (Walusinski, 2013). En humanos, los atletas bostezan repetidamente antes de las competencias, al igual que los paracaidistas antes de saltar, y los actores antes de actuar (Walusinski, 2013). En estos casos, bostezar tiene un efecto calmante y antiestrés. Esto podría explicar por qué los profesores de yoga usan bostezar para relajar a sus alumnos (Walusinski, 2013). Un tipo de bostezo relacionado es el asociado con la sexualidad en macacos machos dominantes, que bostezan repetidamente antes de aparearse, para dar a conocer su estado dentro del grupo (Beckmann y Zimmer, 1981; Maestripieri et al., 1992; Walusinski, 2013).

"Bostezo contagioso", que se observa solo en los grandes simios y humanos que muestran una teoría de la mente (Walusinski, 2013). Esta capacidad de responder al bostezo de otros está ausente en personas autistas (Walusinski, 2013). La imagenología funcional muestra la activación de las mismas estructuras cerebrales que las utilizadas para decodificar la empatía. Como actividad neocortical (lóbulos frontal y parietal, ínsula y amígdala), el bostezo comunicativo es un signo de empatía involuntaria (Helt et al., 2010; Senju, 2010; Walusinski, 2013).

Se puede concluir que, a través de la evolución, un comportamiento puede ser reciclado para diferentes propósitos de acuerdo con la creciente complejidad del sistema nervioso central, correlacionado con la riqueza de las interacciones sociales (Walusinski, 2013).

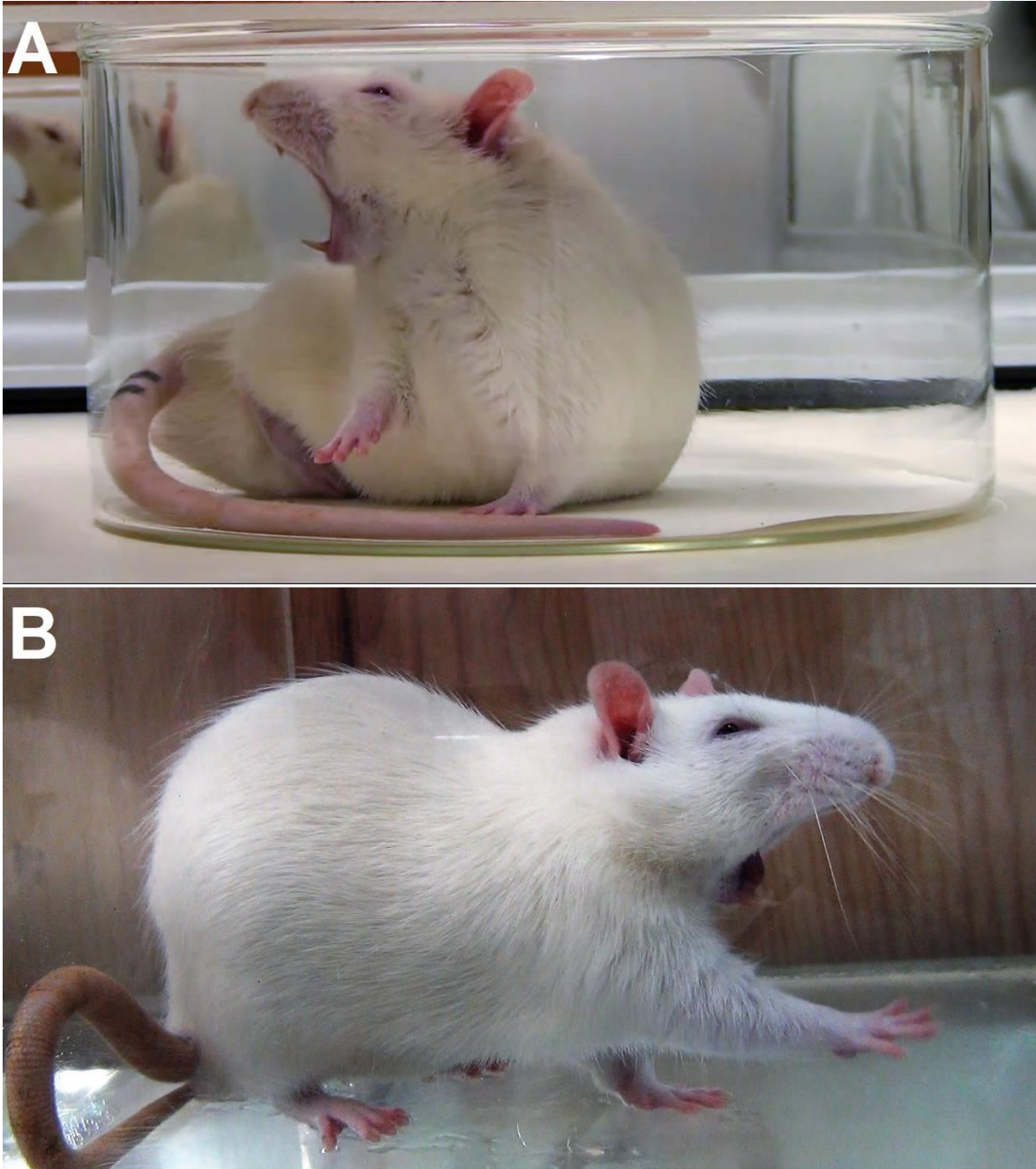
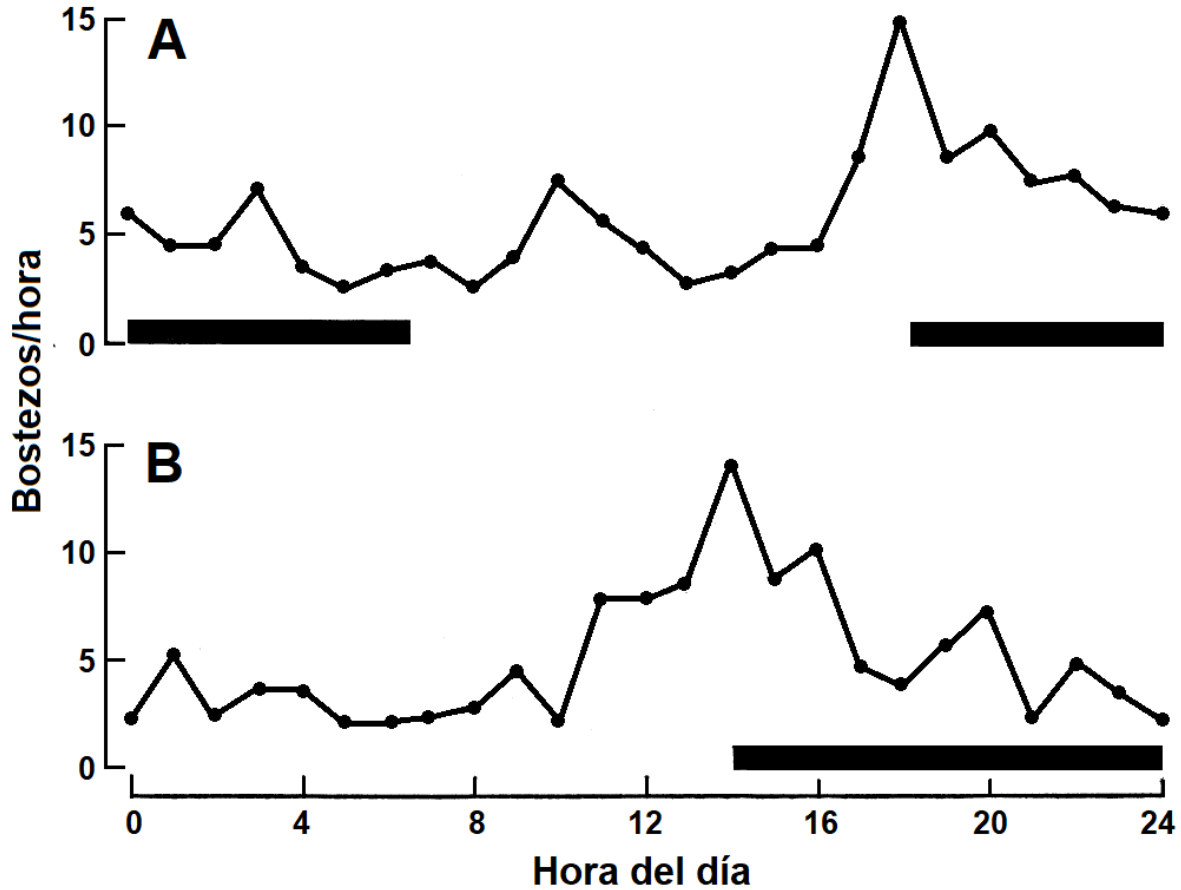


Figura 1. Bostezo de ratas HY en 2 ambientes diferentes. A) Bostezo en cristalizador de vidrio. B) Bostezo en caja de acrílico transparente.



Una variedad de neurotransmisores y neurohormonas están involucrados en la inducción y regulación del bostezo, incluyendo acetilcolina, dopamina, glutamato, serotonina, oxitocina, ácido gamma aminobutírico (GABA, de sus siglas en inglés), opioides, adrenérgicos y óxido nítrico, así como los péptidos derivados de la proopiomelanocortina, como la adrenocorticotropina y la hormona estimulante de melanocitos alfa (Collins y Eguibar, 2010; Walusinski, 2013; véase la Figura 3). La mayoría de los bostezos está mediada por al menos tres vías distintas, que parecen converger en neuronas colinérgicas dentro del hipocampo, a pesar del conjunto diverso de neurotransmisores involucrados

(Collins y Eguibar, 2010; Walusinski, 2013). Además, se ha demostrado la importancia del hipotálamo en la regulación del bostezo, ya que muchos de estos neurotransmisores parecen afectar el bostezo a través de sus interacciones con las neuronas oxitocinérgicas dentro del núcleo paraventricular del hipotálamo (Collins y Eguibar, 2010; Walusinski, 2013). Por ejemplo, se sabe que la activación de estas neuronas oxitocinérgicas por dopamina, glutamato, óxido nítrico y oxitocina induce bostezos, mientras que la inhibición de estas neuronas por los opioides μ y GABA ha demostrado que reduce la frecuencia de bostezos. Es importante tener en cuenta que, aunque los efectos de la hormona adrenocorticotropa y la hormona estimulante de melanocitos alfa también están mediados por el hipotálamo, la inducción de bostezos por parte de estos péptidos no involucra neuronas oxitocinérgicas (Collins y Eguibar, 2010; Walusinski, 2013). De manera similar, se sabe que la inducción del bostezo por la serotonina ocurre independientemente de las neuronas oxitocinérgicas dentro del núcleo paraventricular del hipotálamo; sin embargo, las regiones cerebrales responsables del bostezo serotoninérgico son actualmente desconocidas (Walusinski, 2013). A pesar de los grandes avances realizados hacia nuestra comprensión de la regulación neurofarmacológica del bostezo, se necesitan más estudios para dilucidar completamente cómo estos sistemas de neurotransmisores interactúan entre sí, así como los subtipos de receptores específicos y las regiones cerebrales involucradas en la inducción e inhibición del bostezo (Collins y Eguibar, 2010; Walusinski, 2013).

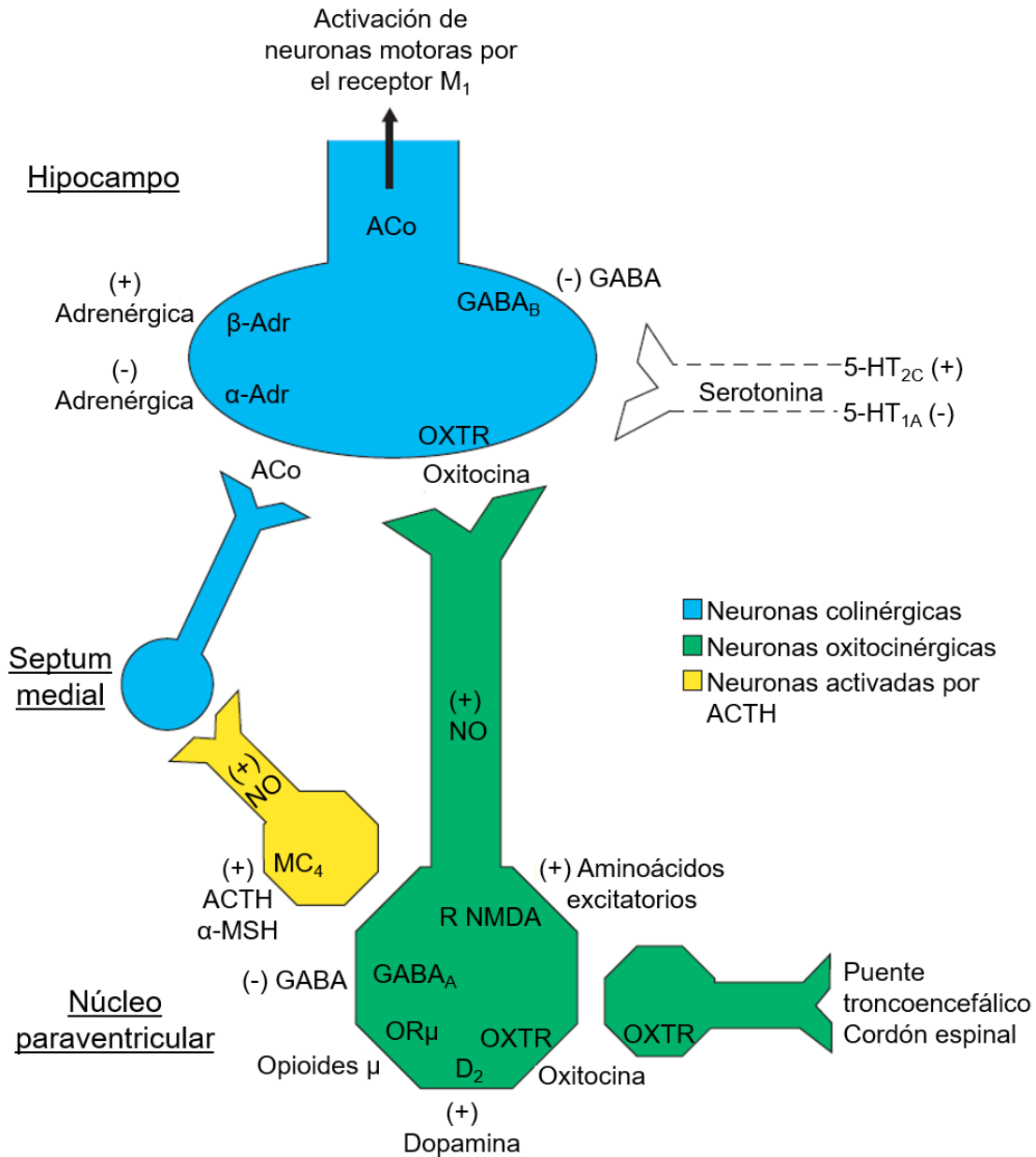


Figura 3. Representación esquemática de los neurotransmisores y subtipos de receptores involucrados en la mediación del bostezo. Las principales vías neuronales que están involucradas en la regulación del bostezo incluyen: (1) dos grupos separados de neuronas oxitocinérgicas que se proyectan desde el núcleo paraventricular del hipotálamo (NPV) a la región CA1 del hipocampo, o al puente troncoencefálico o la médula espinal; (2) neuronas activadas por ACTH/ α -MSH que se proyectan desde el NPV al hipocampo a través de la activación de neuronas colinérgicas septo-hipocampales; (3) activación directa de las neuronas colinérgicas septo-hipocampales/hipocampales; (4) una vía serotoninérgica-colinérgica que aún no se ha identificado. Los sistemas/receptores de neurotransmisores que son capaces de inducir o mejorar el bostezo se denotan con un (+), mientras que los que están involucrados en la inhibición del bostezo se denotan con un (-) Abreviaturas: Aco = acetilcolina, ACTH = hormona adrenocorticotropa, α -MSH = hormona estimulante de melanocitos alfa, α -Adr = receptor adrenérgico alfa, β -Adr = receptor adrenérgico beta, GABA = ácido gamma aminobutírico, $GABA_B$ = Receptor de $GABA_B$, M_1 = receptor muscarínico 1, $5HT_{2C}$ = receptor de serotonina 2C, $5HT_{1A}$ = receptor de serotonina 1A, R NMDA = ácido N-metil-D-aspartato, ON = óxido nítrico, OR_μ = receptor de opioides μ . Modificado de Collins y Eguibar, 2010.

La existencia de bostezos en casi todas las especies de vertebrados sugiere funciones básicas importantes, y la naturaleza espontánea e involuntaria de un bostezo lo respalda con un significado adaptativo (Walusinski, 2013). Entre las teorías recientes bajo discusión científica acerca del bostezo tenemos que la función fisiológica del bostezo y la pandiculación (se refiere al bostezo junto con el estiramiento generalizado de los músculos antigraedad) es estimular la vigilancia y el despertar (arousal), junto con la activación del tono muscular, a través de la retroalimentación sensorial del tracto somatosensorial (funículo posterior), con proyección al locus cerúleos (bucles sensorimotor trigeminal-cervical-espinal), el sistema de activación reticular ascendente en el tronco encefálico y el lateral hipotálamo (Walusinski, 2013). La pandiculación podría ser una compensación biológica por períodos de inmovilidad y/o posiciones viciosas del cuerpo, restaurando la movilidad del animal al romper los enlaces cruzados anormales del metabolismo muscular formados por inactividad o actividad subóptima (Bertolucci, 2011; Walusinski, 2013). Otra teoría sugiere que el bostezo afecta el sistema del fluido cerebroespinal, la gran inhalación y la apertura máxima de la boca aceleran la circulación del líquido cefalorraquídeo (Schroth y Klose, 1992), que controlaría el contenido de neuromediadores contenidos en él como la prostaglandina 2, una hormona que actúa localmente y es producida por las meninges, cuando se une a un receptor específico, la transducción ocurre de las leptomeninges al parénquima cerebral a través de la activación de la producción de adenosina, que induce el sueño en el núcleo preóptico ventrolateral del hipotálamo anterior (Huang et al. 2007, 2011; Walusinski, 2013). Investigaciones previas de Andrew C. Gallup (2010, 2011) sugieren que una función biológica del bostezo entre las homeotermas es la termorregulación central. La investigación comparativa de aves, ratas y humanos sugiere, para ellos, que el bostezo reduce la temperatura del cerebro y del cuerpo, y está influenciado por el rango y la

dirección del cambio de temperatura ambiente (Walusinski, 2013). Sin embargo, ninguna de las hipótesis anteriores ha sido científicamente demostradas o cuentan con suficiente evidencia científica, el bostezo parece ser un proceso homeostático que involucra variaciones circadianas en la vigilancia y la emoción (Walusinski, 2013).

1.2 LA CONDUCTA MATERNA

La conducta materna en mamíferos no humanos comprende una amplia constelación de conductas estereotipadas que preparan a la madre para la llegada de los recién nacidos y el cuidado de ellos (Kristal, 2009). La calidad de la conducta materna es transmitida entre las generaciones; la conducta materna inadecuada tiene efectos adversos en el individuo adulto (Pérez-Torrero y Rubio-Navarro, 2015). Los componentes específicos de la conducta materna varían en las especies con demandas ecológicas diferentes (Kristal, 2009). Carnívoros y muchos omnívoros tienen crías altriciales que nacen ciegas, sin los conductos auditivos abiertos, prácticamente sin pelo y con movilidad muy limitada (Kristal, 2009). La mayoría de los herbívoros y muchos omnívoros tienen crías precociales, que son aquellas que pueden ver, oír, moverse y alimentarse por sí mismas, aunque también requieren de la leche materna (Kristal, 2009). Las especies altriciales requieren de mayor cuidado, tiempo y recursos que las precociales, las cuales requieren amamantamiento, aseo y protección (Kristal, 2009).

1.3 LA CONDUCTA MATERNA DE LA RATA DE LABORATORIO

La mayor parte del trabajo experimental de la conducta materna en mamíferos no humanos se ha enfocado en la rata noruega de laboratorio (*Rattus norvegicus*) que ha servido como animal experimental de los mamíferos altriciales, debido a su elaborada y estereotipada conducta materna (Dollinger et al., 1980; Kristal, 2009).

La conducta materna de la rata y de otras especies de mamíferos altriciales tiene muchas demandas, algunos comienzan antes del nacimiento de las crías, las madres de las especies altriciales generalmente preparan el nido durante la preñez o cambian su arquitectura, por ejemplo, un nido con paredes altas en la esquina de la jaula es diferente a un nido en el

centro y plano de una hembra no preñada (Rosenblatt y Lehrman, 1963; Kristal, 2009). Las ratas preñadas también alteran su patrón de autoaseo, conforme la preñez avanza la hembra dedica más tiempo al aseo especialmente en las áreas de los pezones, tienen 12 (Lucas et al., 2007) y área anogenital (Rosenblatt y Lehrman, 1963; Kristal, 2009).

Al igual que otros mamíferos, durante el parto la rata ayuda a sus crías a salir del conducto vaginal y una vez fuera de este, ingiere la placenta, el cordón umbilical y las membranas fetales y lame para limpiar la sangre y líquido amniótico (Kristal, 1980, 2009). Después de liberar a todas las crías, la madre lame el cuerpo entero de cada una con énfasis a la región anogenital, debido a que los neonatos altriciales no pueden expulsar su orina y heces fecales, el aseo anogenital ayuda a la eliminación de sus desechos (Friedman et al, 1981; Kristal, 2009). La orina de las crías machos es más atractiva que de las crías hembras, se ha observado que las ratas madres dedican más tiempo en lamer a los neonatos machos que a las neonatas hembras, ya que esto impacta su desempeño sexual en la edad adulta (Moore, 1984; Moore, 1985; Kristal, 2009).

Cuando la madre ha concluido el lamido de las crías, ella acarrea a cada una al nido (Kristal, 2009), una vez que todos están en el nido, la madre se coloca sobre ellos y entra en una fase inmóvil de la conducta materna, con una dorsiflexión de la columna llamada cifosis y permite que las crías succionen sus mamas (véase Figura 4; Stern y Lonstein, 2001; Kristal, 2009). Después de un intervalo de amamantamiento, la madre deja el nido, periódicamente regresa y se ocupa en secuencias de aseo y lactancia de sus crías (Kristal, 2009).

Las crías que se encuentran fuera del nido y emiten vocalizaciones ultrasónicas de entre 40-50 kilohertz (KHz) son acarreadas por la madre al nido (Brunelli et al., 1994; Kristal, 2009). El acarreo requiere de una suave mordida o apretones bucales sobre la parte dorsal del cuello de la cría, mientras la cría adopta una postura refleja de inmovilidad, colgante y pasiva (Kristal, 2009; véase la Figura 4). Las crías necesitan del acarreo mientras madura su función motora cuando se alejan del nido (Kristal, 2009).

Una característica de las hembras maternas con nidos y camadas es la tendencia a mantener el área del nido libre de heces y orina (Kristal, 2009). Las ratas hembra vírgenes tienden a defecar y orinar en cualquier lugar de su jaula, mientras que cuando son madres tienen la tendencia de mantener el nido materno libre de heces y orina, utilizan un extremo de la jaula para defecar, se ha propuesto que es debido a que el olor de su orina y heces se vuelve más aversivo durante la lactancia (Noonan y Kristal, 1979; Kristal, 2009).

En la segunda semana de edad las crías comienzan a buscar a la madre cuando tienen hambre, en lugar de esperar a que la madre los agrupe y realice la postura de cifosis sobre ellos cuando requiere ser ordeñada (Kristal, 2009). Las crías localizan a la madre por un olor liberado analmente, posiblemente una feromona generada a nivel del ciego de la madre y que requiere la acción de la bilis y de la prolactina (León, 1974; Moltz y Leidahl, 1977; Kristal, 2009). A las tres semanas de edad, las crías necesitan más alimento del que la madre les puede proporcionar, y sus dientes en crecimiento se convierten en una fuente de irritación y dolor para ella (Kristal, 2009). Aunque el umbral de dolor de una madre lactante se eleva durante la fase temprana de la lactancia, a medida que las crías crecen y comienzan a pasar más tiempo lejos de la madre, su umbral de dolor disminuye significativamente (Cruz et al., 1996; Kristal, 2009). La madre comienza entonces a evitar a

las crías enterrándose en el aserrín de la caja de vida, saliendo del alcance o presionando su superficie ventral contra el suelo (Kristal, 2009). Entonces las crías se ven obligadas a encontrar sustento en otra parte, y así se logra el destete (Kristal, 2009).

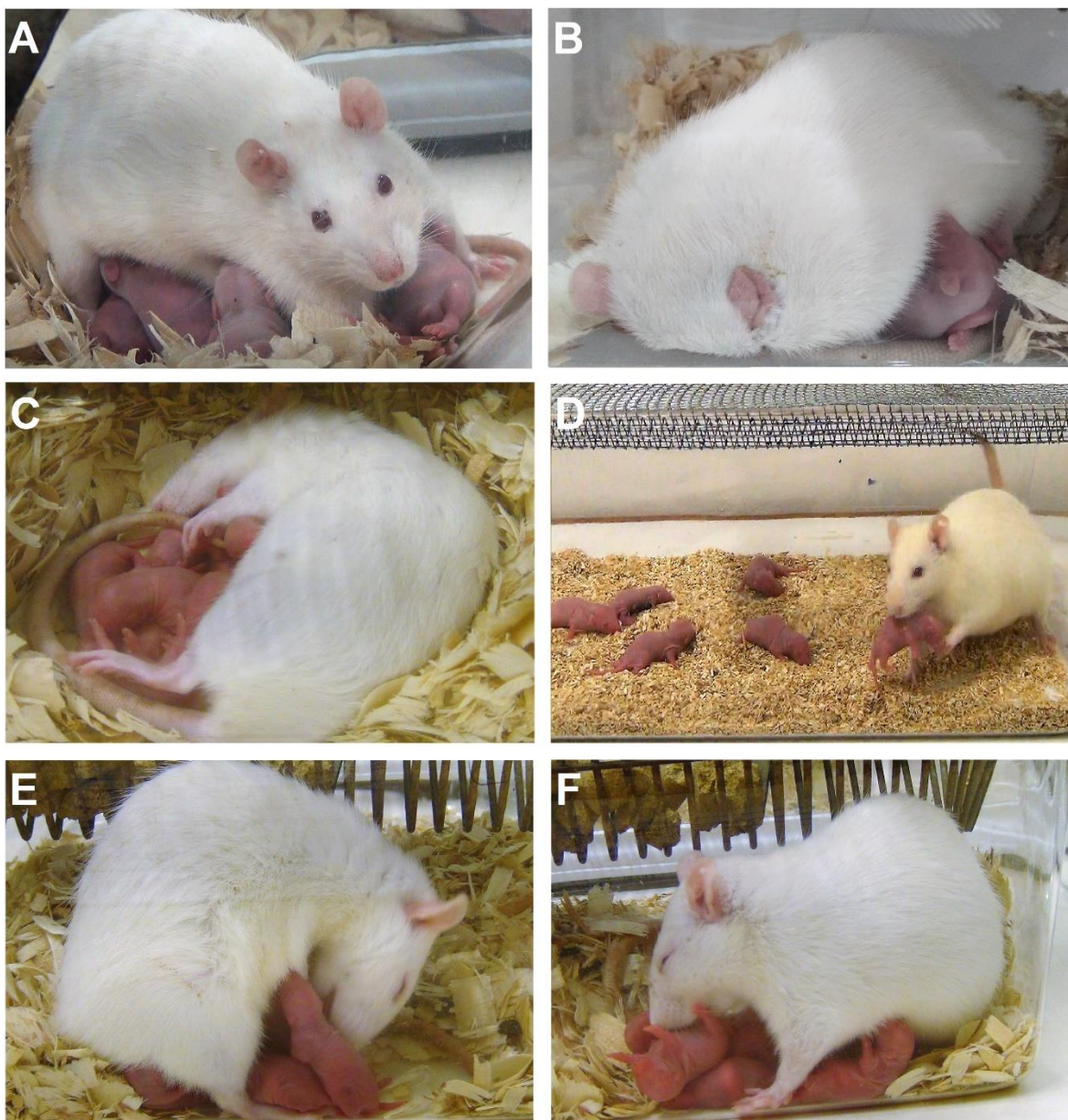


Figura 4. Principales conductas maternas de las ratas de laboratorio Sprague-Dawley. A) Postura alta de lactancia que permite el amamantamiento de las crías. **B)** Postura baja de lactancia. **C)** Postura de lactancia de costado o pasiva. **D)** Acarreo de las crías. **E)** Lamido corporal de las crías y **F)** Lamido genital de las crías.

Durante el período de lactancia, las madres de mamíferos se caracterizan por defender a sus crías y sus nidos (Krasnegor y Bridges 1990; Lonstein y Gammie 2002; Kristal, 2009). Las madres lactantes de la gran mayoría de las especies de roedores muestran una forma de agresión debido a los altos niveles de hormonas como son la progesterona, la prolactina y la oxitocina, y de la modificación de ciertos neurotransmisores como la serotonina (Kristal, 2009). Los altos niveles de esteroides sexuales producen una mayor sensibilidad de los receptores dérmicos (Komisaruk et al., 1972), y esto se asocia con niveles elevados de irritabilidad, la que a su vez produce la necesidad de aumentar su territorio, en parte para reducir el contacto con los estímulos que desencadenan respuestas aversivas (Kristal, 2009).

En resumen, existen cuatro etapas de la conducta materna: preparación a través de la construcción del nido y cambios en el autoaseo; inicio o la primera expresión de la conducta materna después del parto o después de una larga exposición a ellas; mantenimiento de la conducta materna a través de la lactancia y las conductas no dirigidas a las crías, pero que son ejecutadas por las madres como la placentofagia, el mantenimiento del nido y la agresión hacia un intruso (Kristal, 2009).

1.4 REGULACIÓN NEUROENDÓCRINA DE LA CONDUCTA MATERNA

El área preóptica medial es un sitio integrativo donde las hormonas interactúan con receptores para estimular el inicio y mantenimiento del cuidado materno (Numan, 1974; Numan 2012; Bridges, 2015). Se ha encontrado un papel clave en la olfacción y sus vías relacionadas, y una participación importante del núcleo accumbens, una región del cerebro relacionada con la recompensa, en una serie de respuestas maternas, incluyendo la memoria materna (véase la Figura 5; Lee et al., 1999; Bridges, 2015).

El sistema olfatorio es muy importante en el reconocimiento de las crías, pero no en todos los mamíferos. En las ratas hembra nulíparas sin experiencia materna el olor de las crías es aversivo, los cambios fisiológicos que acompañan al embarazo alteran la preferencia de las señales sensoriales relacionadas con las crías otorgándole un valor hedónico, el cual es un estímulo muy potente y su procesamiento sensorial constituye una parte importante de la motivación materna (Bridges, 2015; Lévy et al., 2004). Adicionalmente, los olores de los infantes proveen bases para el reconocimiento individual por sus madres, en algunas especies como los ungulados han desarrollado mecanismos altamente especializados para procesar los olores de sus infantes (Bridges, 2015; Lévy et al., 2004). La percepción del olor de las crías regula también varios aspectos de la conducta materna, en el caso de los roedores, el propionato de dodecilo ($C_{15}H_{30}O_2$), un compuesto liberado por las glándulas prepuciales de las crías atrae a las madres y les induce el lamido anogenital a las crías el cual es esencial en las tres primeras semanas de vida para estimular la defecación y la expulsión de la orina (Lévy et al., 2004). Las proyecciones de la amígdala que reciben señales olfativas terminan en varios sitios, incluidos el área preóptica medial, el hipotálamo anterior y el núcleo del lecho de la estría terminal (Bridges, 2015). Se piensa que las señales inhibitorias putativas de la amígdala se amortiguan en el parto, lo que resulta en una estimulación de la atención materna que se procesa a través de sitios hipotalámicos clave como el área preóptica medial (Bridges, 2015). Las proyecciones anatómicas del área preóptica medial al área tegmental ventral se ha propuesto que estimulan las proyecciones dopaminérgicas mesolímbicas hacia el sistema de recompensa, como el núcleo accumbens (Bridges, 2015). Otras proyecciones del hipotálamo anterior/hipotálamo ventromedial y del área preóptica medial/lecho del núcleo de la estría terminal se dirigen hacia la sustancia gris periacueductal las cuales reducen la conducta de evitación de las crías y aumentan la

probabilidad de que la hembra encuentre atractiva a sus crías recién nacidas (Bridges, 2015). Un número de hormonas y neuroquímicos junto con señales sensoriales y entradas corticales convergen en esta red neuronal para modular la expresión de la atención materna, una red que se modifica en función de los procesos de desarrollo y la experiencia maternos (véase Figura 5; Bridges, 2015).

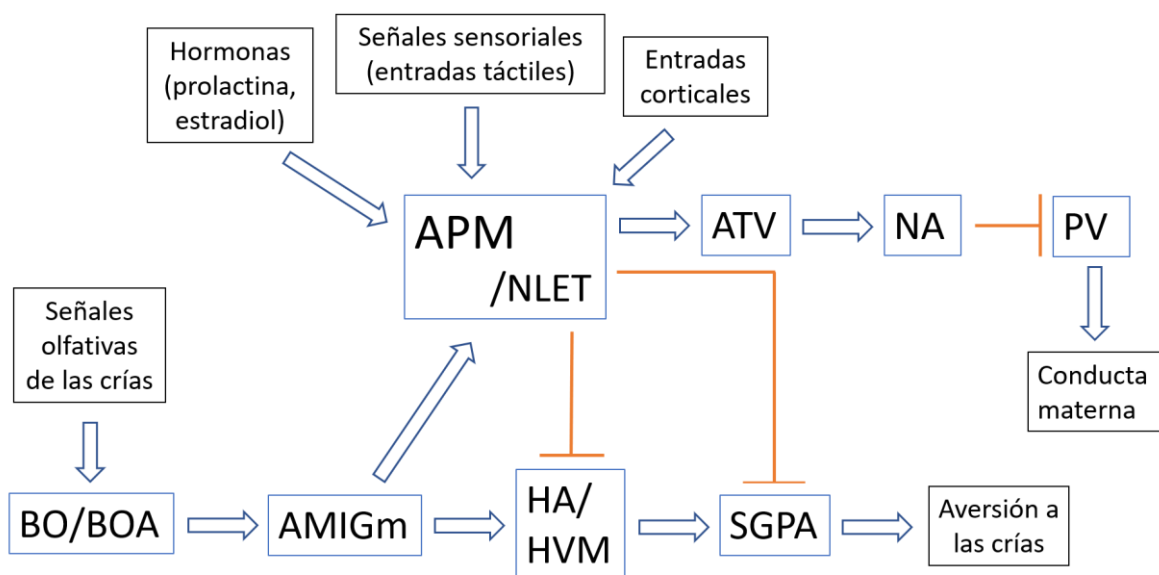


Figura 5. Red neuronal que regula la conducta materna. Representación esquemática de la red neural involucrada en la regulación de la conducta materna. Se presenta en letras más grandes y en negrita a el área preóptica medial (APM) para enfatizar que es el sitio integrador de la conducta materna. Las flechas muestran las vías facilitadoras de la conducta materna, excepto hipotálamo anterior (HA) y el hipotálamo ventromedial (HVM) y la sustancia gris periacueductal (SGP), que son inhibitorios. BOA, bulbo olfativo accesorio; NLET, núcleo del lecho de la estría terminal; AMGm, amígdala medial; NA, núcleo accumbens; OB, bulbo olfatorio; PV, pálido ventral; ATV, área tegmental ventral. Modificado de Bridges, 2015.

1.5 LAS HORMONAS Y LA CONDUCTA MATERNA

El patrón hormonal de la preñez estimula al cerebro materno del roedor, el cual comienza con el apareamiento cuando la estimulación vagino-cervical inicia un patrón de liberación de prolactina dos veces al día desde la pituitaria anterior durante aproximadamente 9 a 10 días después del apareamiento, que funciona para prevenir la degradación de los cuerpos lúteos (Terkel y Sawyer, 1978; Stolzenberg y Champagne, 2016). En consecuencia, hay un aumento constante en los niveles circulantes progesterona durante la primera parte del

embarazo, lo que prepara al endometrio uterino para la implantación y mantiene un entorno uterino que promueve el crecimiento del embrión (Zakar y Hertelendy, 2007; Stolzenberg y Champagne, 2016). En la mitad del embarazo, los lactógenos placentarios apoyan la secreción lútea de progesterona que es necesaria para la continuación del embarazo (Stolzenberg y Champagne, 2016). Mientras que los niveles crecientes de progesterona promueven el mantenimiento del embarazo, la disminución de esta a partir de la mitad del embarazo inicia un cambio en los eventos hormonales que eventualmente regulan el momento del parto (Stolzenberg y Champagne, 2016). Los niveles crecientes de estradiol secretados por el ovario preparan el endometrio uterino para el parto al promover la contractilidad rítmica del útero, y la fuerte disminución de progesterona justo antes del alumbramiento elimina el tono inhibitorio sobre los músculos uterinos y les permite responder a la oleada en la oxitocina de la hipófisis posterior que induce la contracción uterina y el trabajo de parto (Hertelendy y Zakar, 2004; Stolzenberg y Champagne, 2016).

Aunque la rata preñada está expuesta a niveles circulantes de hormonas del embarazo, la capacidad de respuesta hacia los estímulos de las crías se retrasa hasta las últimas horas antes del parto (Stolzenberg y Champagne, 2016). El doctor Jay Rosenblatt (1968) planteó la hipótesis de que las fluctuaciones hormonales presentes en este momento también pueden estimular al cerebro a responder ante los estímulos infantiles. Al probar esta hipótesis, se determinó que los factores que circulaban en la sangre al momento del nacimiento y justo después del nacimiento eran responsables de iniciar la respuesta materna (Terkel y Rosenblatt, 1968, 1972; Stolzenberg y Champagne, 2016) y podría inducir latencias de sensibilización acortadas en las ratas vírgenes (Stolzenberg y Champagne, 2016). La interrupción artificial del embarazo por histerectomía durante la segunda mitad

del embarazo, lo que resulta en una disminución de la progesterona y un aumento en la secreción de estradiol produce un inicio inmediato del comportamiento materno cuando las crías se presentan 48 h después de la cirugía (Rosenblatt y Siegel, 1975; Stolzenberg y Champagne, 2016). Es evidente que la disminución combinada de la progesterona y la elevación del estradiol son necesarias para que se induzca el comportamiento materno (Siegel y Rosenblatt, 1978; Stolzenberg y Champagne, 2016). Por lo tanto, los cambios hormonales durante el embarazo desempeñan un papel al cambiar gradualmente las respuestas de comportamiento de las hembras y desencadenar la respuesta a las crías durante el parto. Estos cambios hormonales influyen en varios sistemas neurales, y en particular modifican los niveles de receptores hormonales y la actividad neural dentro del área preóptica medial del hipotálamo (Numan e Insel, 2003; Numan, 2015; Stolzenberg y Champagne, 2016). Los implantes de benzoato de estradiol en el área preóptica medial en hembras ovariectomizadas con histerectomía preñadas de 16 días inducen un rápido inicio del comportamiento materno (Numan et al., 1977; Stolzenberg y Champagne, 2016). Esto se debe a que las hormonas del embarazo aumentan la distribución y la unión de los receptores de estrógeno en el área preóptica medial (Giordano et al., 1989, 1991), lo que contribuye a los cambios celulares y moleculares que dan forma al cerebro materno y permite la expresión de la conducta materna (Stolzenberg y Champagne, 2016).

1.6 LA CONDUCTA SEXUAL MASCULINA

El comportamiento sexual de los animales, incluyendo la cópula y el cortejo que lo precede, es uno de los comportamientos más diversos (Hull et al., 2002). Esa diversidad, un producto de la selección natural y sexual, ayuda a asegurar que el apareamiento se produzca con la pareja correcta, en el momento y en el lugar adecuado (Hull et al., 2002). La medida

de un apareamiento "exitoso", en la mayoría de las especies, es si la progenie resultante lleva los genotipos parentales a la siguiente generación (Hull et al., 2002).

El comportamiento sexual es la expresión de la fisiología reproductiva del organismo, un sistema cuya estructura fundamental se desarrolló (etapa perinatal en mamíferos) a menudo meses o años antes a través de una serie compleja de eventos neuroendocrinos (Hull et al., 2002).

El comportamiento sexual masculino (CSM) comprende un patrón complejo de respuestas somatomotoras y genitales, provocado, dirigido y sostenido por señales internas y externas (Hull y Rodríguez-Manzo, 2009). Incluye tanto a la cópula, así como, los patrones precopulatorios o motivacionales que permiten al macho detectar y localizar una pareja a través de señales odoríferas (feromonas), somatosensoriales, auditivas (emisión de vocalizaciones ultrasónicas) y visuales, y de esta forma evaluar su potencial idóneo para el apareamiento; y el componente consumatorio que permite llevar a cabo dicha interacción (Hull y Rodríguez-Manzo, 2009). El aspecto consumatorio de la conducta sexual en la mayoría de las especies de mamíferos macho se caracteriza por el despliegue de tres respuestas motoras: montas, intromisiones y la eyaculación. En la mayoría de las especies estudiadas, la CSM es regulada por la interacción de las hormonas esteroideas tanto con el sistema nervioso central, como con estructuras periféricas (Hull, et al., 2002; Hull y Rodríguez-Manzo, 2009).

El comportamiento precopulatorio consiste desde la investigación anogenital hasta incluir patrones de comportamiento altamente elaborados, específicos de cada la especie (Hull y Rodríguez-Manzo, 2009). Los machos y las hembras de los roedores muestran un periodo

inicial de investigación anogenital mutuo, asociado a la emisión de vocalizaciones de 50 KHz, las cuales estimulan la actividad sexual (Geyer y Barfield, 1978); otro aspecto es el marcaje de territorio mediante orina, heces fecales o glándulas apócrinas especializadas que ayudan a marcar objetos que les rodean en ecosistemas específicos (Ralls, 1971), cómo son la glándula del mentón de los conejos (Arteaga et al., 2008), las glándulas preorbitales en los ciervos y antílopes (Ralls, 1971; Mohamadi et al., 2011; Rajagopal y Archunan. 2011) y los sacos anales de los cánidos y félidos (Pageat y Gaultier, 2003). Las hembras receptivas solicitarán la cópula con el macho a través de señales químicas (feromonas), visuales y comportamientos proceptivos característicos, dirigidos hacia el macho para estimularlo a seguirla y lograr la monta (Beach, 1976; Hull, Meisel y Sachs, 2002; Hull y Rodríguez-Manzo, 2009). Las funciones de adaptación de los diferentes aspectos de la atractividad incluyen la aproximación del macho a la hembra, ayudándolo a identificar el sexo y el estado reproductivo de la hembra (Beach, 1976). Por ejemplo, antes de que él perro intente copular con una perra en estro, el perro macho investiga su área anogenital y lame la vulva vigorosamente (Beach y LeBoeuf, 1967; Beach, 1976). Los gorilas macho son atraídos a la hembra en celo en parte por las secreciones odoríferas de la vagina y de la axila (Hess, 1973 citado por Beach, 1976). Por lo que el comportamiento proceptivo funciona para excitar al macho y facilitar, coordinar y sincronizar los ajustes del cuerpo necesarios para la unión genital y la inserción peneana (Beach, 1976). Si un perro macho monta a la hembra de una posición anterior o lateral por lo general lo retira e inmediatamente se acomoda mediante la colocación de su vulva y los cuartos traseros al frente de la cabeza del macho para que su siguiente monta sea posterior y con sus patas delanteras abracen la región lumbar de la hembra y que sus movimientos pélvicos dirijan el pene hacia la vagina (Beach, 1976).

Casi todos los mamíferos machos montan a las hembras dorsalmente aproximándose por la parte trasera, colocando sus patas delanteras en la espalda de la hembra y sus patas traseras apoyadas en el suelo (Beach, 1976; Hull y Rodríguez-Manzo, 2009). Las hembras pueden asumir la postura de lordosis o cifosis, una postura más rígida en la que la espalda toma una forma cóncava y su cola se desvía lateralmente para permitir el acceso del pene orificio vaginal (Hull, et al., 2002; Hull y Rodríguez-Manzo, 2009), asociado a esta el macho despliega envites pélvicos que inducen o acentúan la postura receptiva de la hembra. Durante una monta sin intromisión, el macho no alcanza la inserción del pene y desmonta a la hembra rápidamente, una o ambas patas traseras del macho por lo general permanecen en el suelo durante la monta (Hull y Rodríguez-Manzo, 2009). En especies, como los félidos (Lanier y Dewsbury, 1976) y mustélidos (Carroll et al, 1985) el macho muerde el cuello de la hembra con los dientes antes o durante la monta, y él puede sostener la mordida produciendo un reflejo de inmovilidad durante la monta. (Dewsbury, 1972). Los primates tienen mayor variabilidad en la conducta de monta, por ejemplo, los loris montan a la hembra en una posición invertida colgados de una rama, los macacos y babuinos machos utilizan "un broche de doble pie para la monta" en el que las extremidades posteriores del macho sujetan las patas traseras de la hembra por encima de los tobillos (Chevalier-Skolnikoff, 1975; Dixson, 2003); por otra parte los monos araña y monos aulladores al montar a la hembra colocan sus piernas en los muslos de ella y los bonobos utilizan diversas posturas al copular (Dixson, 2009).

Cada monta con envites pélvicos en la mayoría de los mamíferos roedores, lagomorfos, cánidos, félidos, primates, etcétera es un intento de lograr la intromisión del pene en la vagina (Hull, et al., 2002). Sin embargo, si el macho no detecta la vagina con el pene

relativamente pronto después de que efectúa envites pélvicos, por lo general desmonta y se vuelve acercar a la hembra o se retira para realizar otras actividades (Hull, et al., 2002). La intromisión, en una monta, se refiere a la inserción intravaginal del pene (Hull, et al., 2002). En algunos roedores, el macho monta a la hembra, que se acompaña de envites pélvicos, y súbitamente realiza un envite más profundo que coincide con la inserción de este en la vagina, seguida de un desmonte abrupto hacia atrás y por el lamido y acicalamiento del área perigenital (Hull, et al., 2002; Hull y Rodríguez-Manzo, 2009). En otras especies, tales como el ratón, el macho mantiene la intromisión y muestra una serie de envites intravaginales. En ungulados, la inserción del pene puede implicar sólo un breve contacto genital con la eyaculación inmediata (Hull, et al., 2002).

La mayoría de los mamíferos machos eyaculan durante la cópula sólo después de que han recibido el estímulo derivado de una serie de envites intravaginales (Dewsbury, 1972; Hull, et al., 2002). Por ejemplo, en la mayoría de los roedores se requiere de múltiples intromisiones. En la eyaculación, el macho a menudo muestra un envite más profundo y largo, durante el cual se levanta el torso y abre sus patas delanteras, liberando así su abrazo sobre la hembra. Esto es seguido por un desmonte más relajado y lento que el que se observa después de una intromisión (Hull, et al., 2002; Hull y Rodríguez-Manzo, 2009). El ratón tiene el mismo patrón eyaculatorio, excepto que durante la eyaculación ellos suelen quedarse quietos antes de desmontar (Hull y Rodríguez-Manzo, 2009). Los perros y otros cánidos, la eyaculación comúnmente comienza inmediatamente después de la inserción del pene y antes de que la dilatación de la base del pene que resulta en un "candado" del macho a la hembra, que puede durar 30 minutos o más (Hull, et al., 2002; Hull y Rodríguez-Manzo, 2009). La eyaculación suele ir acompañada de contracciones espasmódicas de los

músculos esqueléticos de la zona perineal, incluyendo el isquiocavernoso, el bulboesponjoso, y el esfínter del ano (Hull, et al., 2002). En el ser humano estos eventos se asocian con el orgasmo (Hull, et al., 2002; Domínguez, 2007; Hull y Rodríguez-Manzo, 2009).

La variación aparentemente sutil en el patrón o la frecuencia de varios elementos durante la cópula puede ser de gran importancia para lograr una gestación exitosa. Por ejemplo, si ocurren 1 a 4 intromisiones antes de la eyaculación en ratas de laboratorio sólo el 5% de las hembras se preñan; mientras que se incrementa la tasa de preñez hasta un 83% con 13 a 16 intromisiones (Adler, 1969; Dewsbury, 1972), la baja tasa de fertilidad se debe que el bajo número de intromisiones no logra activar el cuerpo lúteo de las hembras (Coopersmith y Erskine, 1994). La reanudación de la actividad copulatoria del macho dentro de 1 a 15 minutos después de la eyaculación produce una disminución apreciable en el número de espermatozoides en los cuernos uterinos en ratas de laboratorio (Adler y Zoloth, 1970; Dewsbury, 1972).

La eyaculación es seguida por el aseo genital y un período de inactividad sexual, el denominado periodo de post-eyaculatorio que puede durar desde 30 segundos en el hámster sirio, hasta 5 a 10 minutos en ratas, u horas o días en otras especies (Hull, et al., 2002). Durante la etapa de reposo, el macho puede producir vocalizaciones ultrasónicas distintivas, por ejemplo, en la rata macho las vocalizaciones son 22 kHz y típicamente se limitan del 50 al 75% del primer del intervalo post-eyaculatorio (Hull, et al., 2002). Durante este tiempo, denominado el período refractario absoluto, ningún tipo de estímulos puede inducir el macho para reanudar la cópula. El período refractario relativo ocupa el resto del intervalo post-eyaculatorio (IPE); durante este tiempo, los estímulos dolorosos o la

introducción de una nueva hembra puede provocar la reanudación de la cópula, el denominado efecto Coolidge (Hull, et al., 2002; Hull y Rodríguez-Manzo, 2009; Tlachi-López et al., 2012). El intervalo post-eyaculatorio no es resultado de una falla de la función eréctil, ya que se ha mostrado en ratas, que son capaces de manifestar erecciones sin contacto ex cópula después de la eyaculación (Hull, et al., 2002).

Existe diversidad en los patrones copulatorios en mamíferos, que se pueden agrupar en cuatro características (véase Figura 6). En primer lugar, los machos y hembras pueden llegar a establecer una fuerte conexión mecánica conocida como “candado” (sólo en cánidos) durante la cópula (Dewsbury, 1972). En segundo el envite de la pelvis puede o no puede ocurrir durante la inserción (Dewsbury, 1972). En tercer lugar, las intromisiones múltiples sin transferencia de espermatozoides pueden o no pueden ser requisito previo para la aparición de la eyaculación (Dewsbury, 1972). En cuarto lugar, puede ocurrir una sola eyaculación o bien múltiples eyaculaciones antes de la saciedad sexual (Dewsbury, 1972). Como cada uno de los cuatro atributos tiene dos alternativas, los patrones de comportamiento copulatorio elaborado en este esquema pueden tomar cualquiera de 16 formas de comportamiento copulatorio que caracterizan a géneros y especies (Figura 6; Dewsbury, 1972).

Cada una de estas cuatro características se refiere a la organización del patrón copulatorio, y, por lo tanto, a la estimulación dada por el macho hacia la hembra para una reproducción exitosa (Dewsbury, 1972). Adicionalmente de proporcionar al macho la estimulación genital necesaria para que alcance el umbral eyaculatorio, y por lo tanto fertilizar el mayor número de óvulos de la hembra, además, el comportamiento de apareamiento del macho puede afectar a la fisiología reproductiva de la hembra y la propia (Hull, et al., 2002). Para

el macho, la retroalimentación de un cierto patrón de contactos vaginales es esencial para la aparición de la eyaculación, ya que múltiples intromisiones o envites intravaginales también pueden facilitar el transporte de los espermatozoides (Adler y Bermant, 1966; Dewsbury, 1972). Retrasar la eyaculación hasta que el macho muestre un número suficiente de intromisiones también puede aumentar el número de espermatozoides en el eyaculado, y puede mejorar su capacidad de fertilización (Dewsbury, 1972). Sin embargo, la reproducción sexual es energéticamente costosa, y prolongar la cópula puede poner a ambos compañeros en riesgo de predación. Por lo tanto, durante la cópula se debe reflejar un equilibrio de presiones de selección impuestas por sus ambientes físicos, biológicos y sociales que son reflejo del proceso de selección natural (Hull, et al., 2002). Para la hembra la cópula, con o sin transferencia de semen, estimula una amplia gama de alteraciones en la actividad neuronal y endocrina (Dewsbury, 1990). Por ejemplo, las hembras de algunas especies, como conejos y gatos, no ovulan a menos que reciban la estimulación asociada con el apareamiento, estas hembras pertenecen al grupo de ovuladores reflejos que son la mayoría. Esto les permite evitar la inversión en la producción de óvulos maduros. Las hembras de otras especies, como las ratas, ovulan sin aparearse, pero no segregan suficiente progesterona para apoyar la implantación de un óvulo fecundado, a menos que reciban el número de intromisiones suficientes que son de entre 4 a 7 (Wilson et al., 1965; Hull y et al., 2002). En ratas, la cópula provoca alteraciones en la secreción de la hormona luteinizante, y de la hormona estimulante del folículo, la hormona luteotrófica, y de progesterona, causando la pseudopreñez y el aumento de secreción de leche en la glándula mamaria (Dewsbury, 1972). Las cópulas deben ser de un carácter o de frecuencia particular para estimular los cambios fisiológicos en la hembra necesarios para que el embarazo pueda ser iniciado (Dewsbury, 1972). La naturaleza de tales estímulos críticos se ha

estudiado y confirmado en una variedad de especies. Las variaciones en el carácter de las inserciones del pene son de importancia funcional considerable en el éxito de la reproducción en las distintas especies de mamíferos (Dewsbury, 1972).

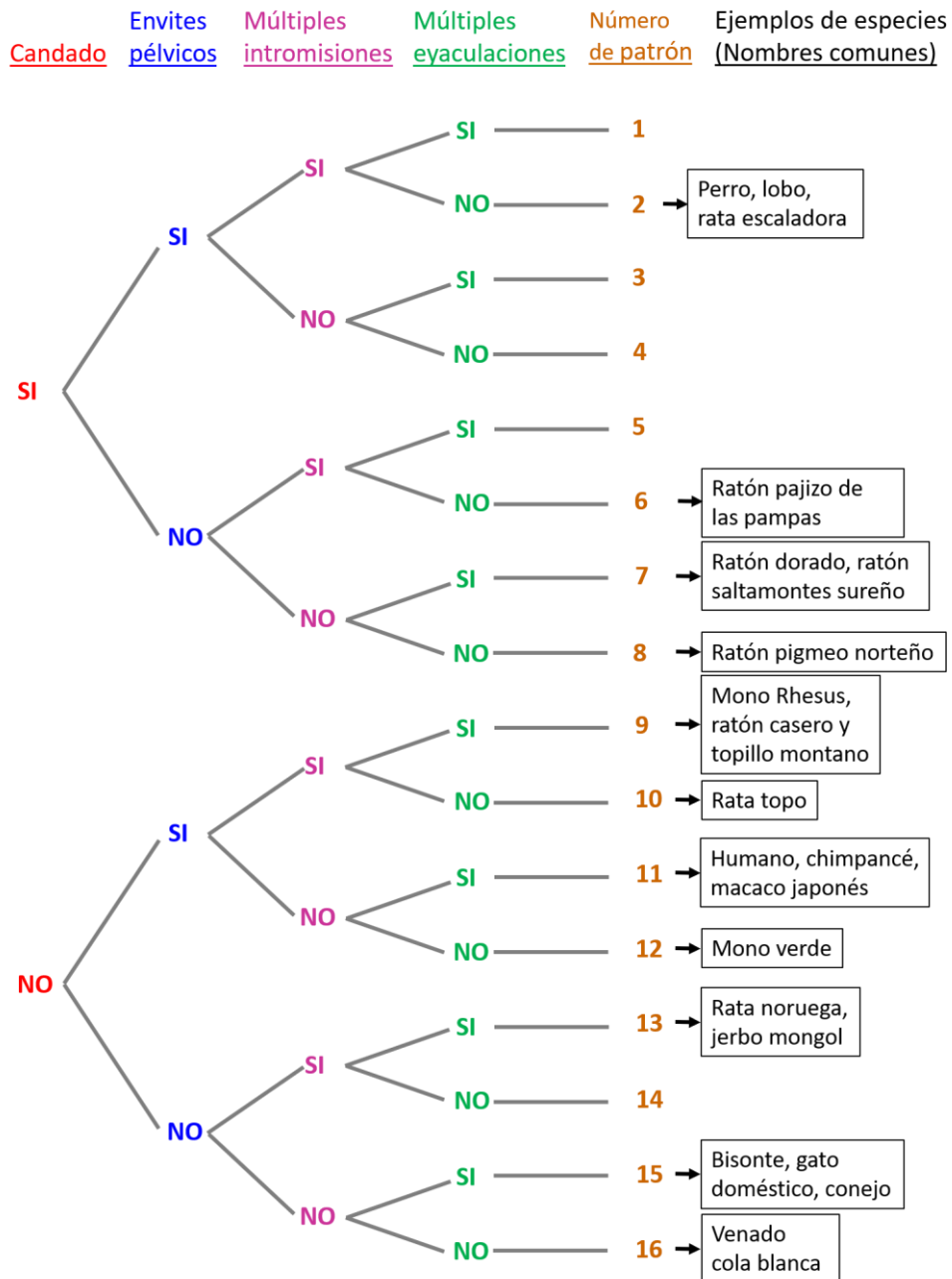


Figura 6. Tipos de patrones copulatorios de mamíferos machos. La dicotomización de 2^4 veces se basa en la presencia o ausencia de un candado sexual entre el pene y la vagina (rojo), envite intravaginal (azul), múltiples intromisiones antes de la eyaculación (morado), y de múltiples eyaculaciones antes de la saciedad sexual del macho (verde). Once de los 16 patrones (café) han sido descrito en al menos una especie de mamíferos y se muestran algunos ejemplos (negro). Modificado de Dewbury, 1972 y Hull et al., 2002.

1.7 LA CONDUCTA SEXUAL MASCULINA DE LA RATA NORUEGA ALBINA DE LABORATORIO (*Rattus norvegicus*)

La conducta sexual masculina (CSM) en la rata, se caracteriza por una serie de patrones conductuales que incluyen montas, acompañadas de envites pélvicos, erecciones del pene, e intromisiones en la vagina (Hull, et al., 2002; Hull y Rodríguez-Manzo, 2009). Después de varias montas e intromisiones, el macho eyacula (véase Figura 6; Dewsbury, 1972; Carballada y Esponda, 1992., Lucio et al., 2011).

La CSM en la rata se divide en tres etapas: la pre-copulatoria, la copulatoria y la post-copulatoria (Beach, 1976, Hull, et al., 2002; Hull y Rodríguez, 2009; Lucio et al., 2011). En la etapa pre-copulatoria, los machos reciben información de la proceptividad de la hembra, las conductas proceptivas incluyen: pequeños saltos o brincoteos (“*hopping*”), que consisten en pequeños saltos efectuados por la hembra sobre sus cuatro patas que terminan con la adopción de una postura agazapada; carreras cortas en forma de zig-zag o arrancones (“*darting*”), que terminan con la inmovilidad de la hembra con elevación del periné; y los movimientos repetidos de orejas u orejeo (“*ear-wiggling*”), que se caracterizan por un movimiento de alta frecuencia de la cabeza que provoca la vibración de las orejas y la emisión de vocalizaciones ultrasónicas de 50 KHz (Geyer y Barfield, 1978). Si un macho sin experiencia no responde a la hembra, ésta puede empujarlo lateralmente, para estimularlo a montar (Hull, et al., 2002). Durante la conducta sexual en la rata hembra existen tres componentes que son la atracción, el acercamiento y la consumación de la conducta sexual que corresponden a las fases de: atractividad, proceptividad y receptividad (Beach et al., 1976). Los machos por su parte se aproximan a la hembra con el fin de olfatear y explorar la región anogenital de la hembra. En esta etapa, los animales emiten

vocalizaciones ultrasónicas de 50 kilohertz (KHz), que pueden servir para despertar el interés del macho por aparearse (Hull y et al., 2006). Es común observar que los machos sexualmente núbiles utilicen más tiempo en la investigación del área peri-genital de una hembra en estro, y que conforme adquieren experiencia sexual (posiblemente también mediado por acciones condicionadas al lugar de la cópula) el tiempo que los machos emplean en esta conducta decae (Larsson, 1956; Toriz-González, 2006)

La fase copulatoria se divide en tres etapas: la monta, la intromisión y la eyaculación (véase Figura 7, 8 y 9; Hull, et al., 2002; Hull et al., 2006; Hull y Rodríguez-Manzo, 2009). En la monta, el macho se acerca a la hembra receptiva, la sujeta de los flancos para subirse en su periné e inicia una serie de envites pélvicos (Hull, et al., 2002; Hull et al., 2006; Hull y Rodríguez-Manzo, 2009). Aunque el pene del macho se encuentra parcialmente erecto, durante estos movimientos, no hay penetración en la vagina (Hull, et al., 2002; Hull et al., 2006; Hull y Rodríguez-Manzo, 2009). Por otro lado, la hembra presenta el reflejo de lordosis (receptividad), en la cual la hembra muestra una dorsiflexión de la espalda levantando la cabeza y la pelvis, haciendo a un lado la cola y exponiendo el periné y el orificio vaginal con el fin de facilitar la cópula (véase Figura 7B; Hull, et al., 2002; Hull et al., 2006; Hull y Rodríguez-Manzo, 2009).

En la intromisión, el macho monta a la hembra, realiza envites pélvicos e introduce el pene en la vagina, para después desmontarla rápidamente seguido de lamido anogenital (véase Figura 8C; Hull, et al., 2002; Hull et al., 2006; Hull y Rodríguez-Manzo, 2009). En la rata, el macho realiza 5 a 7 intromisiones a la hembra antes de alcanzar la eyaculación (Hull et al., 2006; Hull y Rodríguez-Manzo, 2009).

La eyaculación es ratas comienza con una intromisión, pero, incluye un envite más largo y profundo de entre 750 hasta 2000 ms, lo que coincide con la emisión seminal. Entonces el macho levanta sus patas delanteras y desmonta lentamente a la hembra, para proceder a lamer el pene y el periné (véase Figura 9; Beyer et al., 1981; Hull y Rodríguez-Manzo, 2009).

En la etapa de post-cópula, el macho presenta un periodo refractario en el que reposa lleva a cabo el acicalamiento de sus genitales y no muestra interés hacia la hembra, que a su vez termina cuando la rata vuelve a reiniciar la cópula y ejecutar una nueva serie copulatoria (Hull y Rodríguez, 2009). Durante el 75% inicial del intervalo post-eyaculatorio, el macho emite vocalizaciones ultrasónicas de 22 kHz y no copulará en respuesta a ningún estímulo; por esa razón, se denomina período refractario absoluto (Barfield y Geyer, 1975). El 25% restante del intervalo post eyaculatorio, el período refractario relativo, ya no se acompaña de vocalizaciones, y su duración puede reducirse si el macho se somete a estímulos no específicos, como una descarga eléctrica leve (Barfield y Sachs, 1968) o una nueva pareja femenina (Zucker y Wade, 1968; Hull y Rodríguez-Manzo, 2009). Esto nos permite definir para fines descriptivos lo que es una serie eyaculatoria que es a partir de la primera intromisión hasta que el macho eyacula, una serie copulatoria comprende hasta el intervalo posteyaculatorio puesto que termina con la primera intromisión de la siguiente serie eyaculatoria (Ågmo, 1997; Heijkoop et al., 2018).

PATRÓN COPULATORIO DE LA RATA MACHO

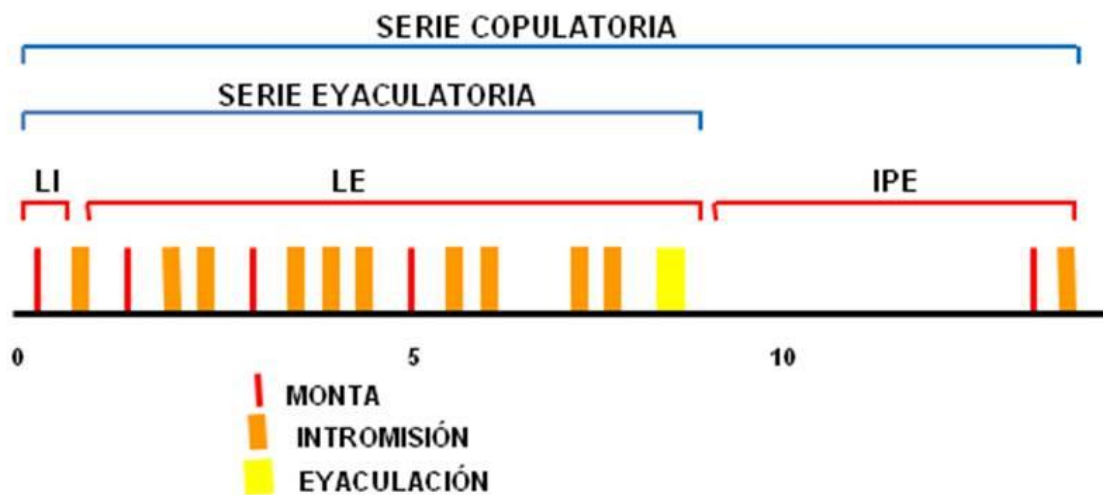


Figura 7. Patrón copulatorio promedio de la rata albina macho. LI, latencia de intromisión; LE, Latencia de eyaculación; IPE, intervalo posteyaculatorio. Modificado de Márquez y Velázquez-Moctezuma, 1995.

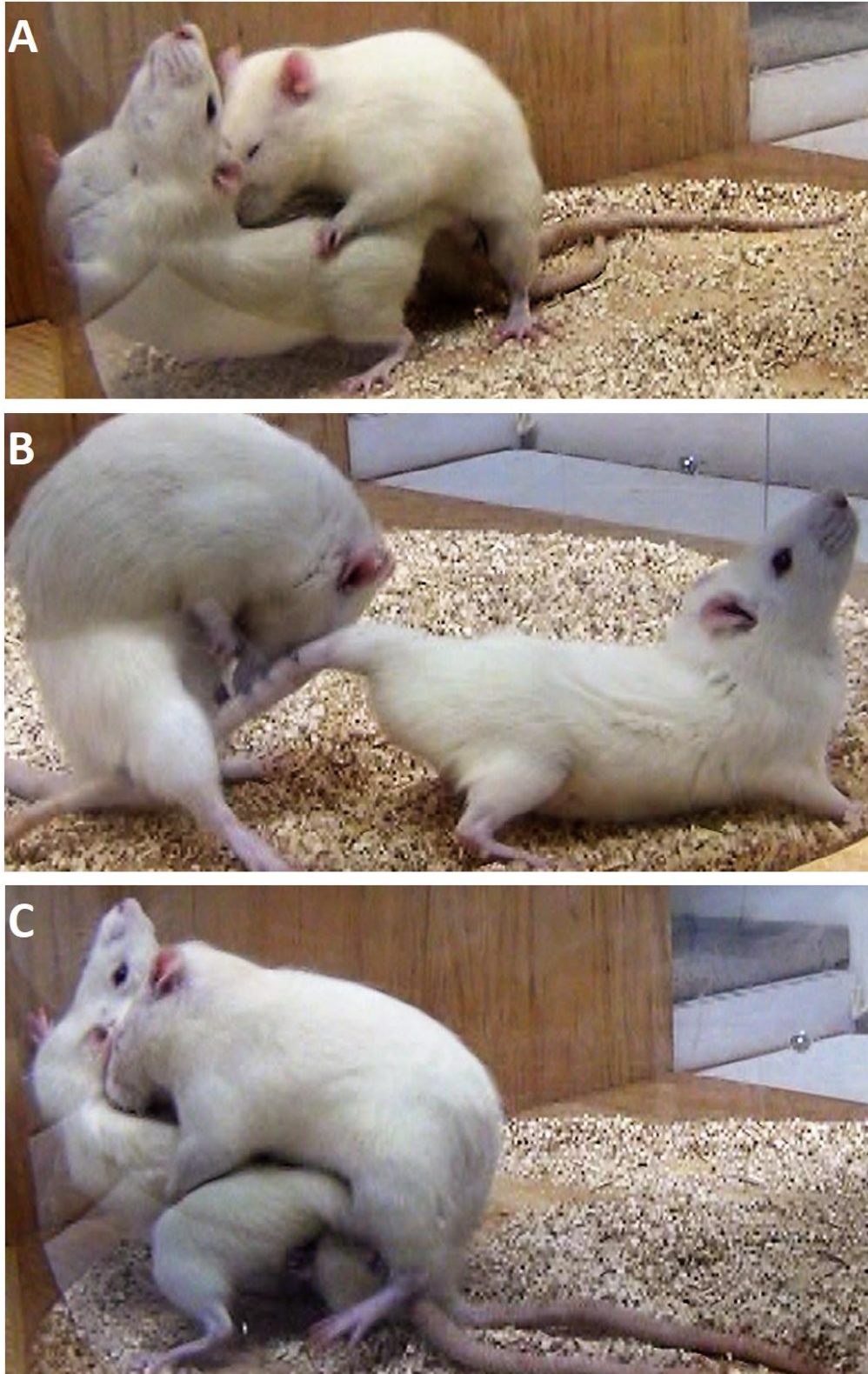


Figura 8. Principales conductas sexuales antes de la eyaculación. A) Rata macho montando a una hembra. B) Lordosis de la rata hembra en respuesta al macho. C) Rata macho realizando intromisión vaginal a una hembra sexualmente receptiva.



Figura 9. Eyaculación. A) El macho sujeta fuertemente los costados de la hembra durante la eyaculación. B) El macho después de eyacular deja de sujetar a la hembra típicamente levantando las extremidades anteriores.

La expresión de la conducta copulatoria en las ratas y en la mayoría de las especies es dependiente de hormonas gonadales, ya que la castración la abole, pero el tratamiento sistémico con testosterona (T) o con estradiol (E₂) la restablece (Shapiro, 1937; Stone, 1939; Davidson y Allison, 1969). Estas hormonas esteroideas ejercen su efecto sobre la conducta sexual principalmente a través de su unión a sus respectivos receptores nucleares para andrógenos, y estrógenos (véase Figura 10); localizados en diferentes áreas del sistema nervioso central tales como: al área preóptica medial, el hipotálamo ventromedial y la amígdala medial entre otras (Gréco et al., 1996). Dentro de las neuronas, los receptores de hormonas sexuales nucleares y de membrana se encuentran en el citoplasma, los núcleos y también se encuentran cerca de las membranas donde están asociados con terminales presinápticas, mitocondrias, y densidades postsinápticas (McEwen y Milner, 2017).

La respuesta a las hormonas esteroideas sexuales puede ser genómica o no genómica (véase Figura 10). La diferencia entre las vías depende del tipo de receptores involucrados (Contrò et al., 2015). En general, los receptores nucleares citoplásmicos inducen una respuesta genómica, mientras que los receptores de membrana activan vías no genómicas o vías genómicas indirectas (Contrò et al., 2015).

Los receptores nucleares para andrógenos y estrógenos son miembros de la superfamilia de receptores nucleares que también incluyen aquellos para la progesterona, glucocorticoides, mineralocorticoides, vitamina D, hormonas tiroideas y ácido retinoico (Contrò et al., 2015). Todas estas hormonas pueden difundirse libremente a través de la membrana plasmática y unirse con sus receptores que luego interactúan con los sitios de unión específicos en el ácido desoxirribonucleico (ADN), actuando, así como "factores de transcripción regulados por hormonas esteroideas" (Contrò et al., 2015). Los receptores nucleares de esteroides

sexuales son factores de transcripción localizados principalmente en el citoplasma, pero también en la membrana celular, que regulan la expresión de los genes diana mediante la unión a secuencias específicas presentes en el ADN denominados "elementos de respuesta a los esteroides sexuales" (Contrò et al., 2015). Los elementos de respuesta a los esteroides sexuales son secuencias de nucleótidos específicamente reconocidas por el complejo hormona-receptor (Tremblay et al., 1997). La dimerización de los receptores nucleares se produce en respuesta a la unión del ligando, esto causa un cambio conformacional que expone una superficie del receptor con la cual los reguladores transcripcionales pueden interactuar (Contrò et al., 2015). Esto conduce a la translocación nuclear del ligando y los receptores homo u heterodiméricos al elemento de respuesta a esteroides sexuales en el promotor de los genes diana, una vez ahí recluta los corre reguladores y forma la maquinaria transcripcional para la expresión génica regulada por la SSR (Wright et al., 2009; Leitman et al., 2012; Contrò et al., 2015). Los pares de hormona y receptor dimerizados son elementos reguladores específicos del ADN que activan o reprimen la transcripción de genes regulados por esteroides. La traducción de los mensajes de ácido ribonucleico mensajero (ARNm) en los ribosomas citoplásmicos conduce a la producción de las proteínas apropiadas que modifican la función celular, el crecimiento o la diferenciación (Contrò et al., 2015). En ausencia de las hormonas, los receptores de esteroides sexuales, que incluyen los receptores de andrógenos, progesterona y estrógenos, existen como complejos oligoméricos inactivos que son secuestrados en el citoplasma por la proteína de choque térmico de 90 kilodaltones, que se comporta como una chaperona molecular, por lo que estos complejos funcionan como represores de la actividad transcripcional (Picard, 2006).

Los receptores de hormonas sexuales de membrana están acoplados a proteína G (Contró et al., 2015). Algunos ejemplos de receptores de membrana identificados que son responsables de la respuesta genómica indirecta de los esteroides son GPR30 para el estrógeno, mPR para la progesterona y GPRC6A para el andrógeno (Contró et al., 2015). La regulación hormonal de una variedad de vías de señalización, así como los efectos directos e indirectos sobre la expresión génica regulan hacia arriba o hacia abajo y modifican la distribución de los receptores de neurotransmisores y por lo tanto la conducta (McEwen y Milner, 2017).

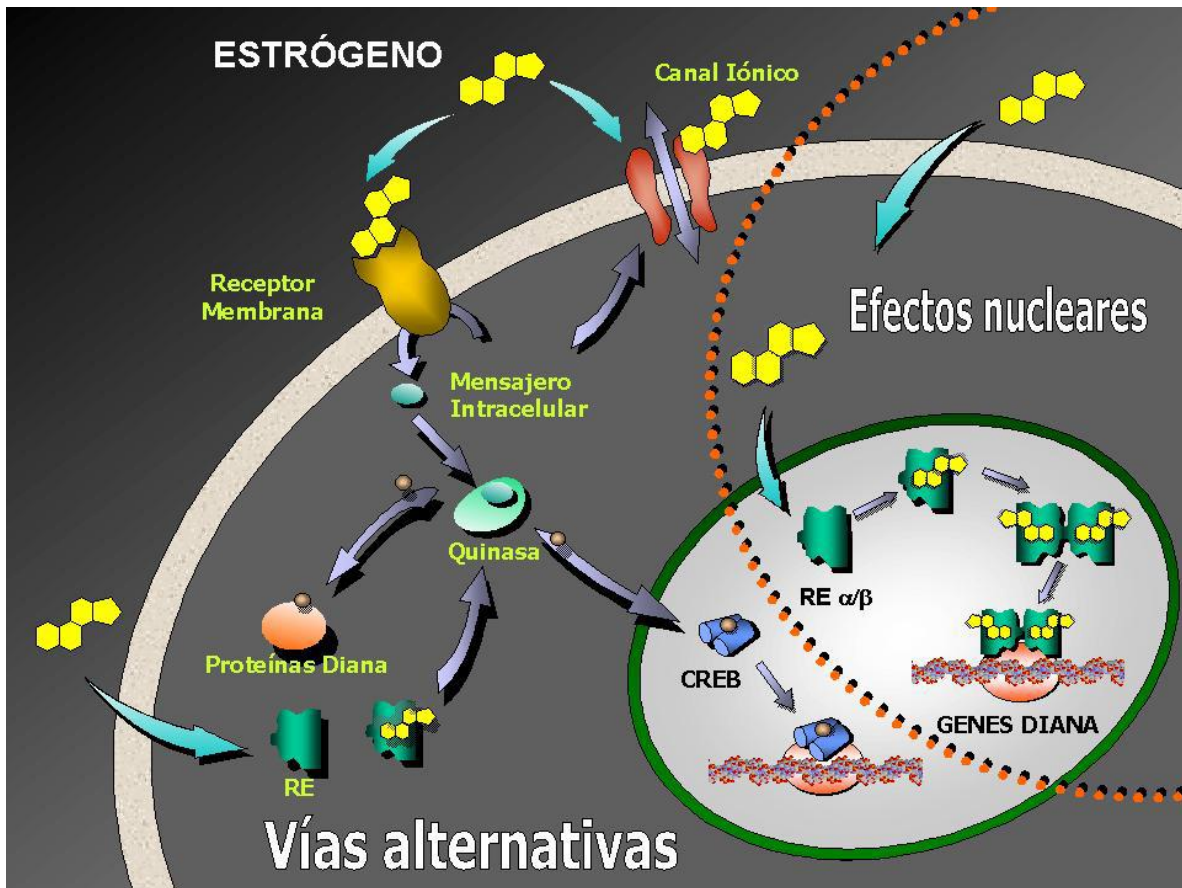


Figura 10. La multiplicidad de receptores para las hormonas sexuales esteroideas como los estrógenos. Los receptores nucleares para estrógenos alfa o beta ($RE \alpha/\beta$) al unirse al estradiol forman dímeros que se translocan al núcleo de la célula en donde se asocian con coactivadores tales como el coactivador de receptores a esteroides 1 (SRC-1, de sus siglas en inglés) y la proteína de unión a CREB (CBP, de sus siglas en inglés) y forman parte del complejo de preiniciación para inducir la transcripción. En adición a este efecto genómico de largo plazo, los receptores de estrógenos están también asociados a las membranas de las neuronas en donde actúan a través de transducción de señales como las que involucran a las cinasas activadas por mitógenos. Las hormonas esteroideas como el estradiol también actúan sobre canales iónicos y receptores acoplados a proteínas G (McCarthy, 2008). Imagen tomada de Ropero Lara (2001).

1.8 EL ÁREA PREÓPTICA MEDIAL

El área preóptica medial es el sitio neuroanatómico de integración de la conducta sexual masculina en todas las especies de vertebrados estudiadas (Hull y Rodríguez-Manzo, 2009). Cada modalidad sensorial envía señales a través de diversos relevos sinápticos al área preóptica medial, y conexiones recíprocas que le permiten modificar el procesamiento de la información sensorial (Simerly y Swanson, 1986). El área preóptica medial se conecta con muchas otras regiones cerebrales, tales como el núcleo arcuato, el núcleo del lecho de la estría terminal, el núcleo paraventricular del hipotálamo, el núcleo ventromedial hipotalámico, el núcleo del tracto solitario, el núcleo medial de la amígdala y el área tegmental ventral (véase Figura 11; Hull y Rodríguez-Manzo, 2009).

El área preóptica medial comprende subnúcleos fuertemente interconectados con diversas conexiones y contenido de neurotransmisores (Simerly y Swanson, 1986; Hull y Rodríguez-Manzo, 2009). La zona medial periventricular regula la función neuroendócrina, y una zona medial, incluyendo al núcleo medial preóptico y al núcleo preóptico posterodorsal controlan el comportamiento materno (Hull et al., 2006; Hull y Rodríguez-Manzo, 2009). El área preóptica medial es esencial para la cópula y contribuye a la motivación sexual (Hull y Rodríguez-Manzo, 2009). Las fibras eferentes del área preóptica medial que se proyectan hacia el hipotálamo, mesencéfalo y los núcleos del tronco cerebral regulan los patrones somatomotores, autonómicos, los reflejos genitales y los estados de motivación asociados a la cópula (Simerly y Swanson, 1988).

Las lesiones bilaterales en el área preóptica medial eliminan el 100% de la cópula en numerosas especies en un rango que va desde peces hasta monos (Hull y Rodríguez-Manzo, 2009). Si son unilaterales disminuyen la motivación sexual en varios contextos, incluyendo

la preferencia de pareja, persecución de la hembra en ratas y en el caso de los hurones; el inicio de la cópula, además de su desempeño sexual en diversas especies (Hull y Rodríguez-Manzo, 2009).

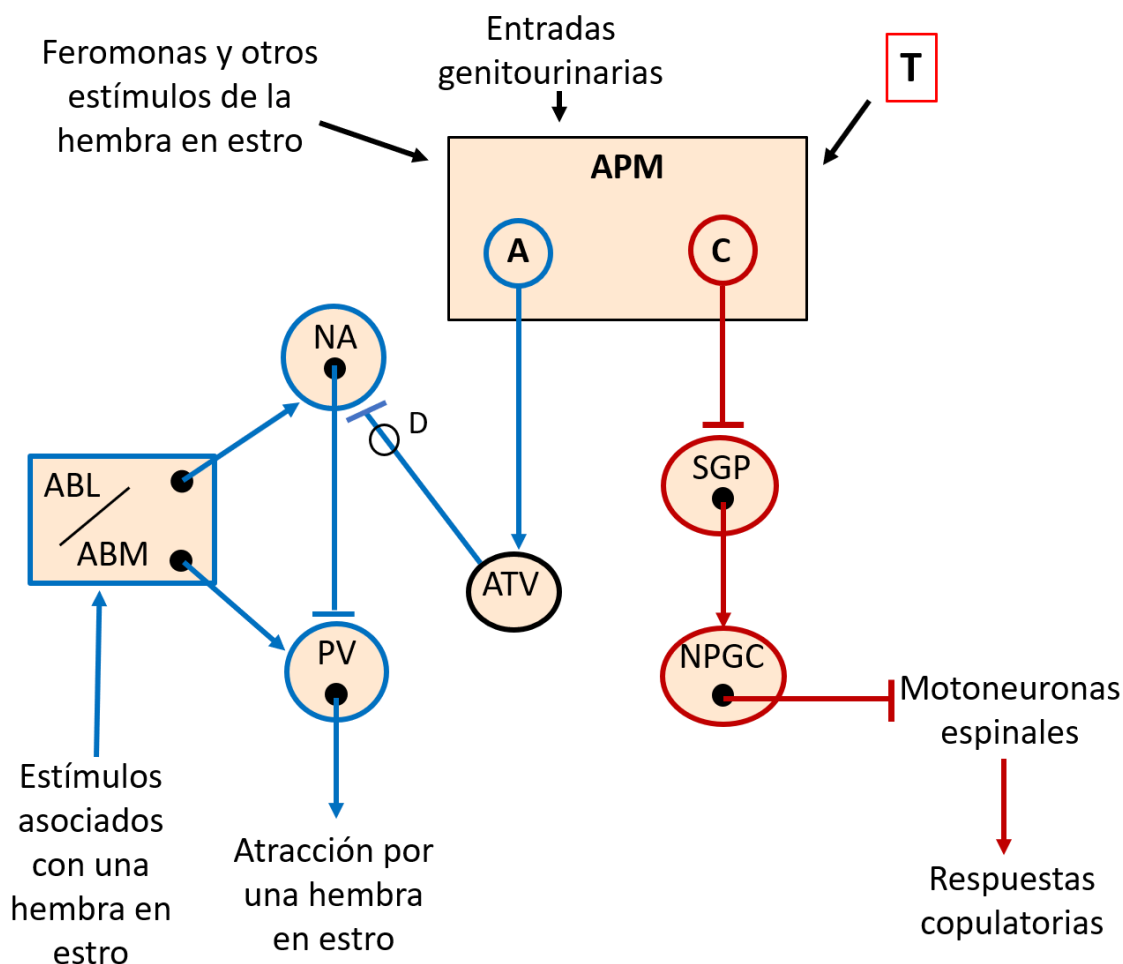


Figura 11. Modelo neural que muestra los circuitos que pueden regular los componentes apetitivos (azul) y consumatorios (rojo) del comportamiento sexual masculino en ratas. El área preóptica medial (APM) contiene dos poblaciones separadas de neuronas que controlan las respuestas sexuales masculinas apetitivas (A) o consumatorias (C). Las neuronas APM que regulan las respuestas apetitivas lo hacen, en parte, a través de proyecciones inhibitorias al gris periacueductal (SGP). Las neuronas APM que regulan las respuestas sexuales apetitivas en los machos lo hacen a través de proyecciones excitatorias a las neuronas dopaminérgicas (D) del área tegmental ventral (ATV). Ver texto para detalles adicionales. Los axones que terminan en una barra son inhibitorios, y los que terminan en una flecha son excitatorios. Otras abreviaturas: ABL = amígdala basolateral; ABM = amígdala basomedial; NA = núcleo accumbens; NPGC = núcleo paraventricular; T = testosterona; PV = pálido ventral.

1.9 EL COMPLEJO ENZIMÁTICO DE LA AROMATASA Y LA CONDUCTA SEXUAL MASCULINA

La aromatasa es el complejo enzimático que cataliza la síntesis de estrógenos a partir de los andrógenos y, por lo tanto, tiene un potencial único para influir en el equilibrio fisiológico entre las hormonas esteroides sexuales (Conley y Hinshelwood, 2001). Tanto la aromatasa citocromo P450 como la nicotinamina adenina dinucleótido fosfato (NADPH)-citocromo P450 reductasa, los dos componentes esenciales del complejo enzimático, están altamente conservadas entre los mamíferos y los vertebrados (Conley y Hinshelwood, 2001; véase la Figura 13). La enzima aromatasa P450 se expresa en las gónadas y el cerebro, y es esencial para el desarrollo reproductivo y la fertilidad, y es codificada por el gen *Cyp19/CYP19* (Conley y Hinshelwood, 2001). En el ovario, la expresión de la aromatasa P450 es más alta en las células de la granulosa de los folículos preovulatorios (Hickey et al., 1988). En algunas especies, como los humanos y roedores, la aromatasa P450 también puede ser localizada en el cuerpo lúteo (Doody et al., 1990). En los testículos, la actividad aromatasa es encontrada en las células de Sertoli antes de la pubertad y en las células de Leydig de roedores macho adultos (Abney, 1999). El control de la expresión de la aromatasa es específica de cada tejido en particular, a través del uso de promotores específicos de tejido y a través del empalme alternativo del ARNm (Simpson et al., 1997). Además, en varias especies, incluidos los seres humanos, la expresión de la aromatasa tiene una distribución tisular amplia, incluido el sincitiotrofoblasto de la placenta, células del estroma adiposo, osteoblastos, fibroblastos, ciertas porciones de la vasculatura, y varios tejidos fetales (Simpson et al., 1994; Harada et al., 1999; Conley y Hinshelwood, 2001). En hembras de mamíferos, la actividad de la aromatasa en tejidos extra ováricos provee la única fuente de estradiol en la menopausia natural o postquirúrgica u ovariectomía en modelos animales;

(Shay et al., 2018). La aromatasa es esencial para toda la vida de hembras y machos (Shay et al., 2018).

La enzima aromatasa P450 (P450arom) cataliza la aromatización de los andrógenos a través de una serie de tres hidroxilaciones secuenciales y utiliza el oxígeno molecular y equivalentes reductores proporcionados por la nicotinamina adenín dinucleótido fosfato (NADPH)-citocromo P450 reductasa (véanse las Figuras 12 y 13). El resultado es la pérdida de un grupo metilo angular en el carbono 19 y la fenolización del anillo A de los andrógenos (Cole y Robinson, 1988; Thompson y Siiteri, 1974; Lephart, 1996; Conley y Hinshelwood, 2001).

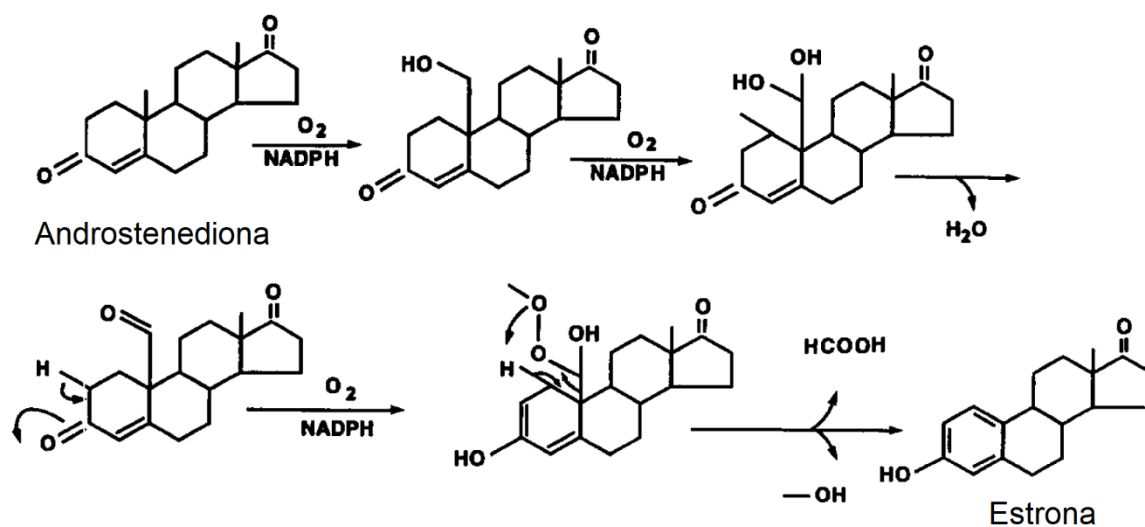


Figura 12. Secuencia de la reacción de la aromatasa. La aromatización de los andrógenos a estrógenos se lleva a cabo en el retículo endoplasmático, el O_2 y el NADPH son requeridos para esta conversión, 3 moles de cada uno son consumidos por cada mol de estrógenos producidos. Los reductores equivalentes del NADPH vía la flavoproteína a la reducción aromatasa P450, la cual se une al andrógeno (sustrato) y se le inserta una molécula de oxígeno. Tres hidroxilaciones secuenciales son ilustradas arriba. El sustrato es la androstenediona y el producto final es la estrona. Durante la reacción de la aromatasa el grupo metilo del carbono 19 se pierde como ácido fórmico, concomitante con la aromatización del anillo "A" a una estructura fenólica. Modificado de Lephart (1996).

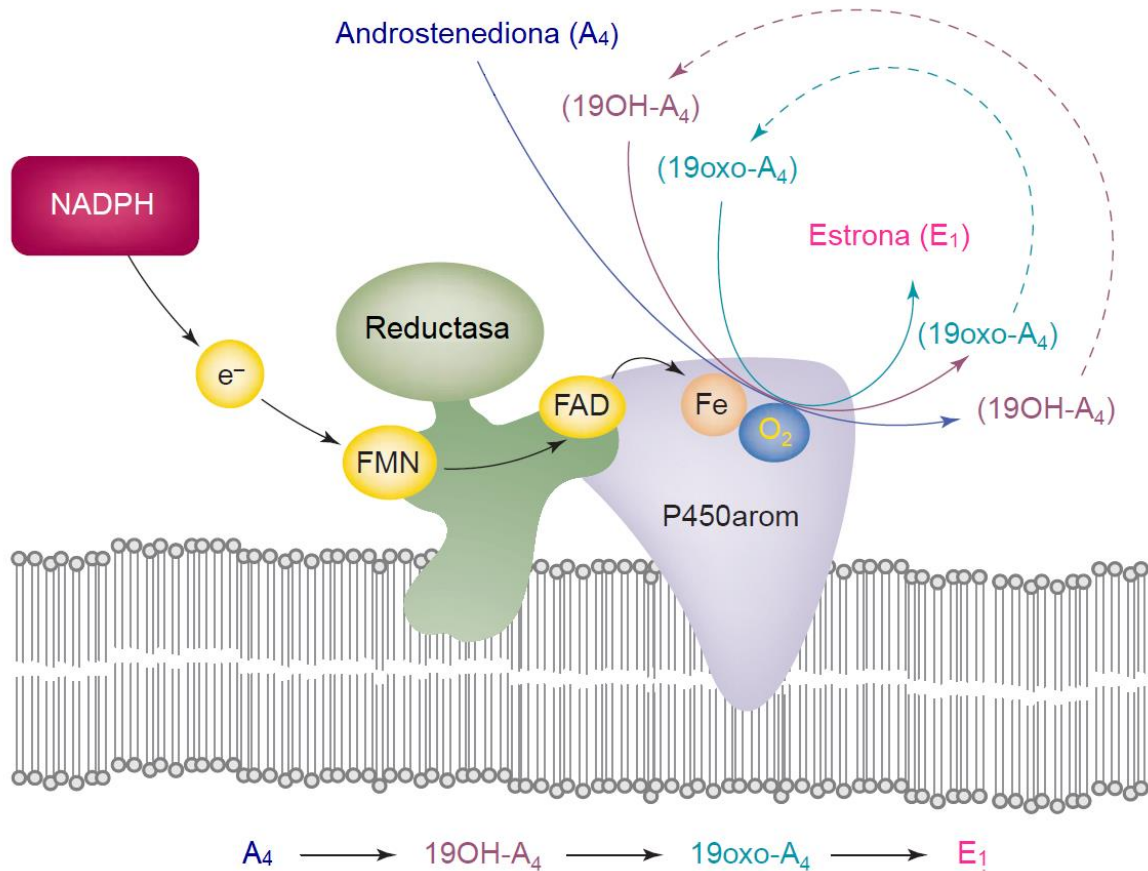


Figura 13. Diagrama esquemático de la membrana microsomal que es una vesícula formada por membranas provenientes del retículo endoplásmico y que ancla el complejo enzimático de la aromatasa. Este consiste en la aromatasa citocromo P450 (P450arom) y de la proteína asociada NADPH-citocromo P450 oxidoreductasa (reductasa). Se indican los grupos prostéticos de flavina de la reductasa, dinucleótido de adenina de flavina (FAD) y mononucleótido de flavina (FMN). También se muestran los equivalentes reductores como electrones (e^-) del fosfato dinucleótido de nicotamina adenina (NADPH), junto con el hierro (Fe) del hemo y oxígeno (O_2) en el bolsillo de unión al sustrato de P450arom. Se requieren tres ciclos oxidativos para convertir los sustratos C19 en este caso androstenediona (A_4), a través de sus intermediarios (19OH- A_4 y 19oxo- A_4) para la síntesis final de estrógeno. Aunque los intermediarios se muestran en paréntesis, lo que indica sólo una aparición transitoria, en muchos casos pueden escapar de un metabolismo adicional y convertirse en productos de reacción adicionales. La reacción de aromatización completa se muestra debajo del diagrama. Modificado de Conley y Hinshelwood (2001).

Las gónadas y las glándulas adrenales son comúnmente conocidas como fuente de hormonas esteroideas (Cornill y Bournonville, 2018). Las hormonas esteroideas también son producidas en el cerebro ya sea *de novo* o a través de la conversión de un precursor que llega de la periferia (Cornill y Bournonville, 2018). Este es en particular el caso de los estrógenos cuya producción por aromatización de la testosterona en el cerebro es requerido para activar el espectro completo de efectos de la testosterona sobre la conducta (Balthazart

y Ball, 2013; Cornill y Bournonville, 2018). En el sistema nervioso central se ha observado que la actividad de la aromatasa no se distribuye de manera homogénea, es decir, se han observado niveles altos de actividad de la aromatasa P450 en el área preóptica medial, en el núcleo del lecho de la estría terminal, en la amígdala cortical y medial, en el núcleo preóptico periventricular, en el núcleo supraquiasmático, en el hipotálamo anterior, en el hipotálamo anterior periventricular, en el núcleo arcuato, en la eminencia media y en el núcleo supraóptico en la rata macho adulta (Roselli y Resko, 1993). Por el contrario, su actividad es moderada en la hipófisis y en otras regiones cerebrales (Roselli y Resko, 1987; 1993; Lephart, 1996). En el diencefalo de la rata macho, se ha observado que existe un gradiente en la actividad de la aromatasa P450 de rostral a caudal y desde medial a lateral (Lephart, 1996).

En regiones hipotalámicas, pero no límbicas de roedores adultos, la actividad de la enzima aromatasa está regulada por hormonas gonadales (Roselli y Resko, 1984; Shay et al., 2018). Es decir, la castración de ratas macho adultas disminuye la actividad de la enzima (Roselli y Resko, 1984); es por esto que, el número de neuronas inmunorreactivas a la aromatasa P450 disminuyen después de la castración en el área preóptica, pero no en la amígdala medial o en el núcleo del lecho de la estría terminal (Jakab et al., 1983).

La disponibilidad de potentes inhibidores de la aromatización ha proporcionado un medio conveniente para probar la hipótesis de que la conversión de testosterona en estradiol en el cerebro es un paso necesario en las acciones de la testosterona sobre la conducta sexual masculina (Bonsall et al., 1992).

La aromatasa desempeña un papel vital en el desarrollo cerebral y en la función neuroconductual en ambos sexos (Shay et al., 2018). Por lo tanto, las investigaciones han buscado las diferencias sexuales potencialmente vitales en el papel de la aromatasa, en particular con respecto a sus efectos mediados centralmente (Shay et al., 2018). Para caracterizar el papel de la aromatasa en la mediación de tales funciones, se han determinado los efectos de los tratamientos con inhibidores de la aromatasa en humanos y modelos animales. También se han empleado ratones carentes del gen para la aromatasa (ArKO). Los seres humanos que poseen mutaciones en el gen que codifica la aromatasa, CYP19, también han proporcionado información sobre cómo la aromatasa afecta la función cerebral de una manera dependiente del sexo, por ejemplo, en conductas sociosexuales, emotivas, cognitivas y la memoria (Shay et al., 2018).

Existe una ventana embrionaria crítica durante la cual el cerebro está programado para ser masculino o femenino (McCarthy et al., 2017; Shay et al., 2018). Este período crítico en ratas es predominantemente durante los últimos 5-7 días de gestación y hasta alrededor del día 10 postnatal (Schwarz, 2016; Shay et al., 2018). La exposición perinatal a inhibidores de la aromatasa durante el período crítico de la diferenciación sexual en el cerebro masculino tiene un efecto a largo plazo en la conducta sexual de ratas macho (Balthazart et al., 2004). El tratamiento con el inhibidor de la aromatasa androst-4-eno-3,6,17-triona (ATD) del día 1 al 5 postnatal a ratas macho castradas en el día 1 postnatal no afectó el desarrollo del pene o la capacidad de las ratas para lograr la intromisión peneana, pero ninguna de las ratas macho tratadas con androst-4-eno-3,6,17-triona lograron alcanzar la eyaculación (Booth, 1978). El tratamiento de ratas macho en el útero (día 11 al 22 de gestación) con el inhibidor de la aromatasa 4-hidroxi-androstenediona causó reducción en

la actividad de la aromatasa en el continuo hipotalámico y preóptico de los fetos y de las crías masculinas, que se asoció con un aumento del 65% de la conducta de lordosis en la edad adulta (Takahashi et al., 1989). Sólo el 50 % de los animales tratados con letrozol lograron aparearse con hembras receptivas y el 25% de los que no lograron copular con hembras receptivas, mostraron conducta sexual femenina (lordosis) cuando se pretrataron con estrógeno (Gerardin y Pereira, 2002). Además, hubo una disminución en el número de espermatozoides en los testículos y en la producción diaria de espermatozoides (Gerardin y Pereira, 2002).

La aromatización es importante para la expresión de la conducta sexual de la rata macho adulta (Balthazart et al., 2004). Los andrógenos aromatizables como la testosterona o la androstenediona activan el comportamiento sexual masculino en los machos castrados, mientras que los andrógenos no aromatizables como la 5 α -dihidrotestosterona o la metiltienolona (R1881), las cuales tienen poco o ningún efecto en mamíferos (McDonald et al., 1970; Whalen y Luttge, 1971) y aves (Adkins, 1977; Adkins et al., 1980; Balthazart et al., 1985; Balthazart et al., 2004).

Los inhibidores de la aromatasa, como la androstatrienediona, la androst-1, 4, 6-triene-3, 17-dione, la aminoglutetimida, el fadrozol o el vorozol inhiben notablemente o bloquean completamente la activación del comportamiento sexual masculino inducido por la testosterona en mamíferos macho castrados (Christensen et al., 1975; Beyer et al., 1976; Morali et al., 1977; Bonsall et al., 1992), y en aves (Adkins et al., 1980; Balthazart et al., 1990; Foidart et al., 1994; Schlinger y Callard, 1990; Soma et al., 1999; Soma., 2000; Balthazart et al., 2004). Además, varios estudios han demostrado que los efectos de los inhibidores de la aromatasa en la activación del comportamiento por la testosterona se

revierten completamente por la administración concurrente de un estrógeno (Adkins et al., 1980; Balthazart et al., 2004).

Se han obtenido ratones carentes del gen que codifica para la aromatasa. Los machos con esta modificación no muestran preferencia hacia a las hembras en estro, ni por el olor depositado en el aserrín; el 42 % de ellos no copula y los que lo hacen tienen una latencia de monta más larga y montan un menor número de veces (Bakker et al., 2002; Bakker et al., 2004). Por lo tanto, de estos ratones tan solo un 23 % son fértiles (Simpson y Davis, 2001).

Estos datos sugieren que el proceso de aromatización de los andrógenos participa de manera importante en el proceso de diferenciación sexual cerebral (componente organizacional) y en la inducción de la conducta sexual masculina (componente activacional; Lephart, 1996), esto se explicará a detalle en la siguiente sección.

1.10 LA DIFERENCIACIÓN SEXUAL DEL CEREBRO EN LA RATA ALBINA DE LABORATORIO.

Uno de los procesos más fundamentales y diversos en la historia de la vida de un organismo es la determinación del sexo (Gamble y Zarkower, 2012; Trukhina et al., 2013). La determinación sexual debe ser un proceso muy antiguo, ya que existen sexos masculinos y femeninos en diversos organismos, desde corales hasta gusanos, insectos, peces, aves y mamíferos (Trukhina et al., 2013). El desarrollo del fenotipo sexual consta de tres etapas predeterminación cromosómica, determinación del sexo que consiste en la formación de las gónadas y la diferenciación del sexo que se refiere al desarrollo de los caracteres sexuales secundarios que se han descrito en diferentes grupos de vertebrados (Trukhina et al., 2013). La consideración de diferentes grupos de animales taxonómicos permitió establecer dos

mecanismos generales de determinación del sexo: la determinación genética del sexo y la determinación externa del sexo. La determinación externa del sexo en los muchos vertebrados depende de la temperatura ambiental. Sólo para mencionar, otras variables ambientales que pueden actuar como mecanismos determinantes del sexo en invertebrados y vertebrados incluyen: la proximidad de los conespecíficos, como se encuentra en el gusano marino equiurido, *Bonellia viridis* donde las larvas planctónicas aisladas se convierten en hembras, mientras que las que se encuentran cerca de hembras se convierten en machos; el fotoperíodo, como en algunas poblaciones del camarón de agua salobre, *Gammarus duebeni*, los machos se producen en días largos y las hembras se producen en días cortos. La determinación del sexo dependiente de la temperatura se descubrió por primera vez en reptiles: tortugas, cocodrilos, pero no en serpientes (Trukhina et al., 2013). El mecanismo principal de la determinación del sexo dependiente de la temperatura es poco conocido y ocurre en especies con cromosoma Y indiferenciado (Trukhina et al., 2013). Una temperatura más alta puede producir machos o hembras, y los rangos de temperatura y la duración de la exposición que influyen en la determinación externa del sexo son notablemente variables entre las especies (Trukhina et al., 2013). Un patrón común de determinación del sexo dependiente de la temperatura, visto en caimanes y cocodrilos y algunas especies de tortugas y lagartos, involucra a hembras que se desarrollan a temperaturas de incubación tanto altas como bajas, mientras que los machos se producen a temperaturas intermedias (Gamble y Zarkower, 2012).

Se describió que los lagartos, las serpientes, las tortugas y los peces óseos tienen todos los mecanismos mecanismos de determinación del sexo (Gamble y Zarkower, 2012; Trukhina et al., 2013).

Las aves y los mamíferos se caracterizan solo por la determinación genética del sexo. Hay dos sistemas genéticos de determinación del sexo: con machos heterogaméticos XY (mamíferos) y hembras heterogaméticas ZW (aves). Ambos sistemas genéticos se encuentran en los anfibios (Gamble y Zarkower, 2012; Trukhina et al., 2013). En los organismos con cromosomas sexuales heteromórficos, como las aves y los mamíferos, el sexo se establece en la fertilización por la herencia diferencial de los cromosomas sexuales (Trukhina et al., 2013). El supuesto lógico es que los genes determinantes del sexo, heredados en la fertilización, se activan en las gónadas durante la vida embrionaria o larvaria. Sin embargo, los diversos reportes de dimorfismos sexuales somáticos que preceden al desarrollo gonadal requieren una definición más considerada de la determinación del sexo (Cooke et al., 1998; Trukhina et al., 2013). Al igual que en los mamíferos, el sexo en las aves es estrictamente genético y se rige por la constitución del cromosoma sexual establecida en la fertilización. Sin embargo, los cromosomas sexuales de las aves no están relacionados con los de los mamíferos. Las aves tienen un sistema de cromosomas sexuales ZZ macho: ZW femenino, y carecen del homólogo al gen determinante de testículos en mamíferos, SRY (Major y Smith, 2016). Actualmente, el mecanismo exacto de la determinación del sexo en aves no se ha resuelto definitivamente. El sexo puede ser controlado por un determinante femenino (u ovárico) dominante en el cromosoma sexual W, o puede depender de la dosis del cromosoma Z (2 para machos, 1 para hembras) o una combinación de ambos mecanismos. Sin embargo, a la luz de la ausencia de inactivación del cromosoma Z global en aves (Ellegren et al., 2007; Arnold et al., 2013; Uebbing et al., 2013; Major y Smith, 2016)

Aunque la mayoría de los genes que participan en el desarrollo gonadal se conservan en vertebrados, incluidas las especies con determinación externa del sexo, Los patrones temporales y espaciales de expresión génica varían entre las especies. La Aromatasa (CYP19), la cual regula nivel de estrógeno gonadal, se ha propuesto que es el principal objetivo de un factor termosensible putativo para la determinación del sexo dependiente de la temperatura. Se sabe que los niveles de estrógeno pueden influir en la determinación del sexo o la diferenciación de gónadas dependiendo de la especie. Los esteroides de yema de huevo de origen materno (en animales ovíparos) y los esteroides producidos por el sistema nervioso embrionario también deben considerarse como fuentes de hormonas que pueden desempeñar un papel en la diferenciación sexual dependiente de la temperatura. Además, hay genes termosensibles: en *Emydidae* — *sox9*, en *Testudinae* — *sox9*, *sfl* y *wt1*, y en *Emydidae* — *dax1*. Se propuso que, en el caso de la determinación del sexo dependiente de la temperatura, una cadena de genes *amh-sox9* funciona afectando la aparición de testículos en contraste con los otros genes de la cadena en la determinación del sexo en mamíferos *sry-sox9-amh* (Cutting et al., 2013; Trukhina et al., 2013; Valenzuela et al., 2013)

En el desarrollo sexual temprano, los genes de los cromosomas sexuales determinan si un animal desarrollará testículos u ovarios, en un proceso denominado determinación sexual (Lenz et al., 2012; Trukhina et al., 2013). Los animales con el cromosoma Y que contiene el gen SRY los cuales desarrollarán testículos y todos los fenotipos asociados con el macho, y en ausencia de SRY, un programa genético por defecto conducirá al desarrollo de ovarios y el fenotipo asociado a la hembra (Lenz et al., 2012). Partiendo de este proceso primario de la determinación del sexo es la diferenciación sexual por el cual otros tejidos toman el fenotipo masculino o femenino incluyendo a nivel del SNC (Lenz et al., 2012).

La diferenciación sexual es controlada en gran medida por las tres clases principales de hormonas esteroides que son producidas por las gónadas: andrógenos, estrógenos y progestinas (Arnold y Gorski, 1984). En la visión tradicional de la diferenciación sexual del cerebro, estas hormonas gonadales actúan en el cerebro durante un período sensible perinatal para organizar un fenotipo masculino o femenino (McCarthy et al., 2012). Los efectos activacionales se refieren a la acción de los esteroides sexuales en los circuitos neuronales que ya se han desarrollado, y sólo afectan la actividad funcional, esto es la regulación del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal, electrofisiología, contenido de neurotransmisores, expresión genética, etc. de estos circuitos en organismos postpuberales esto es sexualmente maduros (McCarthy et al., 2012). Posteriormente a esta activación, las mismas hormonas gonadales actúan sobre el cerebro masculino o femenino durante toda la vida para producir comportamientos sexo-específicos (Arnold y Gorski, 1984). En esta visión clásica de los efectos de las hormonas sexuales sobre el cerebro y la conducta se acuñó la hipótesis de las acciones organizacionales y las activacionales siguiendo la hipótesis de Phoenix et al. (1959), y que ha sido el paradigma utilizado para estudiar esencialmente cada diferencia sexual en los comportamientos (Lenz et al., 2012). Este enfoque se utiliza para determinar en primer lugar si una diferencia de sexo en el cerebro y en el comportamiento es organizado por las hormonas gonadales en un período crítico, y determinar si se activa en la edad adulta dependiendo de los niveles de hormonas gonadales (McCarthy et al., 2012).

En los roedores macho, el gen SRY que se encuentra en el cromosoma Y conduce al desarrollo de testículos, los cuales sintetizan andrógenos prenatalmente (McCarthy et al., 2012). Los niveles de testosterona en plasma aumentan rápidamente a final del periodo

embrionario y existe un pico después del nacimiento (McCarthy et al., 2012). Una vez en el cerebro, la testosterona se convierte por la acción de la enzima aromatasa P450 en estradiol, la cual actúa para masculinizar y defeminizar el cerebro (Lenz et al., 2012). Un segundo período organizacional ocurre peripuberalmente, cuando las hormonas esteroides comienzan a aumentar. En la edad adulta el cerebro diferenciado es activado por las hormonas gonadales circulantes: los andrógenos en los machos; estrógenos y progestágenos en las hembras, para producir diferencias sexuales en el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas y en las conductas copuladoras (Figura 14; Lenz et al., 2012).

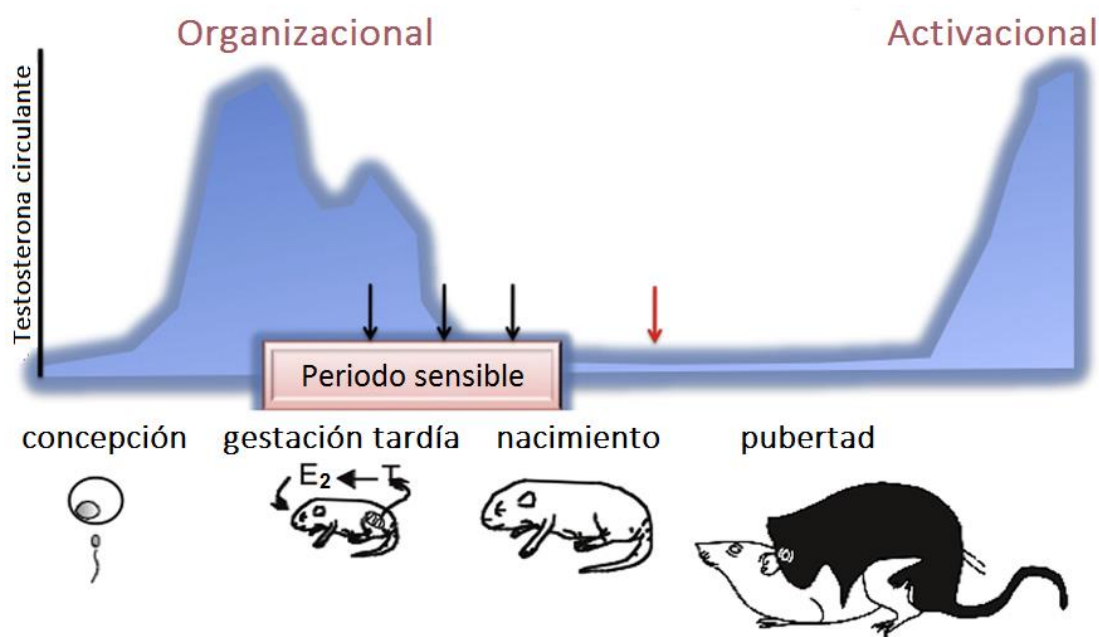


Figura 14. La diferenciación sexual del cerebro ocurre durante un período sensible en el desarrollo. En los roedores el periodo sensible comienza prenatalmente con el inicio de la producción de testosterona testicular en machos, el cual perdura brevemente en la etapa postnatal antes de declinar a niveles indetectables hasta la etapa adulta temprana. Durante el desarrollo los andrógenos gonadales ganan acceso al cerebro a través del sistema circulatorio, y es aromatizado hacia estradiol localmente dentro de las neuronas. Las acciones combinadas de los andrógenos y el estradiol organizan el sustrato neural hacia un fenotipo masculino. En ausencia de los altos niveles de hormonas gonadales el fenotipo cerebral por defecto es el femenino. El tratamiento de las hembras con andrógenos aromatizables o estrógenos durante el periodo sensible (flechas negras) inducirá la masculinización del cerebro, mientras que el mismo tratamiento fuera de este periodo sensible (flecha roja) no tiene ningún efecto y define el término del periodo sensible. Los esteroides gonadales producidos en la pubertad entonces actúan en el sustrato neural organizado para activar el típico comportamiento reproductivo masculino (monta) o femenino (lordosis). Modificado de McCarthy (2012).

1.11 EL PATRÓN COPULATORIO EN GRUPOS RATAS MACHO DIFIERE AL EVALUAR GRANDES POBLACIONES

La experiencia sexual juega un rol fundamental en el desempeño y en la eficiencia de la ejecución de la conducta sexual (Hull y Rodríguez-Manzo, 2009). La experiencia sexual confiere un incremento en la eficiencia y eficacia con que se copula, incluyendo pocas montas e intromisiones antes de alcanzar la eyaculación; además de que las latencias son más cortas para la monta, la intromisión y la eyaculación, al compararlos con animales sexualmente inexpertos (Dewsbury, 1969; Hull, et al., 2002; Hull y Rodríguez-Manzo, 2009; Antonio-Cabrera y Paredes, 2012). La experiencia sexual también hace más eficiente la detección olfatoria de los roedores macho de las señales químicas emanadas de la hembra e incrementa su fertilidad (Hull y Rodríguez, 2009). Los efectos de las lesiones en el núcleo del lecho de la estría terminalis (NLET); (Claro et al, 1995); del núcleo sexualmente dimórfico del área preóptica medial (Arendash y Gorski, 1983) y del bulbo olfatorio (Bermant y Taylor, 1969) producen mayores efectos en machos sexualmente inexpertos que aquellos con experiencia sexual. La eyaculación activa más neuronas, evaluado a través de la activación de c-Fos en las neuronas del área preóptica medial (Lumley y Hull, 1999); y del núcleo accumbens, en ratas macho con experiencia sexual en comparación con los animales sexualmente inexpertos (López y Ettenberg, 2002). Las ratas con experiencia sexual también tienen mayores niveles de la enzima óxido nítrico sintasa en el área preóptica medial, así como una mayor secreción de andrógenos testiculares respecto de los machos sexualmente inexpertos. Finalmente, la experiencia sexual incrementa la emisión de vocalizaciones ultrasónicas precopulatorias con una frecuencia de 50 kHz (Hull y Rodríguez, 2009). La rata macho sexualmente experta (SE) eyacula luego de realizar alrededor de 7 a 15 intromisiones en un periodo de 10 a 15 minutos después de estar en

contacto con una hembra sexualmente receptiva (Portillo et al., 2006b; Eguibar et al., 2016).

La mayor parte de nuestra comprensión actual de la neurobiología, neuroanatomía y psicofarmacología del comportamiento sexual y de la función eyaculatoria se ha derivado de estudios preclínicos en la rata (Hull y Rodríguez-Manzo, 2009; Olivier et al., 2006). En un estudio realizado por Olivier y Waldinger (2005) se analizó la actividad sexual a una gran población de ratas macho de la cepa Wistar en pruebas sucesivas de al menos 4 pruebas una vez a la semana, con el tiempo las ratas individuales muestran un comportamiento sexual muy estable en base del cual podemos clasificarlas como copuladoras lentas, promedio o rápidas, las cuales se caracterizan por el número de eyaculaciones alcanzadas en pruebas estandarizadas de cópula *ad libitum* por 30 minutos (Pattij et al., 2005; Waldinger y Olivier, 2005; Olivier et al., 2006). En una población grande de ratas Wistar esta variabilidad en la latencia de eyaculación tiene una distribución normal y en los extremos se encuentran representados con aproximadamente el 10% cada uno a los copuladores lentos y los copuladores rápidos (Pattij et al., 2005; Waldinger y Olivier, 2005; Olivier et al., 2006).

Las ratas macho copuladores lentos presentan patrones eyaculatorios infrecuentes e irregulares, estos animales montan e intrometen, pero tardan más de 28 minutos para eyacular o no eyaculan en pruebas con más de una hora de duración (Kohlert y Bloch, 1996; Waldinger y Olivier, 2005; Portillo et al., 2006b; Antonio-Cabrera y Paredes, 2012; Olivier et al., 2006). Estos individuos presentan preferencia por las hembras receptivas, al igual que los machos sexualmente expertos, esto es tienen una adecuada orientación sexual (Portillo et al., 2006b). Asimismo, no existe diferencia entre las ratas macho copuladores

lentos y sexualmente expertos en la habilidad de aprender, actividad general y conducta locomotora, esto es no tienen déficit motor (Kohlert y Bloch, 1996; Portillo et al., 2006b).

Las ratas macho copuladores promedio tienen una latencia de eyaculación de 12 minutos o menos, con 8 intromisiones en promedio (Pattij et al., 2004; Antonio-Cabrera y Paredes, 2012). Los copuladores rápidos tienen una latencia de monta e intromisión menor y un mayor número de eyaculaciones que los copuladores promedio y los copuladores lentos; además de una latencia de eyaculación de aproximadamente 4 minutos. (Pattij et al., 2005; Waldinger y Olivier, 2005; Olivier et al., 2006).

Algunas ratas macho (alrededor de un 1 a 2% de la población) no logran aparearse después de haber sido colocados en varias ocasiones con hembras receptivas, por lo que, se les ha denominado no copuladoras (Portillo et al., 2007). En los machos no copuladores, se interrumpen los componentes consumatorios y motivacionales del despliegue sexual (Portillo et al., 2006a). Las ratas macho no copuladores huelen y lamen los genitales femeninos, muestran funciones eréctiles y eyaculatorias normales fuera de la cópula, del mismo modo, tienen niveles esteroides sexuales normales, pero son incapaces de montar e intrometer a las hembras (Portillo y Paredes, 2003). Las ratas no copuladoras no muestran preferencia por una hembra receptiva o un macho sexualmente activo. Las pruebas olfativas revelaron que machos sexualmente expertos, no copuladores y copuladores lentos tienen la misma capacidad para discriminar olores de hembras en estro o de aromas no sexuales como el de plátano o el de la menta, lo que determina una discriminación olfatoria normal y eficiente (Portillo y Paredes, 2004; De Gasperin et al., 2008). Con respecto a las pruebas de la motivación sexual, las hembras pasan el mismo tiempo en la zona de incentivo de los machos copuladores, copuladores lentos y no copuladores. Estos resultados muestran que

los machos copuladores, copuladores lentos y no copuladores son igualmente atractivos para las hembras receptivas (De Gasperin et al, 2008).

En cuanto a la actividad neuronal, sólo las ratas macho copuladoras expuestas al aserrín proveniente de una hembra en estro tuvieron un aumento en el número de células inmunorreactivas para c-Fos en todas las estructuras de la vía olfatoria accesoria proveniente del órgano vomeronasal con una diferencia significativa respecto de las copuladoras lentas y no copuladoras (Portillo y Paredes, 2004). De hecho, se ha observado un incremento significativo en el número de células inmunorreactivas para c-Fos en el área preóptica medial de los sexualmente inexpertos, lo que no sucede en las ratas macho no copuladoras (Portillo y Paredes, 2004). El número de células inmunorreactivas a los receptores de andrógenos en los machos no copuladores fue significativamente mayor en comparación con los machos copuladores en el área preóptica medial, y en la amígdala dorsal, anterior y posterior (Portillo et al., 2006a). Asimismo, las ratas no copuladoras tienen un número significativamente mayor de células inmunorreactivas al receptor α de estrógenos en la amígdala dorsal, posterior y anterior; sin embargo, en el área preóptica medial se redujo significativamente en machos no copuladores, así que las diferencias en el número de receptores a andrógenos y a estrógenos en determinadas áreas del cerebro podrían estar asociadas, con las alteraciones en el comportamiento sexual de los machos no copuladores (Portillo et al., 2006a). Se ha encontrado que la actividad de la aromatasa está significativamente reducida en el núcleo preóptico medial de ratas macho no copuladoras en comparación a los machos copuladores, este resultado puede estar asociado con la falta de conducta coital masculina en ratas no copuladoras (Portillo et al, 2007).

1.12 LAS ERECCIONES DEL PENE Y SU REGULACIÓN DOPAMINÉRGICA EN LA RATA ALBINA DE LABORATORIO

La erección del pene es básicamente un reflejo espinal que puede ser inducida por un estímulo del sistema nervioso periférico o bien desde el sistema nervioso central (Anderson, 2011). Un pene erecto es necesario para liberar el esperma dentro del tracto reproductivo de la hembra. Algunos penes de los mamíferos son altamente vasculares y otros tienen características fibroelásticas (Hull et al., 2002; Hull et al., 2009).

La estructura anatómica básica del pene es común en las especies de mamíferos. La mayor parte del tronco del pene es ocupado por los dos cuerpos cavernosos que están fusionados en la mayoría de las especies, mientras que el cuerpo esponjoso rodea a la uretra y se extiende hasta el glande (Hull et al., 2002; Hull et al., 2009). El cuerpo cavernoso consiste en largas cavernas sinuosas o trabéculas que reciben sangre de las arterias helicinales las cuales a su vez reciben sangre de la arteria cavernosa (Hull et al., 2002; Hull et al., 2009). El cuerpo cavernoso está rodeado por una cápsula fuerte (la túnica albugínea), que cuando se llena de sangre, la presión intracavernosa es capaz de obstruir el flujo hacia las venas lo que atrapa la sangre en el pene, el cual se agranda y se pone rígido (Hull et al., 2002; Hull et al., 2009). El extremo proximal del cuerpo cavernoso se adelgaza dentro de la crura (piernas) que están unidos al isquion y que están rodeados por el músculo isquiocavernoso (Hull et al., 2002; Hull et al., 2009). El extremo proximal del cuerpo esponjoso se extiende dentro del bulbo uretral y está rodeado por el músculo bulboesponjoso (Hull et al., 2002; Hull et al., 2009). La contracción del músculo isquiocavernoso apoya al incremento de la presión cavernosa y la contracción del músculo bulboesponjoso incrementa la presión en el glande (Gerstenberg et al., 199; Hull et al., 2009). La relativa contribución de factores

vasculares y musculares varía entre las especies, en la rata depende más de los músculos del pene y en los humanos es un fenómeno esencialmente vascular (Gerstenberg et al., 1993; Schmidt and Schmidt, 1993; Hull et al., 2009).

La regulación nerviosa central de la función eréctil involucra vías espinales y supraespinales (véase Figura 15; Steers, 2000; Anderson, 2011). La neurotransmisión central es compleja y parcialmente conocida. Una variedad de mecanismos supraespinales influyen en la conducta sexual incluyendo a las erecciones del pene, estímulos visuales, olfatorios, auditivos y táctiles pueden provocar respuestas eréctiles sobre todo en los sexualmente expertos (Zempoalteca et al., 2008; Steers, 2000; Anderson, 2011). La información externa puede estimular la actividad sexual a través de las diferentes vías sensoriales (visuales, olfativas, táctiles y auditivas) que, con la excepción del sistema olfativo, alcanzan las áreas corticales correspondientes y luego se proyectan hacia áreas de asociación corticales polimodales (Moreland 2001). Las cortezas piriformes y entorrinales tienen conexiones neuronales extensas con estructuras límbicas como la amígdala (Moreland 2001). Los sistemas espinales y supraespinales que controlan la excitación sexual están localizados predominantemente en el sistema límbico como son los núcleos olfatorios, área preóptica medial, núcleo accumbens, amígdala e hipocampo y en el hipotálamo: núcleo paraventricular, y núcleo ventromedial; (Melis y Argiolas, 2011; Anderson, 2011). En particular, la amígdala medial, el área preóptica medial, el núcleo paraventricular del hipotálamo, la sustancia gris periacueductal y el tegmento ventral son reconocidas como estructuras clave en el control central de la respuesta sexual masculina (Melis y Argiolas, 2011; Anderson, 2011). En ratas, lesiones de la amígdala medial aumenta significativamente las erecciones reflejas en ratas (Kondo et al., 1998). La

estimulación eléctrica del área preóptica medial, el núcleo paraventricular del hipotálamo o la formación hipocampal pueden provocar unas respuestas eréctiles (Anderson, 2011). El haz prosencefálico medial, es la principal vía eferente de los centros hipotalámicos hacia el cerebro medio. Los aferentes principales del área preóptica medial se proyectan al área del cerebro medio a través del haz prosencefálico medial, además el área preóptica medial también envía proyecciones al PVN (Moreland et al., 2001). Las estructuras límbicas envían proyecciones a áreas del puente troncoencefálico-médula que son críticas para la regulación de la función urinaria y la regulación de la función sexual masculina. El área preóptica medial proporciona una innervación densa y selectiva a regiones discretas en el puente troncoencefálico, a saber, el núcleo de Barrington y las áreas circundantes del locus coeruleus. Se cree que el núcleo de Barrington es un regulador de la función visceral pélvica, ya que se proyecta a un núcleo parasimpático sacro conocido por regular el reflejo de micción y la función gastrointestinal y genital (Moreland et al., 2001). Las neuronas de la columna vertebral y del tronco encefálico que inervan los músculos del pene se han identificado mediante técnicas de rastreo neuronal. Inyección de virus de pseudorrabia en los músculos del pene marcaron a las interneuronas espinales, simpáticas espinales y neuronas preganglionares parasimpáticas, así como neuronas en el rafe, área gris periacueductal, locus coeruleus y núcleo de Barrington (McKenna, 1998). La estimulación eléctrica del núcleo de Barrington incrementó ligeramente la presión intracavernosa en ratas descerebradas, mientras que la estimulación de las áreas ventrolateral y caudal al núcleo de Barrington aumentó significativamente la presión intracavernosa, lo que demuestra su papel en la función sexual masculina (Moreland et al., 2000; Moreland 2001). Parece que hay una red espinal que consta de aferentes primarios de los genitales, interneuronas espinales y núcleos simpáticos, parasimpáticos y somáticos. Esta red parece

capaz de integrar información de la periferia y provocar erecciones reflejas y también parece ser el receptor de información supraespinal (Giuliano y Rampin, 2000; Anderson, 2011).

Entre los neurotransmisores centrales y los neuropéptidos que controlan la erección del pene, los más conocidos son la serotonina, dopamina, oxitocina, aminoácidos excitadores, óxido nítrico, adrenocorticotropina/hormona estimulante de melanocitos (α -MSH) y péptidos opioides. Pueden facilitar o inhibir la erección del pene actuando en varias áreas del cerebro como el área preóptica medial, el núcleo paraventricular del hipotálamo, el área ventral tegmental, el hipocampo, la amígdala, el núcleo del lecho de la estría terminal, el núcleo accumbens, la médula oblonga y la médula espinal (Melis y Argiolas, 2011; Anderson, 2011). El núcleo paraventricular del hipotálamo parece tener un papel central y el óxido nítrico y la oxitocina parecen ser los actores principales en la mediación del efecto (Anderson, 2011). Los andrógenos también tienen un papel importante, la falta de testosterona puede reducir o anular los efectos de muchos de los transmisores que median la erección (Anderson, 2011).

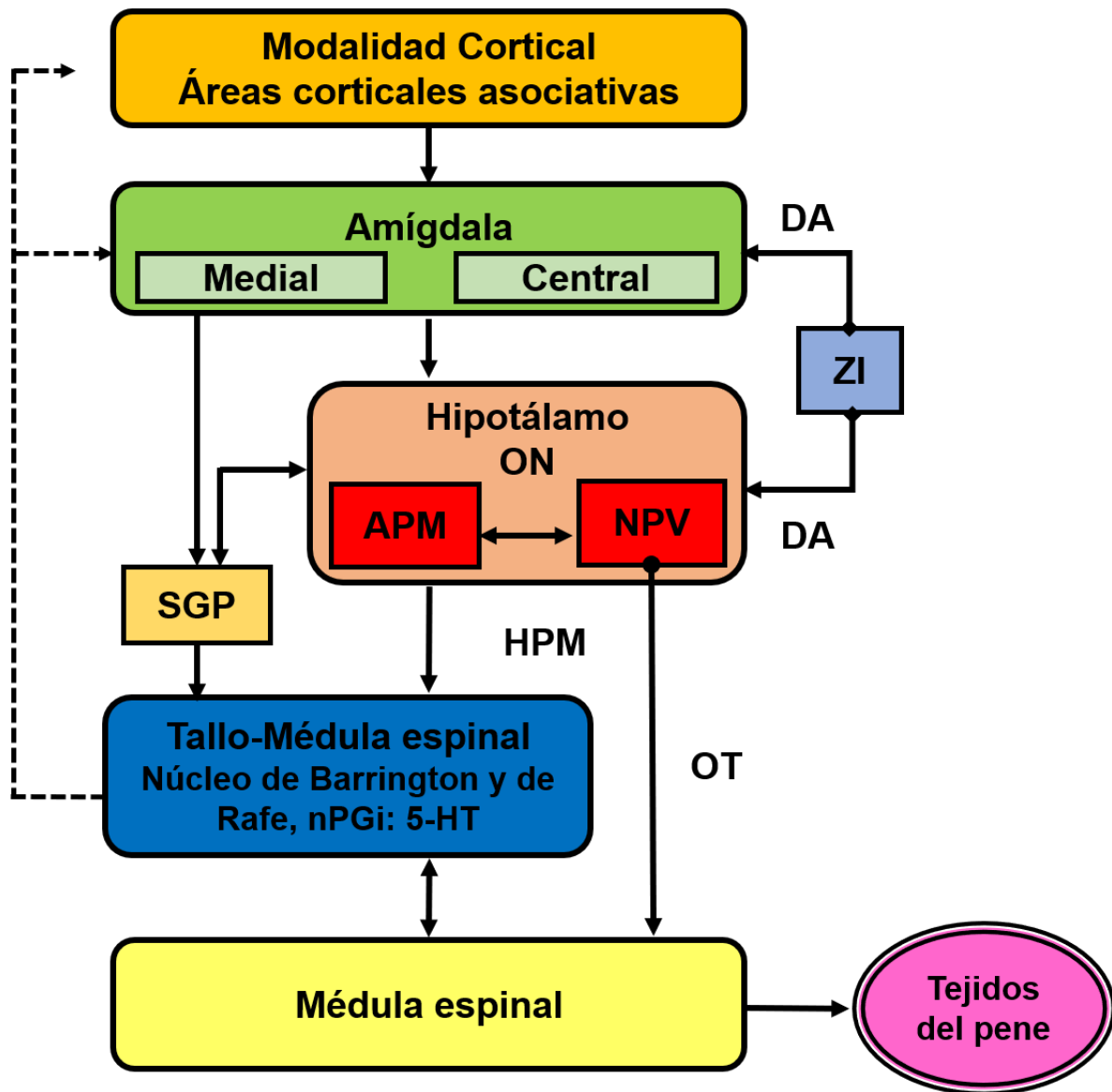


Figura 15. Conexiones neuroanatómicas y neurotransmisores en el sistema nervioso central implicados en la erección del pene. AMP, área preóptica medial; NPV, núcleo paraventricular del hipotálamo; HPM, haz prosencefálico medial; SGP, sustancia gris periacueductal; ZI, zona incerta; ON, óxido nítrico; nPGi, núcleo paragigantocelularis; DA, dopamina; OT, oxitocina; 5-HT, serotonina. Modificado de Moreland et al., 2001.

Las tres vías principales que controlan las erecciones del pene: los nervios pélvicos, primariamente parasimpáticos y proeréctiles; los nervios hipogástricos y los nervios pudendos con fibras somatosensoriales y motoras (Hull et al., 2009). La principal inervación proeréctil es a través del nervio pélvico (Lue et al., 1995; Hull et al., 2009), que se origina en la médula espinal lumbosacra y viaja a través del plexo pélvico hacia el ganglio pélvico y el nervio cavernoso a los cuerpos cavernosos y la vasculatura del pene, a través de la arteria pudenda que se bifurca en arteria dorsal y arteria cavernosa (Dail et al., 1986; Hull et al., 2009; Anderson, 2011). Además de las fibras parasimpáticas, lleva algunos axones simpáticos postganglionares (Dail et al., 1986; Hull et al., 2009). El control somatomotor es ejercido por neuronas en el núcleo espinal del bulbocavernoso y los núcleos dorsolaterales del cordón espinal lumbosacro (Schrøder, 1980). Sus axones viajan en el nervio pudendo, el cual se divide en ramas sensoriales y motoras, ambas de las cuales llevan eferentes simpáticas (McKenna y Nadelhaft, 1986; Hull et al., 2009). La sección del nervio pélvico disminuye de manera significativa las erecciones reflejas y erecciones sin contacto (Cruz et al., 1999). La estimulación de los músculos isquiocavernoso y bulboesponjoso cuando el pene esta flácido no resulta en una erección, pero si el pene está erecto la contracción del músculo estriado incrementa rápidamente su rigidez e incrementa la presión intracavernosa a niveles sistólicos (Schmidt y Schmidt, 1993; Hull et al., 2009).

La tercera vía principal lleva primariamente influencia simpática antieréctil (Diederichs et al., 1991; Giuliano et al., 1995). Los axones preganglionares viajan por la vía de los nervios espláncnicos lumbares o la cadena simpática paravertebral (Jänig y McLachlan, 1987; Hull et al., 2009) y hace sinapsis sobre neuronas en el plexo hipogástrico o la cadena simpática paravertebral, respectivamente (Hull et al., 2009). Las fibras postgangliónicas viajan a

través de dos rutas principales. Primero el nervio hipogástrico retransmite al plexo pélvico y entonces a través del nervio cavernoso inerva el pene (Hull et al., 2009). Segundo, axones de la cadena simpática paravertebral que viaja vía por el nervio pélvico al plexo pélvico y entonces a través del nervio cavernoso al pene, proveyendo la mayoría de las entradas noradrenérgicas al pene (Giuliano y Rampin, 2000).

Aunque la influencia principal de la entrada simpática es antieréctil, un efecto proeréctil ha sido observado en ratas anestesiadas (Giuliano et al., 1997). La estimulación eléctrica al área preóptica medial incrementa la presión cavernosa, este incremento es abolido por la sección bilateral de los nervios cavernosos o pélvicos, indicando que el principal efecto proeréctil de el área preóptica medial es por vía el sistema parasimpático. Sin embargo, la sección bilateral de la cadena simpática paravertebral a nivel L4 y L5 también disminuye significativamente el efecto de la estimulación de el área preóptica medial (Hull et al., 2009; Cruz et al., 1999). Los sistemas simpáticos pueden producir vasoconstricción en áreas no peneanas y por tanto desviar la sangre hacia el pene y mejorar la erección. Por lo tanto, se ha postulado que la AMP es capaz de producir erección por una activación coordinada de los sistemas simpáticos y parasimpáticos (Hull et al., 2009).

1.12.1 TIPOS DE ERECCIONES EN LA RATA MACHO

Ocasionalmente los roedores machos tienen erecciones en su hábitat o en una arena de prueba neutral sin un estímulo sexual obvio. Tales erecciones pueden incrementarse por la administración de ciertas drogas. Estas erecciones espontáneas o inducidas por drogas normalmente consisten en la extensión del glande del prepucio y es acompañado frecuentemente de aseo genital. La obvia ventaja de este modelo es su simplicidad. Sin

embargo, las erecciones inducidas por drogas pueden ser modificadas por la exposición a una cópula previa (Hull et al., 2002).

Cabe la pena destacar que los roedores machos frecuentemente tienen erecciones en presencia de una hembra receptiva inaccesible o con las feromonas de una hembra en estro (Kondo et al., 1999; Sachs, 1997; Hull et al., 2002). Tales erecciones son similares a las espontáneas o inducidas por drogas, han sido consideradas como un modelo psicogénico de erección en hombres, tal como sucede al ser expuestos a imágenes sexualmente relevantes o al escuchar relatos eróticos (Sachs, 2000; Hull et al., 2002). Las erecciones sin contacto pueden ser acompañadas de aseo genital, envites pélvicos, levantamiento de los talones de las patas traseras (Sachs, 2000; Hull et al., 2002). Estas son provocadas por estímulos centrales en vez de periféricos, sin embargo, los estímulos primarios que provoca tales erecciones en roedores son olfatorias, mientras que las erecciones psicogénicas en hombres son visuales o auditivas sugiriendo que las vías centrales que provocan esas erecciones pueden diferir entre ambas especies (Hull et al., 2002). Al igual que con las erecciones espontáneas e inducidas por fármacos, la ventaja de este modelo es su simplicidad. Además, hay evidencia que diferentes áreas del cerebro pueden regular las erecciones sin contacto versus las erecciones que se tienen durante la cópula (Hull et al., 2002).

Las erecciones provocadas por estimulación manual también son referidas como erecciones reflejas en muchas especies, sin embargo, la estimulación táctil en las ratas (Hart, 1968) y ratones (Sachs, 1980) inhibe la erección, para superar esta dificultad, los reflejos peneanos pueden ser provocados manteniendo al animal sobre su espalda y retrayendo de manera sostenida el prepucio del pene (Hart, 1968). La presión alrededor de la base del pene provoca erecciones (alargamiento del glande debido a la vasodilatación del nervio

esponjoso) y anteroflexiones (flips o vueltas, elevaciones del pene debido a que el cuerpo cavernoso se llena de sangre y que se acompañan de la contracción de los músculos isquiocavernosos; Hull et al., 2002). Existen tres grados en la erección del glande: (1) alargamiento y elevación del cuerpo del pene; (2) ensanchamiento y dilatación del glande y (3) dilatación intensa del glande en forma de copa (véase Figura 16; Hull et al., 2002). La copa deposita el eyaculado en el cérvix de la hembra, en donde se coagula y forma un tapón, este tapón previene que el semen salga de la vagina, sin este la preñez raramente ocurre (Sachs,1982; (Hull et al., 2002).

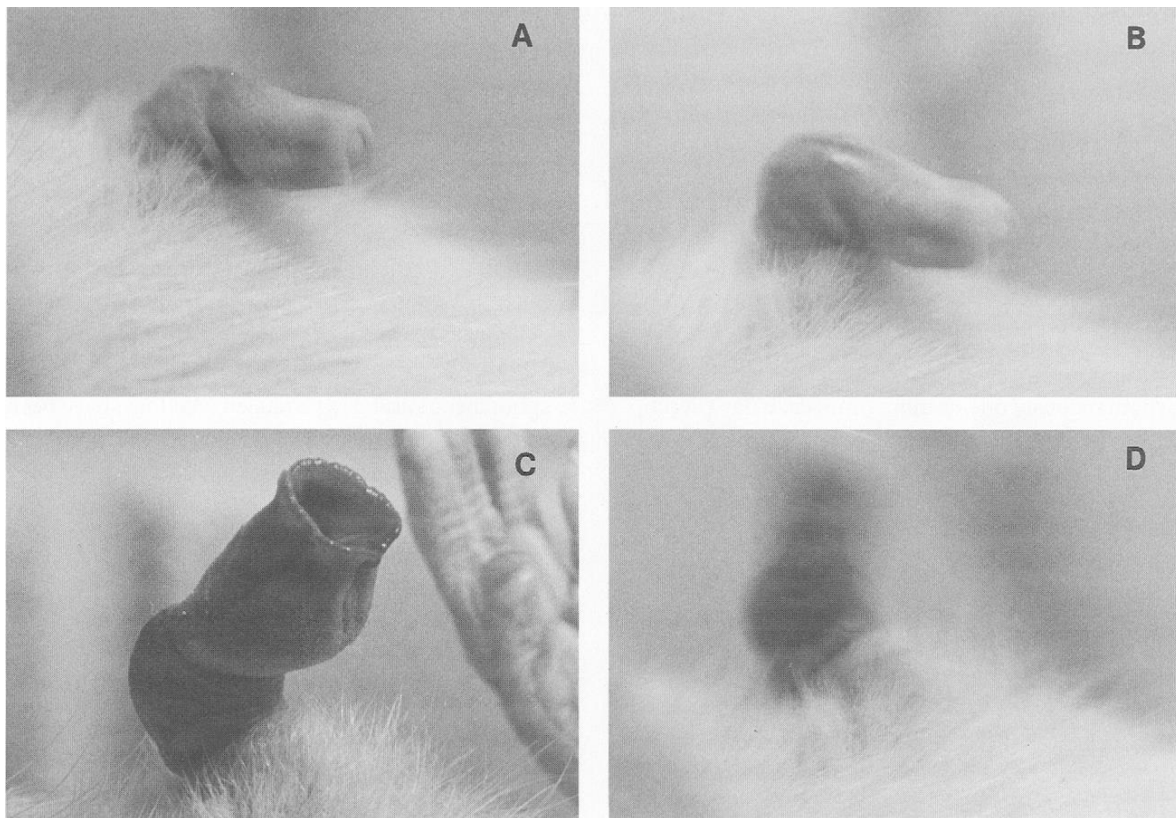


Figura 16. Erecciones reflejas mostradas por ratas macho es posición supina después de la retracción de la vaina del pene. (A) El pene inactivo (flácido). (B) Tumescencia y elevación del cuerpo del pene sin erección del glande. (C) Erección intensa del glande ("copa") y del cuerpo del pene. (D) Anteroflexión ("tirón") del pene debido a un enderezamiento del cuerpo del pene. Tomado de Hull et al (2002).

1.12.2 EL NÚCLEO PARAVENTRICULAR DEL HIPOTÁLAMO Y LOS PRINCIPALES NEUROTRANSMISORES INVOLUCRADOS EN LAS ERECCIONES DEL PENE.

El núcleo paraventricular del hipotálamo (NPV), la oxitocina y las neuronas que contienen oxitocina juegan un papel importante en la regulación de central de la erección (Anderson, 2001; Anderson 2011). Las neuronas oxitocinérgicas se originan en el NPV y proyectan hacia áreas extrahipotalámicas como, el área tegmental ventral caudal, el hipocampo, la amígdala y el cordón espinal (Geerling, 2010; Anderson, 2011). Estas neuronas son activadas por si mismas por la oxitocina, la dopamina, aminoácidos excitatorios, péptidos análogos a hexarelina y son inhibidas por la estimulación mediada por GABA (de sus siglas en inglés gamma-aminobutyric acid), opioides y a receptores cannabinoides (Anderson, 2011). La activación de las neuronas oxitocinérgicas produce la activación de la óxido nítrico sintasa (ONS), presente en estas neuronas, el óxido nítrico media la activación de las neuronas oxitocinérgicas, lo que causa la liberación de oxitocina en el cordón espinal y en áreas cerebrales extrahipotalámicas (Argiolas et al., 2005; Anderson, 2011; Melis y Argiolas, 2011).

1.12.3 LA DOPAMINA Y LAS ERECCIONES DEL PENE

La dopamina es la principal catecolamina en el SNC y está involucrado en una gran variedad de funciones fisiológicas, incluyendo la conducta sexual. La dopamina tiene un efecto facilitador en la motivación sexual, eficiencia copulatoria y en los reflejos genitales (Hull et al., 2004).

Las neuronas dopaminérgicas centrales que regulan las erecciones del pene comprenden el sistema incertohipotalámico (SIH) con proyecciones al área preóptica medial y el núcleo paraventricular del hipotálamo (NPV; Björklund, 1975; Anderson, 2011). La zona incerta es una estructura diencefálica que consiste en la extensión dorsal de la formación reticular

(Moreland et al., 2001). La vía dopaminérgica incertohipotalámica (originalmente descrita como el grupo dopaminérgico A13) surge de la parte medial de la zona incerta e inerva la amígdala, el núcleo paraventricular del hipotálamo y el núcleo del área preóptica medial (Moreland et al., 2001). Las neuronas dopaminérgicas también han sido identificadas en el hipotálamo caudal dentro de la vía dopaminérgica diencéfalo-espinal para inervar el cordón espinal lumbosacro (Anderson, 2011). La dopamina, por lo tanto, participa en la regulación central de los componentes somáticos y autonómicos de los reflejos penianos (Anderson, 2011). Los receptores dopaminérgicos en mamíferos han sido clasificados en dos familias la D1, que comprende receptores del subtipo D1 y D5 y la familia de receptores D2 con los subtipos D2, D3 y D4 basado en su capacidad para modular la actividad de la enzima adenilato ciclasa (AC) (Beaulieu y Gainetdinov, 2011). En el SNC ambas familias han sido asociadas con las funciones eréctiles. Se ha encontrado la expresión de que todos los receptores dopaminérgicos de la familia D2 en los cuerpos celulares de las neuronas oxitocinérgicas del NPV, del núcleo supraóptico (NSO) y del área preóptica medial (Baskerville y Douglas, 2008; Baskerville and Douglas, 2009; Anderson, 2011), el cual ofrece un fuerte apoyo neuroanatómico a la hipótesis de que la dopamina y los receptores a la dopamina actúan directamente sobre las neuronas oxitocinérgicas involucradas en las funciones eréctiles (Anderson, 2001; Anderson, 2011). La participación de la dopamina en la función sexual, incluyendo la erección es ampliamente apoyada por estudios que demuestran que varias drogas dopaminérgicas tales como apomorfina, quinpirole, quinorelano y (-)-3-(3-hidroxifenil)-N-n-propylpiperidina (3-PPP) (Melis y Argiolas, 1995; Hsieh et al., 2004; Anderson, 2011). Por ejemplo, la apomorfina, un agonista dopaminérgico administrado sistémicamente a ratas macho induce erecciones del pene

(Benassi-Benelli et al., 1979; Sach et al., 1994), simultáneamente produce bostezo (Holmgren et al., 1985) y emisión seminal (Yonezawa, 2009; Anderson, 2001).

2 ANTECEDENTES

2.1 LAS RATAS HY Y LY COMO UN MODELO DE DESORGANIZACIÓN DEL PATRÓN COPULATORIO

2.1.1 LAS RATAS HY Y SU FRECUENCIA DE BOSTEZO

En el Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor del Instituto de Fisiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, contamos con una sublínea de ratas con una alta frecuencia de bostezo HY (del inglés high-yawning), obtenida a partir de un macho que bostezó 22 veces en una hora al ser observado en un cristalizador de vidrio (190 mm de diámetro y 100 mm de altura). A partir de este macho y mediante cruzamientos endogámicos esto es hermanos con hermanas; se obtuvo la sublínea de las ratas HY con un promedio de 20 bostezos/hora (b/h) por más de 90 generaciones, esto es un orden de magnitud mayor que las ratas Sprague-Dawley reproducidas al azar con menos de dos b/h (Urbá-Holmgren et al., 1990). Adicionalmente, se obtuvo una segunda sublínea endogámica con una baja frecuencia de bostezo espontáneo, la denominada LY (de sus siglas en inglés low-yawning), con una media de tan sólo 2 b/h (Urbá-Holmgren et al., 1990). La obtención de los animales HY nos ha permitido realizar distintos tipos de estudios acerca de la influencia de las variables medio ambientales y de los distintos tipos de sistemas de neurotransmisores sobre la frecuencia del bostezo en distintos contextos experimentales (Anías et al., 1984; Eguibar et al., 2002; Eguibar y Moyaho, 1997; Eguibar et al., 2010), para revisión véase Collins y Eguibar 2010. Por ejemplo, el trabajo realizado con el agonista muscarínico pilocarpina, en el cual se obtuvo diferencias significativas en la curva dosis respuesta en la frecuencia de bostezo entre las HY y LY en un ambiente novedoso, en la cual las rats HY tuvieron una frecuencia de bostezos mayor en un periodo de 45 minutos (Eguibar y Moyaho, 1997).

2.1.2 CORRELACIÓN ENTRE EL BOSTEZO Y LA ERECCIÓN DEL PENE ESPONTÁNEA E INDUCIDA POR AGENTES DOPAMINÉRGICOS.

Con la obtención de las ratas HY fue factible también determinar que existe una correlación entre el bostezo con las erecciones espontáneas del pene (Holmgren et al., 1985). Esta correlación se obtuvo igualmente con la administración de agonistas dopaminérgicos de la familia D₂ como la bromocriptina (Holmgren et al., 1984) o el quinpirole (Eguibar et al., 2003; Figura 17); (Holmgren et al., 1985; Eguibar et al., 2003); así como tras la administración intracerebroventricular de la hormona oxitocina (Eguibar et al., 2015).

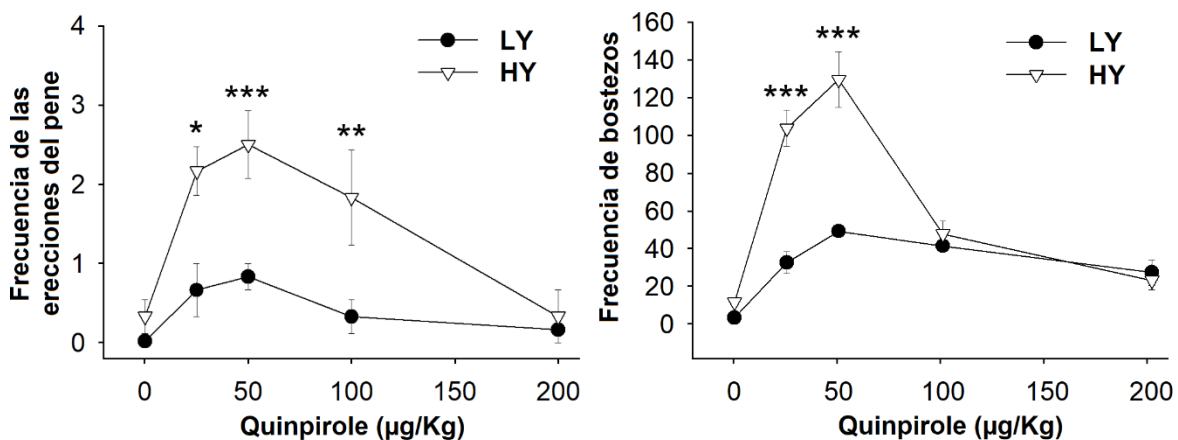


Figura 17. Efecto del quinpirole sobre las erecciones del pene y el bostezo. Note que la curva dosis efecto para ambos comportamientos son muy similares, pero el efecto es mayor en la sublínea HY. Tomado de Romero-Carbente et al (2000) y Eguibar et al (2003).

2.1.3 PATRÓN COPULATORIO EN RATAS HY Y LY

Considerando que las ratas HY muestran un número mayor de erecciones implica una mayor capacidad de respuesta de los circuitos espinales y supraespinales que controlan los procesos de erección del pene y de la eyaculación (Sachs y Barfield, 1976) por lo que se analizó su desempeño copulatorio y se encontró que este es diferente en las HY con respecto a las ratas LY y SD (Eguibar et al., 2016). La proporción de ratas, sin experiencia sexual, que alcanzaron la eyaculación se incrementó con cada sesión copulatoria en las ratas SD (círculos blancos), en los machos HY (círculos grises) y LY (círculos negros)

también hubo un incremento, pero fue significativamente menor que en las SD, además las ratas HY no eyacularon en la primera y segunda sesión copulatoria (Eguibar et al., 2016). En la cuarta sesión copulatoria únicamente el 22% de las ratas LY (círculos oscuros) y el 24% de las ratas de la sublínea HY alcanzaron la eyaculación. Tales porcentajes fueron significativamente más bajos respecto al 39% de los machos SD (véase Figura 18; Eguibar et al., 2016).

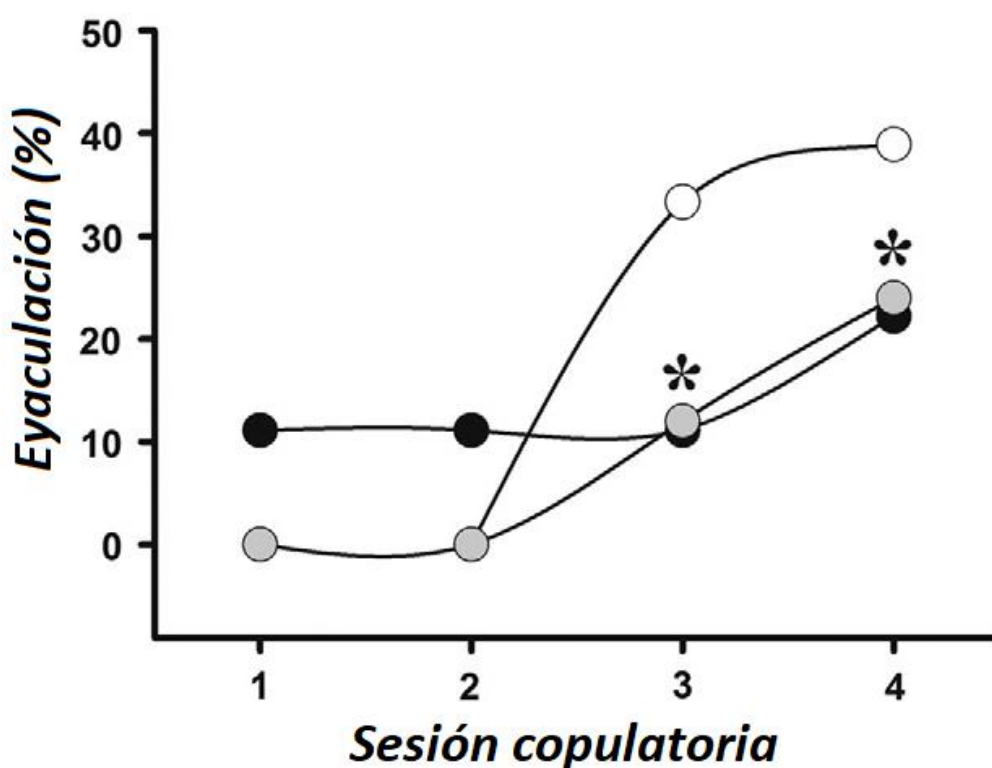


Figura 18. Proporción de ratas sin experiencia sexual que alcanzaron la eyaculación en cuatro sesiones copulatorias en diferentes grupos de ratas. El porcentaje de machos SD sin experiencia sexual que alcanzaron la eyaculación incrementa en la 3ª sesión, pero la proporción de ratas HY (círculos grises) y LY (círculos negros) fueron significativamente más bajas que en las ratas SD (χ^2 , *P< 0.05,). Modificado de Eguibar et al (2016).

En otros experimentos se describió que la proporción de ratas con experiencia sexual que alcanzaron la eyaculación incrementó con cada sesión copulatoria en ratas SD, un patrón similar fue mostrado por la sublínea LY. Sin embargo, en la sublínea HY la proporción de

ratas macho que alcanzaron la eyaculación es significativamente menor respecto a los otros grupos de ratas (Figura 19; Eguibar et al., 2016).

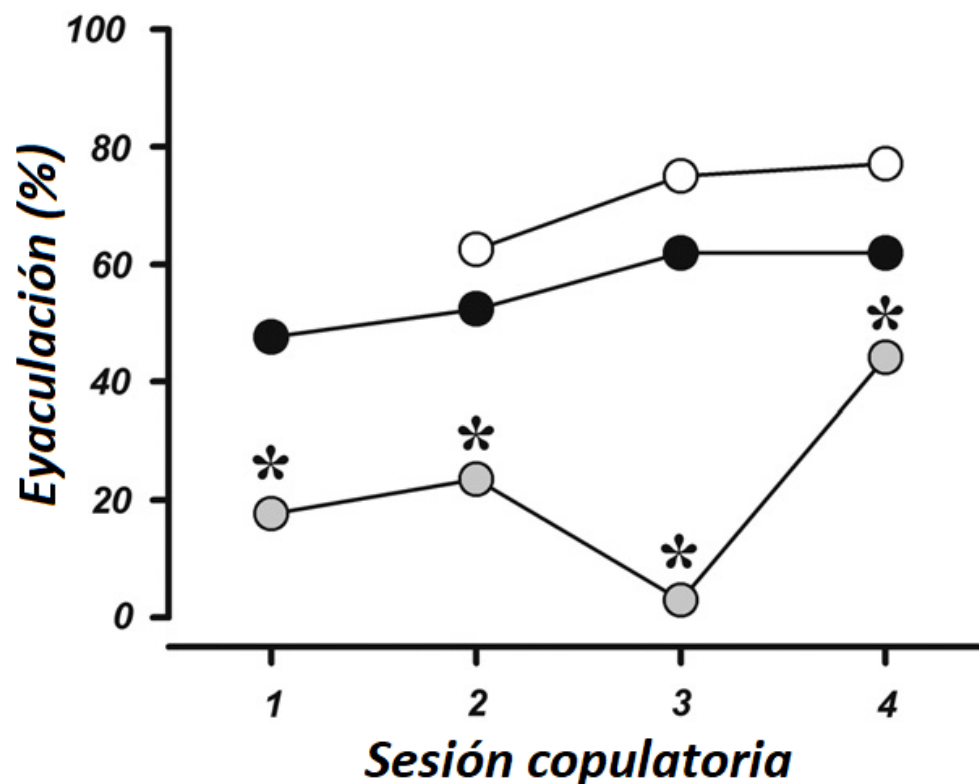


Figura 19. Proporción de ratas en macho con experiencia sexual en ambas sublíneas y en la cepa SD que alcanzaron la eyaculación. El porcentaje de ratas con experiencia sexual que alcanzaron la eyaculación en la cepa SD (círculos blancos) es similar a los de la sublínea LY (círculos negros), los machos HY mostraron una proporción de eyaculadores significativamente más baja en las cuatro sesiones copulatorias (χ^2 , * $P < 0.05$). Modificado de Eguibar et al (2016).

Eguibar et al., 2016 también reportaron que las latencias de intromisión son más cortas en las SD respecto a ambas sublíneas y que además en las SD estas latencias se hacen más cortas en varias sesiones copulatorias. En los machos SD y LY la latencia de eyaculación en la cuarta sesión de cópula fue más corta que en las primeras sesiones, es decir mejoran con la experiencia como se espera, no así en las HY. Los intervalos post-eyaculatorios son más largos en las ratas macho HY a diferencia de los machos LY y SD. La organización de la cópula difiere entre las dos sublíneas porque el número de episodios copulatorios son significativamente más altos en las ratas macho HY que en las LY; y además las HY

muestran intervalos intercopulatorios más largos que los otros dos grupos de ratas; es decir, su desempeño sexual de las HY está organizado en más pausas y sesiones copulatorias más largas como se muestra en la Figura 20. Ambas sublíneas muestran una eficiencia copulatoria más baja siendo significativamente diferente de las SD. Con lo anterior es claro que las ratas HY y LY muestran un déficit en el proceso de adquirir experiencia sexual respecto a la cepa SD, lo que da como resultado una proporción alta de ratas que no logran eyacular a pesar de tener experiencia sexual, 50% en los machos HY y 40% en las LY y una proporción menor de ratas copuladoras promedio en comparación con las SD, esto puede deberse a deficiencias en el aprendizaje, a los mecanismos de recompensa o ambos debido a variaciones en áreas del sistema nervioso central involucradas que median esta conducta.

Dadas las características de las HY y LY proveen de una ventaja importante ya que sus altos porcentajes de ratas que no logran eyacular a pesar de tener experiencia sexual en por lo menos 4 experimentos podrían contener a copuladoras lentas y no copuladoras, las cuales son sólo el 10% y 1% respectivamente en ratas exogámicas. (Eguibar et al., 2016).

Otros grupos de ratas que muestran diferencias en la conducta sexual masculina son las ratas endogámicas de las cepas Lewis y Fisher (F344); las ratas romanas exogámicas de alta (RHA) y baja evitación (RLA) y las ratas endogámicas Flinders sensibles y resistentes que también se han comparado con las ratas SD exogámicas como grupo control (Hurwitz y Riley, 2011; Ferreira-Nuño et al., 2012; Sanna et al., 2014)).

Las líneas Lewis y Fisher inicialmente evaluadas con relación a sus diferencias en el sistema inmune, respuestas inflamatorias y reactividad al estrés, han sido ampliamente

utilizadas como modelos animales para examinar posibles influencias genéticas subyacentes en la expresión diferencial de una gran cantidad de respuestas conductuales, fisiológicas y neuroquímicas (Hurwitz y Riley, 2011). Por ejemplo, en comparación con las Lewis, las ratas Fisher muestran mayor secreción de corticosterona en respuesta a diversos estresores y ante desafíos inmunológicos, resultando las SD el fenotipo intermedio entre ambas cepas. En cuanto al desempeño sexual, las ratas Lewis tienen latencias de monta, intromisión y eyaculación más largas y un intervalo posteyaculatorio también más largo respecto a las ratas Fisher, las ratas SD muestran una conducta intermedia respecto a las ratas Fisher y Lewis. Las ratas SD y Fisher tienen una frecuencia de monta e intromisión significativamente mayor respecto a los machos Lewis. Respecto a la frecuencia de eyaculación hay diferencia significativa entre los tres grupos de ratas, teniéndose una mayor frecuencia de eyaculación en las Fisher respecto a las SD y Lewis, y las SD tienen más eyaculaciones que las Lewis (Hurwitz y Riley, 2011).

Las ratas romanas de alta (RHA) y baja evitación (RLA), criadas de forma selectiva para, respectivamente, la adquisición rápida o deficiente del comportamiento de evitación en la caja de choques eléctricos, muestran diferentes estrategias de afrontamiento cuando se exponen a condiciones ambientales adversas: las ratas RLA son reactivas y muestran un comportamiento hiperemocional caracterizado por la hipomotilidad y la congelación (freezing), mientras que las ratas RHA muestran un comportamiento de afrontamiento proactivo destinado a ganar control sobre el factor estresante (Sanna et al., 2014). Las ratas RHA también muestran altos niveles de impulsividad y una marcada preferencia por la ingesta de recompensas naturales y por medicamentos (Sanna et al., 2014). Las líneas romanas también difieren en el comportamiento sexual, una fuente principal de recompensa

natural. Las ratas RHA macho cuando copulan con una hembra receptiva muestra más montas, intromisiones y eyaculaciones en la primera prueba de copulación en comparación con sus contrapartes RLA y ratas Sprague Dawley utilizadas como una cepa control (Sanna et al., 2014). Estas diferencias disminuyeron solo parcialmente en las pruebas de copulación posteriores, las ratas RHA siempre mostraron niveles más altos de motivación y rendimiento sexual que las ratas RLA (Sanna et al., 2014). En consecuencia, el análisis de los parámetros de copulación de cinco pruebas de cópula realizadas a intervalos de 3 días confirmó que las líneas romanas muestran diferentes patrones de actividad copulatoria que persisten después de la estabilización del comportamiento copulatorio por experiencia sexual (Sanna et al., 2014).

Las líneas de ratas Flinders sensibles y Flinders resistentes han sido seleccionadas por sus diferencias en su sensibilidad colinérgica (Ferreira-Nuño et al., 2012). Las ratas Flinders sensibles muestran una respuesta hipersensible a agonistas de receptores muscarínicos, además de que son consideradas un modelo de depresión debido a conductas como, un mayor número de movimientos rápidos del ojo durante el sueño, disminución del consumo de sacarina después de haber sido sometidas a un estresor y exploran menos en el campo abierto que las Flinders resistentes y las SD (Ferreira-Nuño et al., 2012). En pruebas de conducta sexual de 30 minutos (min), las ratas Flinders sensibles y Flinders resistentes muestran un desempeño sexual diferentes respecto a las SD, las cuales consisten en una marcada disminución de la frecuencia eyaculatoria y alcanzan la saciedad sexual más rápido. Lo mostrado anteriormente muestra que la endogamia puede producir alteraciones en el desempeño de la conducta sexual masculina (Ferreira-Nuño et al., 2012).

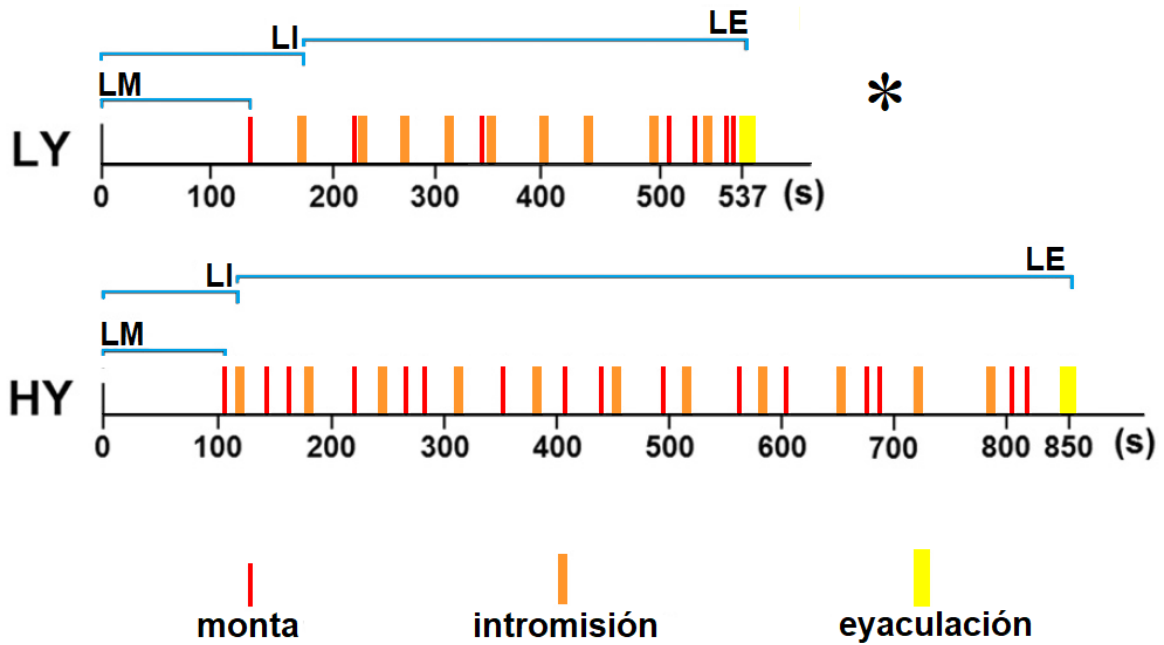


Figura 20. Las ratas de la sublínea HY tienen una organización temporal diferente respecto de las ratas LY. Las ratas de alto bostezo tienen latencias más largas para alcanzar la eyaculación con una media de 850 segundos, de las LY respecto con tan sólo 530 segundos (* $P < 0.05$). Las ratas macho LY alcanzan la eyaculación en 57 % menos tiempo que las HY. Modificado de Eguibar et al (2016).

2.2 LOS CUIDADOS MATERNOS Y SU IMPACTO SOBRE EL PATRÓN COPULATORIO

En los mamíferos, la experiencia, sensorial y social en la etapa perinatal es esencial para el desarrollo del infante. Estas experiencias vienen de la madre a través del cuidado materno, la cual tiene efectos duraderos en la fisiología y conducta del organismo adulto (Hofer, 1994; Melo, 2015).

Estudios previos en ratas han mostrado que las variaciones en el comportamiento materno hacia las crías, produce diferencias en muchos aspectos neurales y conductuales en la descendencia (Meaney, 2001; Lenz y Sengelaub, 2009). Los críos que reciben los niveles más altos de lamido corporal y ano-genital, así como de amamantamiento muestran una mayor densidad de neuronas en el hipocampo (Bredy et al., 2003); mayores niveles de expresión del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF, de sus siglas en inglés; Liu et al 2000), muestran diferentes niveles de dopamina en la corteza prefrontal (Zhang et al., 2005), y una expresión diferente de la subunidad del receptor GABA A (Caldji et al., 2000); así como la expresión diferencial del receptor para la oxitocina en la amígdala (Liu et al., 1997); así mismo muestran diferencias en la respuesta hipotalámico-hipofisario-adrenal, ya que la descendencia en la edad adulta muestra diferencias en la concentración de la hormona adrenocorticotropa y corticosterona en el plasma en respuesta a al estrés agudo, también como diferencias en la expresión del ARNm de la hormona liberadora de corticotropina y el ARNm del receptor para glucocorticoides en el hipocampo (Francis et al., 2000). Los efectos maternos son epigenéticos, ya que el tipo de cuidado materno determina el fenotipo de su descendencia (Lenz, y Sengelaub, 2006).

Se ha mostrado por ejemplo que el núcleo espinal del bulbocavernoso tiene un dimorfismo sexual, ya que en los machos es mayor la inervación de los músculos bulboesponjoso e isquiocavernoso en la base del pene y que controlan los reflejos asociados a la cópula (Goldstein et al., 1990). La reducción del lamido materno no sólo produce una disminución en la cantidad de las neuronas motoras, sino que también reduce el tamaño y la longitud dendrítica de estas en el núcleo espinal del bulbocavernoso (Moore et al., 1992; Lenz y Sengelaub, 2006). Entonces el lamido materno de las regiones perineales de las crías influye en el desarrollo del núcleo espinal del bulbocavernoso, y, en consecuencia, en su desempeño sexual en la edad adulta (Moore et al., 1992; Lenz y Sengelaub, 2009).

Las madres HY expresan un patrón diferente en su desempeño maternal respecto a lo mostrado por las madres SD y de la sublínea LY (Ugarte et al., 2011). El número de crías por camada al nacer y al destete de las madres HY es menor respecto a las SD y las LY (Ugarte et al., 2011). Las madres HY y LY pasan menos tiempo dentro del nido que las madres SD, siendo los nidos de las HY de mala calidad lo que los hace inestables. Las madres HY acarrear todos los críos en el nido con mayor rapidez que las madres SD, pero un 80% de estas los acarrear de forma atípica, esto es las transporta del abdomen o de las extremidades inferiores, mientras que de las LY un 30% lo ejecutan y las madres SD no muestran esta conducta (Ugarte et al., 2011). Las madres de los tres grupos de ratas muestran la conducta del reacarreo; pero, el 80% de las madres HY realizan este comportamiento, que es significativamente más alto que en las madres LY con un 50% y las SD tan solo un 40% (Ugarte et al., 2011). El reacarreo se caracteriza por sacar a la cría fuera del nido, una vez que había sido acarreado y después de un tiempo variable devuelven la cría al nido, este reacarreo se correlaciona con el estrés que se genera en las crías (Ugarte

et al., 2011). Las madres están maternalmente motivadas pero el '*ajuste fino*' de la expresión de la conducta materna es diferente. Estos cambios pueden ser causados por mecanismos hormonales o neurales en las madres, que son capaces de alterar la estimulación somatosensorial que aportan los críos y esto puede alterar la secuencia de eventos neuroendocrinos y conductuales que permiten un desarrollo adecuado de las crías, que en última instancia pueden ser responsables de las diferentes características de comportamiento de las ratas HY, tales como la conducta materna y el aseo en los adultos (Ugarte et al., 2011). Las ratas HY son más estresables en pruebas estandarizadas como son: el laberinto en cruz elevado, la caja luz- oscuridad y en el campo abierto ya que muestran rasgos ansiosos. En el laberinto de cruz elevado entran menos veces a los brazos abiertos y al compartimento iluminado de la caja luz oscuridad y muestran tigmotaxis en el campo abierto (Uribe, 2015). Adicionalmente, al ser restringidos de movimiento las ratas macho HY secretan menos corticosterona, pero no ACTH respecto a la SD, es posible inferir que las glándulas adrenales de la sublínea HY es menos sensible a la ACTH respecto de la SD, situación relacionada con la presencia de estrés crónico o de hipersensibilidad a estresores (Uribe, 2015).

3 JUSTIFICACIÓN

Se ha observado una alta proporción de ratas HY que no logran copular después de repetidas exposiciones con hembras receptoras (Portillo et al., 2010). La proporción de machos con experiencia sexual que alcanzan a eyacular en el caso de las HY es menor al 50% y en el caso de las LY tan sólo es del 60% a diferencia de las SD donde la proporción de eyaculadores es del 80% (Eguibar et al., 2016), por lo que la proporción de los machos que no alcanzaron a eyacular podría pertenecer a los grupos de los copuladores lentos o no copuladores.

Dada la alta isogenicidad de las ratas HY y LY tenemos ventajas para el estudio de los efectos epigenéticos derivado del cuidado materno sobre el desempeño sexual, vale la pena destacar que las ratas HY muestran un cuidado maternal diferente respecto de los otros dos grupos de ratas, ya que las madres HY muestran un mayor número de acarreo atípico y reacarreo. El intercambio de camada en madres es una técnica que permite manipular eficientemente el ambiente prenatal temprano con efectos neurobiológicos de largo alcance.

En base a las diferencias observadas en el cuidado materno y el desempeño de la conducta sexual en los tres grupos de ratas es interesante determinar si las diferencias en la conducta sexual son debido al cuidado materno recibido, por lo que emplearemos la técnica del intercambio de camadas para valorar el posible rol del cuidado materno sobre el desempeño sexual en ratas macho adultas jóvenes a los 90 días de edad. El intercambio de camadas en madres es una técnica que permite manipular eficientemente el ambiente postnatal temprano con efectos neurobiológicos de largo alcance (McCarty, 2017).

4 HIPOTESIS

H1. El cuidado materno es el que determina el desempeño sexual en las ratas HY por cambios en la actividad de la enzima aromatasa en el hipotálamo.

H2. El cuidado materno modifica el número de las erecciones del pene espontáneas o inducidas por el agonista dopaminérgico quinpirole.

5 OBJETIVOS

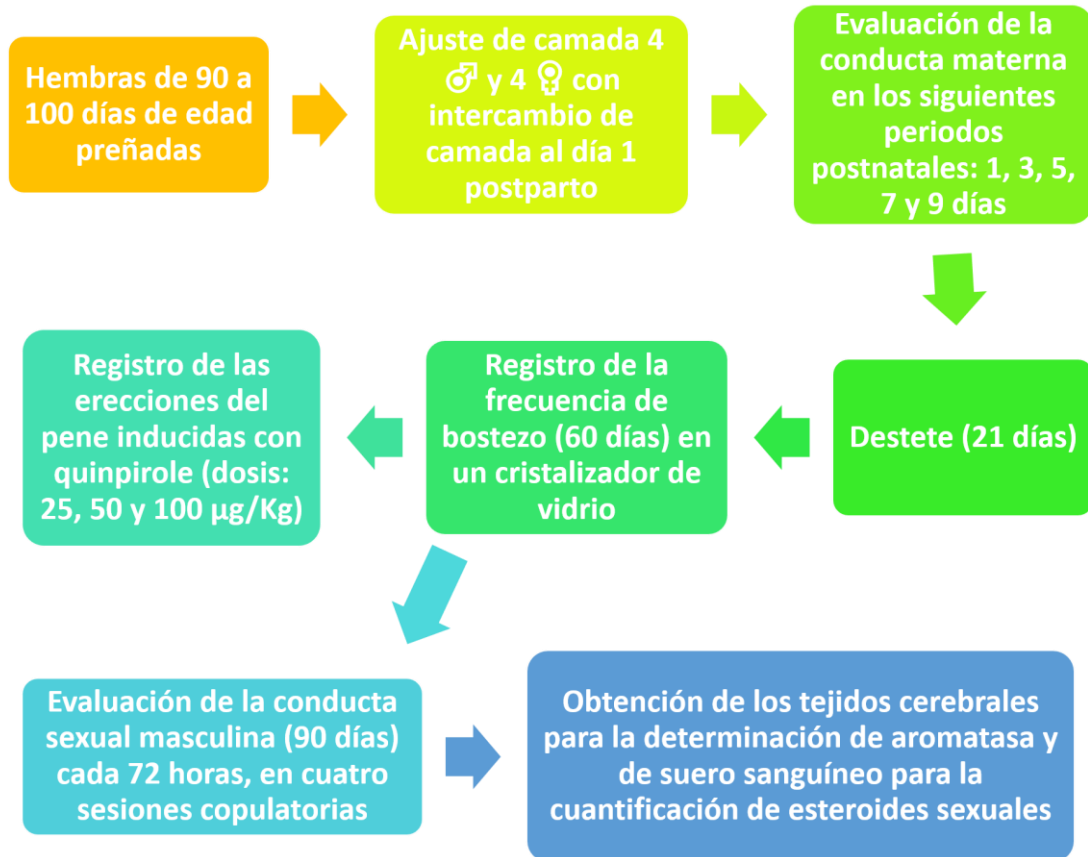
5.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar el rol que juega el cuidado materno sobre el desempeño sexual y las erecciones del pene espontáneas y las inducidas por agonistas dopaminérgicos.

5.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- 1) Evaluar la conducta sexual masculina de ratas macho adultas jóvenes con o sin intercambio de camadas entre los tres grupos de ratas.
- 2) Evaluar los efectos del cuidado materno sobre la actividad de la aromatasa hipotalámica en machos de la cepa Sprague-Dawley (SD) y en ambas sublíneas con o sin intercambio de sus crías entre las sublíneas y las SD.
- 3) Determinar el papel del cuidado materno sobre el bostezo y las erecciones del pene espontáneas e inducidas con agentes dopaminérgicos con acción preferencial sobre los receptores de la familia D₂.

6 ESQUEMA GENERAL DE TRABAJO



7 METODOLOGÍA

7.1 CONDICIONES GENERALES

Los animales fueron mantenidos en cajas de acrílico transparente colectivas (31 X 47 X 18 cm), a una temperatura de controlada ($22 \pm 2^\circ \text{C}$), y humedad relativa (30-45%) con un ciclo 12:12 h de luz/oscuridad para el caso de los experimentos de conducta materna; y en un ciclo 14/10 h luz/oscuridad invertido para los experimentos de conducta sexual, las luces se encendieron a las 12:00. Todos los sujetos tuvieron libre acceso a agua purificada (CIEL™ Coca Cola Co.) y alimento balanceado para roedores LabDiet 5012, en el caso de a hembras preñadas y lactando se les proveyó LabDiet 5001 (Purina Mills, EUA).

7.2 INTERCAMBIO DE CAMADAS

Los sujetos fueron ratas hembra de la cepa Sprague-Dawley (SD) y de las sublíneas HY y LY de 90 a 100 días de edad obtenidas y criadas en nuestras instalaciones bajo condiciones estandarizadas.

7.2.1 APAREAMIENTO

Las ratas hembra nulíparas SD, LY, y HY de 90-100 días de edad, permanecieron en unidades de reproducción con un macho con experiencia sexual del mismo grupo. Cada día todas las hembras se inspeccionaron visualmente a las 8h y la presencia de un tapón vaginal fue tomado como el inicio de la preñez (Ugarte et al., 2011).

7.2.2 PREÑEZ Y PREPARACIÓN DE LAS MADRES PARA EL INTERCAMBIO DE CAMADAS

En los días 16-18 de preñez, cada hembra se colocó en una jaula individual de acrílico transparente (31 X 47 X 18 cm) que nos permitió observar todo el repertorio conductual de

la hembra. Las hembras se proveen con una cama especial (Aspen Shavings, Northeastern Products, EUA) con la cual pueden elaborar su nido y protege la piel de las crías sin pelo.

7.2.3 INTERCAMBIO DE CRÍAS Y OBSERVACIÓN DE LA CONDUCTA DE LAS MADRES

Se retiraron las crías recién nacidas en las primeras 24 horas de la cepa SD o de ambas sublíneas para poder realizar el intercambio de las crías entre los distintos grupos de madres. Las camadas fueron estandarizadas a ocho crías, con una distribución entre los sexos de un 50% (Francis et al., 1999). Todas las pruebas se llevaron a cabo entre 10:00 y 13:00 h dentro del mismo espacio para minimizar el estrés y favorecer la aceptación de los críos. En el día de nacimiento, las crías en cada camada se sexaron, se contaron y se pesaron individualmente. Se evaluó su desarrollo y el desempeño maternal hasta los 7 días posparto, que es cuando se manifiesta la conducta materna con mayor intensidad en los días 1, 3, 5 y 7 de la lactancia (Ugarte et al., 2011).

El comportamiento materno fue videograbado en los días posparto mencionados anteriormente por 20 minutos empleando una videocámara modelo Sony y para el análisis el programa The Observer XT V. 12.0 (Noldus Technologies, Países Bajos). Se registraron los siguientes parámetros: el tiempo dedicado la posición para amamantar (postura de lactancia alta y baja intensidad), el tiempo que ocupan las madres para del lamido de las crías, el tiempo que ocupan las madres en su autoaseo, el tiempo dedicado a la ingesta de agua y alimento por la madre y el tiempo que permaneció la madre fuera del nido. Después cada vídeo de 20 minutos se evaluó por 5 minutos: el tiempo para acarrear la primera cría y cada uno de los hermanos hacia el nido, y el acarreo de las crías poniendo énfasis de la porción del cuerpo por la que es tomada la cría (Ugarte et al., 2011). La calidad del nido se calificó en una escala de 5 puntos que va de 0 a 4 como lo realizó Rosenblatt y Lehrman

(1963) y Lisk et al (1969; véase Figura 21). Una puntuación de 0 se adjudicó cuando la hembra no construyó un nido. Una puntuación de 1 se dio cuando el material del nido estuvo presente en un rincón de la jaula, pero no estaba organizado. Se le dio una puntuación de 2, cuando existió algún tipo de organización del material de nidificación, como organización semicircular hecha en una esquina de una jaula, pero sin paredes pero no una estructura más compleja. Una puntuación de 3 se le otorgó cuando se construyó un nido circular o semicircular completo con paredes y una puntuación de 4 se otorgó a un nido completo con paredes altas. Las camadas recién nacidas que se encuentran hasta 12:00 de cada día serán designados como nacido en ese día (día 0). Sólo se usarán las hembras que se aparean con éxito y tengan al menos 8 crías por camada en el parto (Ugarte et al., 2011).

A los 21 días de edad, las crías se destetaron y se seleccionó un macho al azar de cada camada. Los machos se separaron y alojaron en cajas de acrílico colectivas y se mantuvieron en condiciones estándar (Rhees et al., 1999).

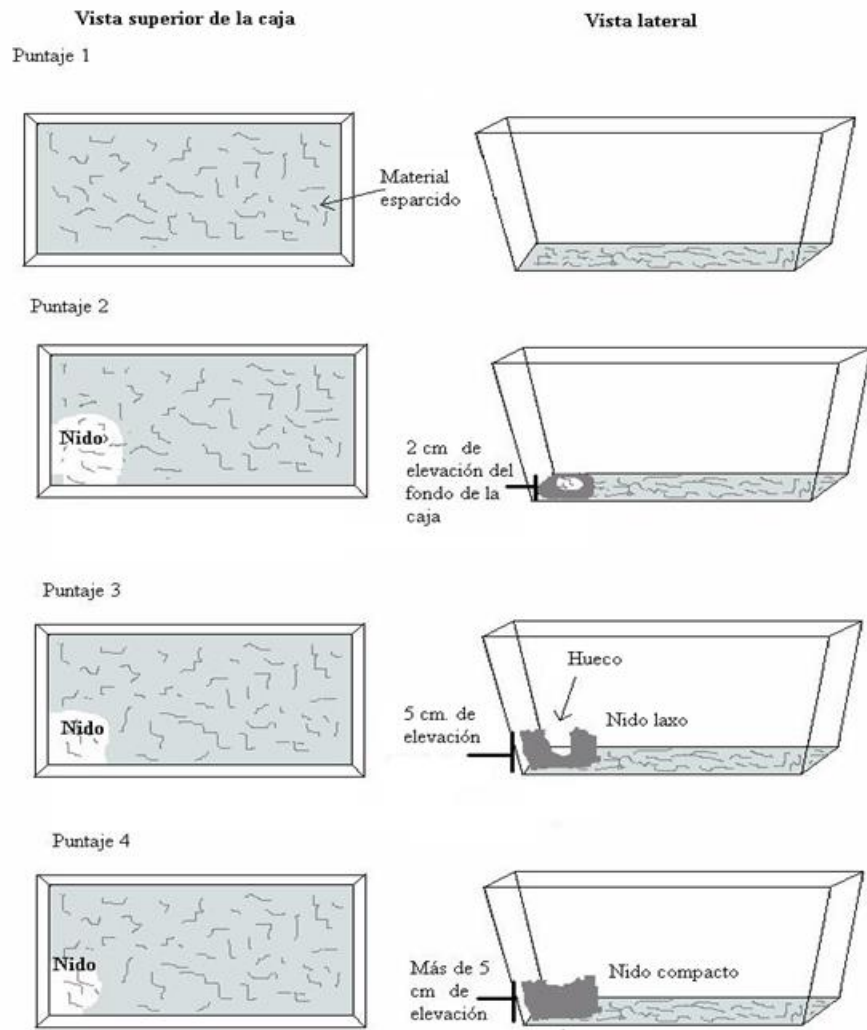


Figura 21. Calidad del nido. Obsérvese que los diferentes puntajes del nido se adjudican con base en su altura y compactación. Tomado de Ugarte, 2006.

7.3 REGISTRO DEL BOSTEZO Y LAS ERECCIONES ESPONTÁNEAS DEL PENE

Las observaciones se realizaron en las ratas macho a los 60 ± 1 día de edad en un cristalizador de vidrio transparente (diámetro 190 mm, altura 100 mm), con el piso cubierto con una hoja de papel de filtro limpio, y la parte superior cubierta con una placa acrílico, dejando abierto un segmento de 1 cm para su ventilación. El período de observación tuvo una duración de 1h (Holmgren et al., 1985; Urba-Holmgren et al., 1990). Las erecciones del pene y los bostezos se registraron por dos observadores, que se sientan en lados opuestos de la mesa sobre la que se colocaran a los animales. No se observaron más de cuatro ratas simultáneamente. Las erecciones se registraron cuando el pene emergió del prepucio, que puede ser acompañada por el aseo de este y movimientos de flexión de la cadera. Se registran el minuto en que ocurre cada bostezo, el número de bostezos, la latencia a la primera erección y el número de erecciones (Holmgren et al., 1985; Eguibar et al., 2015).

7.4 REGISTRO DEL BOSTEZO, LAS ERECCIONES DEL PENE, ASEOS Y RASCADOS BAJO EL EFECTO DEL (-)-QUINPIROLE

Las observaciones se realizaron en las ratas macho a los 90 ± 1 día de edad en una caja de acrílico transparente (23X20X20 cm). La droga fue pesada un día antes del experimento en una microbalanza (Mettler MT5). Inmediatamente después de ser pesadas las diferentes dosis de (-)-quinpirole se colocó en frascos de vidrio color ámbar de 5 ml, se prepararon en fresco 2 minutos previos a la administración y se protegieron de la luz cubriendo los frascos con papel aluminio. El fármaco se disolvió en agua inyectable estéril con un volumen constante de 1 ml/kg de peso corporal. Se administró un esquema de dosis-respuesta creciente administrando cada media hora el (-) - clorhidrato de quinpirole con las siguientes dosis de 0, 25, 50 y 100 $\mu\text{g}/\text{Kg}$. La observación se inició a las 9:00 am.

7.5 DETERMINACIÓN DEL DESEMPEÑO SEXUAL

Todas las ratas macho sin experiencia sexual que fueron criados o no por madres sustitutas obtenidos del intercambio de camadas, los cuales fueron expuestos a cuatro sesiones de cópula con una duración de 30 minutos y con intervalos de 72h entre cada una de las sesiones copulatorias. Los machos con una latencia de eyaculación menor a 15 minutos, en al menos, tres de las cinco sesiones fueron considerados copuladores promedios en base a los reportado por Pattij et al (2005). Los machos que presentaron una latencia de eyaculación de cuatro minutos o menos fueron considerados copuladores rápidos (Pattij et al., 2005). Los machos que montaron e intrometieron, pero que no eyacularon o tuvieron una latencia de eyaculación mayor a 28 minutos en tres de las cuatro sesiones fueron considerados copuladores lentos (Pattij et al., 2005), los machos que no presentaron monta, ni intromisión fueron considerado no copuladores en base a lo reportado por Portillo et al (2006a).

Los estímulos sexuales fueron ratas hembra adultas ovariectomizadas (OVX) dos semanas antes del experimento. La receptividad de las hembras fue inducida con 5 µg benzoato de estradiol la cual se administró 48h antes de la prueba de copula, seguido 44 h después por 2 mg de progesterona en un volumen de 0.1 mL de aceite de oliva administrada por vía subcutánea (Eguibar et al., 2016).

7.5.1 PRUEBAS DE CÓPULA

La sesión de cópula consistió en colocar a una rata macho (obtenidas del experimento del intercambio de camada) en una arena redonda de acrílico transparente de 50 cm de diámetro y 60 cm de altura. Después de un periodo de cinco minutos de adaptación se introdujo una hembra sexualmente receptiva. En cada sesión de cópula se registró la

latencia de monta (LM), latencia de intromisión (LI), latencia de eyaculación (LE), período post-eyaculatorio (PPE), número de montas (NM) y de intromisiones (NI) previos a la eyaculación, la eficiencia copulatoria (EC) que se define como el número de intromisiones sobre el número de montas más el número de intromisiones, el intervalo intercopulatorio (IIC), calculado como la latencia eyaculatoria dividida por la frecuencia de intromisión y el número de episodios de la actividad copulatoria (EC) que es la secuencia de monta e intromisiones ejecutadas consecutivamente y solo pueden ser interrumpidas por el aseo genital, o cuando el macho está siguiendo a la hembra o explorando la arena con un intervalo de menos de cinco segundos. Si es más largo, se considerada como un episodio copulatorio (Eguibar et al., 2016). Los animales fueron observados por 30 minutos, en base a lo reportado por Pattij et al (2005).

7.6 DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES PROTEICOS DE LA ENZIMA AROMATASA POR WESTERN BLOT

Una semana después de la última sesión de cópula se sacrificaron los animales por decapitación con una guillotina extrayendo el cerebro y disecando el hipotálamo. El tejido fue homogenado con un homogenizador electrónico en buffer de lisis (0.02M tris HCl pH 7.4, 0.1m NaCl, 0.1M glicina y Tx 0.1%) adicionado con un cóctel de inhibidores de proteasas (Sigma-Aldrich, EUA), 1mM PMSF y 1mM ditiotreitól. Los homogenados obtenidos fueron centrifugados durante 30 min a 13400 rpm a 4°C. Se recuperó el sobrenadante y se determinó la concentración de proteínas mediante el método de Bradford. La separación electroforética de las proteínas se realizó utilizando geles de poliacrilamida y dodecil-sulfato de sodio (SDS-PAGE) de acuerdo con el método de Laemmli (1970). Las proteínas fueron transferidas a una membrana de nitrocelulosa usando el sistema Mini

Trans-Blot Cell (Bio-Rad). Las membranas fueron incubadas con una solución de 5% de leche descremada y 0.1% tween-20 en TBS (Tris-HCl pH 7.4, NaCl 150 mM) por 60 min a temperatura ambiente, para evitar uniones inespecíficas de los anticuerpos. Las membranas se incubaron durante 16-18 h a 4°C, con el anticuerpo primario (NB100-4596, Novus Biologicals) diluidos 1:300 en leche descremada al 1% y 0.1% tween-20 en TBS. Después fueron incubadas con el anticuerpo secundario (goat-anti.mouse IgG acoplado a peroxidasa, Santa Cruz Biotechnology) diluido en 1% de leche descremada y 0.1% Tween 20 en PBS, durante 2h a temperatura ambiente. Las bandas inmunorreactivas se revelaron utilizando un kit de quimioluminiscencia (SuperSignal West Pico, Pierce, EUA). La expresión se cuantificó mediante densitometría con el programa ImageJ. Los resultados obtenidos fueron expresados en densidad óptica de la banda aromatasa sobre la membrana teñida con tinta china para cada uno de los grupos.

7.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

7.7.1 CONDUCTA MATERNA

Para evaluar si existieron diferencias significativas en el tiempo dedicado a cada conducta materna por las ratas SD, LY y HY se realizó el análisis χ^2 . Después de eso se realizó una regresión jerárquica beta a cada conducta materna ya que ha sido diseñada para evaluar proporciones (Ferrari y Cribari-Neto, 2004). Se estableció el modelo nulo. El modelo nulo es aquel en el que los coeficientes de regresión tienen un valor de cero. Por lo general, se considera que una variable independiente tiene una influencia sistemática en el resultado dependiente o, más cautelosamente, algún poder predictivo sistemático, si el coeficiente de regresión es significativamente diferente de cero (Frost, 2019), el cual se avaluó con una la prueba de Z. Los valores de p y los coeficientes obtenidos en el análisis de regresión trabajan juntos para decirnos si la relación de la variable independiente con la variable

dependiente es significativa o no, el nivel de significancia habitual es $p < 0.05$. El ajuste del modelo de regresión se determinó con la razón de verosimilitud, en el cual se compara el logaritmo de verosimilitud obtenido al agregar o quitar variables independientes o variables predictoras con el modelo nulo a través de la prueba χ^2 . Las variables dependientes fueron el tiempo dedicado a las conductas maternas y las variables independientes fueron la cepa o sublínea de la madre, la cepa o sublínea de la camada y el intercambio de camadas entre el mismo o diferente grupo de ratas. Las madres HY son las que se tomaron de referencia.

7.7.2 CONDUCTAS BASALES

Ninguno de los datos de las conductas basales pasó la prueba de normalidad y/o la prueba de homogeneidad de la varianza, por lo que se utilizó el ANOVA de Kruskal Wallis agrupando los datos de acuerdo a la sublínea de los machos, la sublínea de la madre que los crió y si fueron hijos adoptivos o no. A los resultados significativos se le realizó la prueba de Dunn seguida de la corrección de Holm-Šidák.

7.7.3 CONDUCTAS BAJO EL EFECTO DEL QUINPIROLE

Se tomó como referencia las conductas de las ratas HY. Se realizaron diferentes modelos de regresión para cada conducta en particular. Para encontrar el modelo de regresión adecuado se identificó la distribución de los datos a través del gráfico de Cullen y Frey (que grafica la curtosis y la asimetría de una distribución). En caso de bostezo se realizó la regresión jerárquica beta, para poder realizar este análisis los datos se transformaron en 0 y 1 según lo sugerido por Cribari-Neto en el 2009 y el ajuste del modelo se determinó con la razón de verosimilitud. En el caso de las erecciones del pene y los rascados se utilizó la regresión logística y para los episodios de aseo se usó la regresión de Poisson. En estos casos se realizó la prueba de χ^2 para saber si el factor analizado contribuye a la devianza que es la bondad de ajuste para un modelo estadístico y nos indica que tan bien se ajusta un conjunto

de datos al modelo, en el cual se compara la devianza del modelo nulo con la devianza obtenida con la variable independiente, si el análisis χ^2 arroja un valor p significativo la devianza de nuestro modelo disminuye significativamente y el modelo explica bien nuestros datos. De los análisis de regresión se obtuvo la curva dosis respuesta y la ED₅₀. Al igual que en el caso de la regresión jerárquica beta el valor del coeficiente, y si hay o no diferencia significativa del coeficiente calculado con la variable independiente al compararla con el modelo nulo en conjunto determinan si existe diferencia significativa respecto a la constante.

7.7.4 CONDUCTA SEXUAL

7.7.4.1 *CONDUCTA SEXUAL MASCULINA DE LOS MACHOS CONTROL*

Para evaluar la conducta sexual de los grupos control se realizó ANOVA de Kruskal Wallis o ANOVA de un factor para comparar las diferentes conductas entre los machos SD, LY y HY que no fueron sometidos a intercambio de camadas y ANOVA de medidas repetidas o la prueba de Friedman para evaluar el cambio de cada conducta en cada sesión de cópula.

La proporción de no copuladores, copuladores lentos, copuladores promedio y precoces se evaluó con la prueba de Fisher.

7.7.4.2 EFECTO DEL CUIDADO MATERNO SOBRE LA CONDUCTA SEXUAL MASCULINA Y LA PROPORCIÓN DE MACHOS NO COPULADORES, COPULADORES LENTOS, COPULADORES PROMEDIO Y PRECOCES

Para medir el efecto del cuidado materno sobre la conducta sexual masculina se utilizaron modelos lineales generalizados mixtos. Todos los modelos se hicieron controlando el factor madre y las medidas repetidas. Para las variables continuas (latencias) se utilizó la familia Gamma. Para las variables discretas (conteos) se utilizó la familia Poisson. Los coeficientes se interpretan de manera similar a los coeficientes de regresión.

El efecto del cuidado materno de las madres SD, LY y HY en la proporción de cada tipo de macho se evaluó con la prueba de Fisher. Posteriormente el efecto del cuidado materno sobre la incidencia de machos no copuladores, copuladores lentos, copuladores promedio y precoces fue evaluado con regresión logística.

8 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 RESULTADOS DEL EXPERIMENTO 1: EVALUACIÓN DE LA CONDUCTA MATERNA

Al Analizar las proporciones de tiempo dedicado a cada conducta materna del 1 a 7 días postparto se obtuvo diferencia significativa ($\chi^2_{(12)} = 13825$ $p < 0.001$; véase Figura 22).

Para el análisis estadístico se usó como referencia la conducta materna de las madres HY. Las madres SD (0.400 ± 0.086 , $p < 0.01$) dedican significativamente más tiempo a la postura alta de lactancia que las HY (-0.845 ± 0.064 , $p < 0.01$; véase Tabla 1); no así en las LY (0.043 ± 0.090), la devianza disminuyó significativamente respecto al modelo nulo ($\chi^2_{(2)} = 22.33$, $p < 0.001$), lo que indica que la sublínea o la cepa de la madre contribuyó significativamente al modelo de regresión jerárquica beta (véase Tabla 1).

En la postura baja de lactancia las madres SD (0.543 ± 0.096 , $p < 0.01$) dedican mayor tiempo a esta conducta respecto a las madres HY (-1.127 ± 0.073 , $p < 0.01$), al igual que en la postura alta de lactancia no hubo diferencias en las ratas LY (0.195 ± 0.101) respecto de lo obtenido en las HY, la devianza disminuyó significativamente, como en el caso de la postura alta de lactancia, ($\chi^2_{(2)} = 26.78$, $p < 0.001$; véase Tabla 1). No obtuvimos diferencias significativas en la postura de lactancia de costado o postura pasiva, la devianza no disminuyó significativamente ($\chi^2_{(2)} = 0.15$, $p = 0.69$), lo que indica que el tipo de madre no tuvo un efecto sobre esta conducta (véase Tabla 1).

Las madres suelen autoasearse al mismo tiempo que asean a sus crías dando lamidos de manera intercalada a las crías y a ellas mismas. No se obtuvieron diferencias significativas en el tiempo dedicado al aseo corporal en las crías de las madres SD (0.292 ± 0.155)

respecto de las HY (-3.117 ± 0.121), o en las LY (-0.049 ± 0.169), no hubo diferencias significativas en las devianzas ($\chi^2_{(2)} = 5.40$, $p < 0.06$), por lo que el factor cepa o sublínea de la madre no contribuyó significativamente al modelo de regresión (véase Tabla 2). En el caso del autoaseo corporal las madres SD (-0.679 ± 0.187 , $p < 0.01$) dedican menos tiempo al autoaseo dentro del nido que las HY (-2.577 ± 0.121 , $p < 0.01$), no así las madres LY (-0.107 ± 0.171 ; véase Tabla 2), la devianza del modelo fue significativa ($\chi^2_{(2)} = 14.32$, $p < 0.001$) lo que muestra que el factor tipo de madre contribuyó significativamente al modelo de regresión jerárquica beta.

Las madres solían construir su nido cerca del contenedor de alimento de su caja de acrílico, de manera que podían comer dentro del nido, el tiempo dedicado a esta conducta no fue significativa en los tres grupos de ratas evaluadas (véase Tabla 3), las devianzas no fueron significativamente diferentes ($\chi^2_{(2)} = 5.18$, $p = 0.07$), por lo que el tipo de madre no contribuyó significativamente al modelo de regresión jerárquica beta (véase Tabla 3).

El tiempo que dedican las madres a estar fuera del nido fue significativamente diferente en las madres SD (-1.060 ± 0.139 , $p < 0.01$), las cuales dedican menos tiempo a estar fuera del nido respecto a las madres HY (-0.825 ± 0.087 , $p < 0.01$), no así en el caso de las LY (-0.242 ± 0.125). La devianza disminuyó significativamente ($\chi^2_{(2)} = 45.90$, $p > 0.001$), por lo que el factor cepa o sublínea de la madre contribuyó significativamente al modelo de regresión jerárquica beta (véase Tabla 3).

No se obtuvieron diferencias significativas en ninguna conducta materna debido al intercambio de camadas entre el mismo grupo de ratas o entre las diferentes cepas y sublíneas, ni debido a las sublíneas o cepa a la que pertenecía la camada.

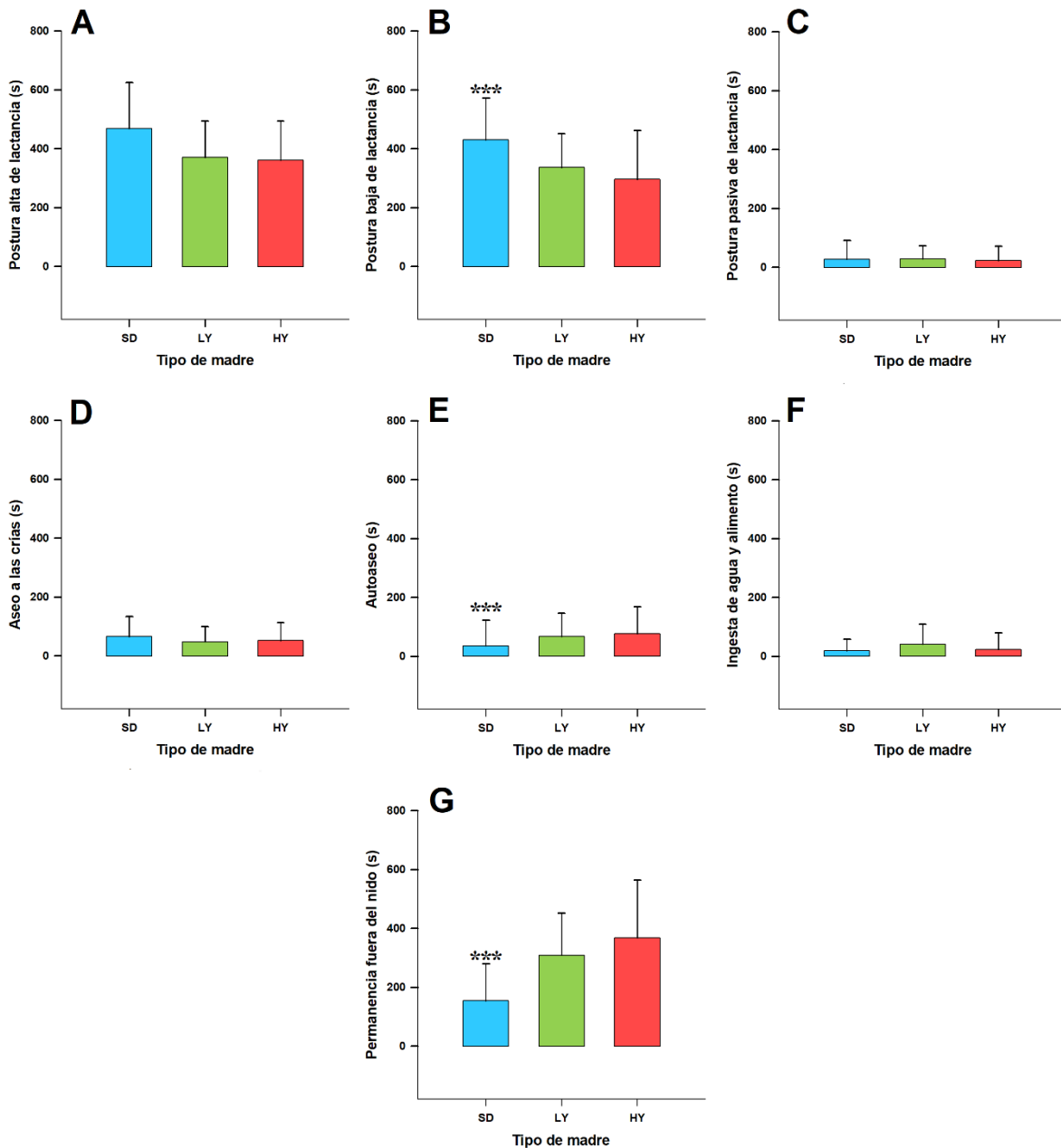


Figura 22. Comparación del tiempo dedicado a cada conducta materna en ratas SD, LY y HY en los días 1, 3, 5 y 7 postparto. La proporción del tiempo dedicado a cada conducta materna es significativamente diferente entre las madres SD, LY y HY ($\chi^2_{(12)} = 13,825$ $p < 0.001$, $n = 62$). **A)** Postura alta de lactancia. **B)** Postura baja de lactancia. **C)** Postura pasiva de lactancia. **D)** Aseo a las crías. **E)** Autoaseo de la madre. **F)** Ingesta de agua y alimentos por la madre. **G)** Tiempo dedicado a permanecer fuera del nido. Las madres dedican más tiempo a la postura pasiva de lactancia, menos tiempo a su autoaseo y a permanecer fuera del nido que las madres HY. *** $p < 0.01$.

Tabla 1. Análisis de regresión jerárquica beta de predictores sobre el tiempo dedicado a las posturas de lactancia

	Variable dependiente		
	Modelo 1	Modelo 2	Modelo 3
Sublínea o cepa de la madre	Postura alta de lactancia	Postura baja de lactancia	Postura de lactancia de costado
SD	0,400*** (0.086)	0,543*** (0.096)	0,072 (0.0193)
LY	0,043 (0.090)	0,195* (0.101)	0,115 (0.196)
Constante	-0,845*** (0.064)	-1,127*** (0.073)	-3,554*** (0.147)
Observaciones	248	248	248
Pseudo R ²	0.303	0.347	0.006

Se muestra el coeficiente de la regresión y entre paréntesis se muestra el error estándar del coeficiente. La conducta materna de las ratas HY es la que se tomó como referencia. * $P < 0.1$; ** $P < 0.05$; *** $P < 0.01$

Tabla 2. Análisis de regresión jerárquica beta de predictores del tiempo dedicado al aseo de las crías por la madre y su autoaseo

	Variable dependiente	
	Asear a las crías	Autoaseo
Sublínea o cepa de la madre	Modelo 1	Modelo 2
SD	0,292* (0.155)	-0,679*** (0.187)
LY	-0,049 (0.169)	-0,107 (0.171)
Constante	-3,117*** (0.121)	-2,577*** (0.121)
Observaciones	248	248
Pseudo R ²	0.076	0.230

Se muestra el coeficiente y entre paréntesis se muestra el error estándar del coeficiente. La constante son los coeficientes de las ratas HY que se toma como referencia. * $P < 0.1$; ** $P < 0.05$; *** $P < 0.01$

Tabla 3. Análisis de regresión jerárquica beta de predictores del tiempo dedicado a conductas no maternas

	Variable dependiente	
	Ingesta de agua y alimentos dentro del nido	Tiempo fuera del nido
Sublínea o cepa de la madre	Modelo 1	Modelo 2
SD	-0.012 (0.214)	-1.060*** (0.139)
LY	4.409** (0.206)	-0.242* (0.125)
Constante	-3.607*** (0.163)	-8.825*** (0.087)
Observaciones	248	248
Pseudo R ²	0.095	0.533

Se muestra el coeficiente de regresión y entre paréntesis se muestra el error estándar de dicho coeficiente. La constante son los coeficientes de las ratas HY es la que se tomó como referencia. * $P < 0.1$; ** $P < 0.05$; *** $P < 0.01$

8.2 DISCUSIÓN DEL EXPERIMENTO 1

Las madres HY y LY dedicaron menor proporción de tiempo a permanecer en el nido, efectuando postura baja de lactancia y emplearon más proporción tiempo en su autoaseo dentro del nido respecto a las madres SD, esto es similar a lo reportado por Ugarte y colaboradores (2011). Por lo tanto, las madres HY y LY proporcionan menos estimulación táctil a sus crías, lo que podría producir cambios en el neurodesarrollo y en varios aspectos conductuales y en la fisiología de la descendencia en la edad adulta, como se ha reportado en otros estudios (Meaney, 2001; Bredy et al., 2003; Zhang et al., 2005; Weaver et al., 2004; Cameron et al., 2008; McGowan et al., 2011; véase Tabla 4). Estas características conductuales y fisiológicas están asociadas con cambios estables en la expresión génica que surgen en la infancia y se mantienen hasta la edad adulta (Weaver et al., 2004; Champagne y Curley, 2008). Estos efectos a largo plazo pueden ser mediados por modificaciones epigenéticas en las regiones promotoras de los genes, como se ha reportado en los receptores de esteroides, por ejemplo, el receptor de estrógenos alfa y el receptor para

glucocorticoides (véase Tabla 4; Weaver et al., 2004; Champagne y Curley, 2008). En particular, la metilación del ADN es crítica para los efectos maternos sobre la expresión génica y, por lo tanto, producir cambios fenotípicos en la descendencia, mediando la transmisión de estos efectos a través de las generaciones (véase Tabla 4; Champagne y Curley, 2008; McGowan et al., 2011). Por ejemplo, las respuestas conductuales y neuroendócrinas al estrés a través del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal. Estos efectos se han observado que pueden ser transmitidos por línea materna de una generación a otra (Francis et al., 1999).

Al realizarse el intercambio de camadas entre las madres de los diferentes grupos de ratas estas no cambiaron su despliegue maternal en relación de la cepa o de la sublínea de la camada adoptiva, pero las crías recibieron un cuidado materno diferente al que recibirían al ser criados por sus madres biológicas. Las crías cuidadas por las madres SD recibieron más estimulación táctil, contacto con el pelaje de la madre y pezones, y tal vez térmica, esto es importante dado que las ratas neonatas regulan su temperatura corporal de manera limitada, ya que carecen de pelo, tejido adiposo blanco subcutáneo y las fuentes musculares de termorregulación muscular (locomoción, piloerección y escalofríos) son mecanismos inmaduros y limitados, lo que conduce que las crías pierdan calor rápidamente en ambientes frescos (Farrell y Alberts, 2007; Torrero y Navarro, 2015). Aunque las crías de rata y otros mamíferos pueden regular su temperatura corporal conductualmente como camada dentro del nido, que permite que en el centro del nido sea 1°C mayor que el de la periferia, las crías periféricas y del centro cambian de posición acurrucándose, lo que reduce la relación superficie-masa del grupo y, por lo tanto, atenúa la pérdida de calor en un ambiente fresco (Bautista et al., 2003; Farrell y Alberts, 2007). Las crías cuidadas por las

madres HY y LY estuvieron en condiciones que podrían haberles provocado estrés, ya que cuando la madre se ausenta del nido la temperatura de la camada podría disminuir, aunque no se evaluó la temperatura de la camada, al tacto las camadas en donde la madre se ausentaba por un tiempo largo se sentían frías al tacto. Adicionalmente, el nido que construyeron estas madres fue mala calidad (Ugarte et al., 2011). Además, se ha demostrado que el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal se altera cuando las ratas macho son criados en nidos de baja calidad (Moussaoui et al., 2016). Lo anterior puede provocar cambios en conductas susceptibles a efectos epigenéticos del cuidado materno (véase Tabla 4).

Tabla 4. Efecto del cuidado materno sobre el sistema nervioso y efecto sobre varias respuestas conductuales en ratas de laboratorio

Cuidado materno recibido	Efecto sobre el sistema nervioso	Respuesta
	Incremento del receptor del ácido N-metil-D-aspartico e incremento de la supervivencia de las neuronas hipocampales	Mejora del aprendizaje y memoria espacial
Mayor cantidad de lamido y postura alta de lactancia	Misma cantidad de dopamina en lado derecho e izquierdo de la corteza prefrontal medial en respuesta a estresores	Menos sobresaltos es respuesta a un sonido fuerte
	Diferente patron de acetilación de la lisina de la histona 3, diferencias en la metilación del ADN y diferente expresión del RNAm en el cromosoma 18, en comparación a los animales que recibieron bajo lamido y postura alta de lactancia. Este patrón ha sido revertido con el intercambio de camadas.	
	Mayor cantidad de dopamina en el lado izquierdo respecto al derecho en la corteza prefrontal medial	Incremento de sobresalto en respuesta a un sonido fuerte
Bajo lamido y postura alta de lactancia	Aumento de los niveles plasmáticos de hormona luteinizante (LH) y progesterona en el proestro; un mayor efecto de retroalimentación positiva del estradiol tanto en los niveles plasmáticos de LH como en la expresión de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) en la región preóptica medial; y aumento de la expresión del receptor de estrógeno alfa en el núcleo paraventricular anteroventral, un sistema que regula la GnRH	Mayor receptividad sexual y pubertad precoz
	Metilación de la región promotora de receptor a glucocorticodes, el cual ha sido revertido con el intercambio de camadas con madres de alto lamido y postura de lactancia	

Datos derivados de: Meaney, 2001; Bredy et al., 2003; Zhang et al., 2005; Weaver et al., 2004; Cameron et al., 2008; McGowan et al., 2011

8.3 RESULTADOS DEL EXPERIMENTO 2: EFECTO DEL CUIDADO MATERNO SOBRE LAS CONDUCTAS BASALES BOSTEZOS Y ERECCIONES ESPONTÁNEAS DEL PENE

8.3.1 FRECUENCIA DE BOSTEZO ESPONTÁNEO

La frecuencia del bostezo fue significativamente diferente entre las ratas SD, LY y HY ($\chi^2_{(2)} = 47.70, p < 0.001$; véase Figura 23). Los machos HY tuvieron significativamente más bostezos que los machos SD ($p < 0.001$, prueba de Dunn y corrección Holm-Šidák), y que los machos LY ($p < 0.001$), pero no hubo diferencias significativas entre las ratas macho SD y LY ($p = 0.12$). No se obtuvieron diferencias entre los machos que fueron hijos adoptivos respecto de los hijos criados por sus madres biológicas ($\chi^2_{(1)} = 1.91, p = 0.17$), ni por la cepa o sublínea de la madre que los crio ($\chi^2_{(2)} = 3.47, p = 0.17$).

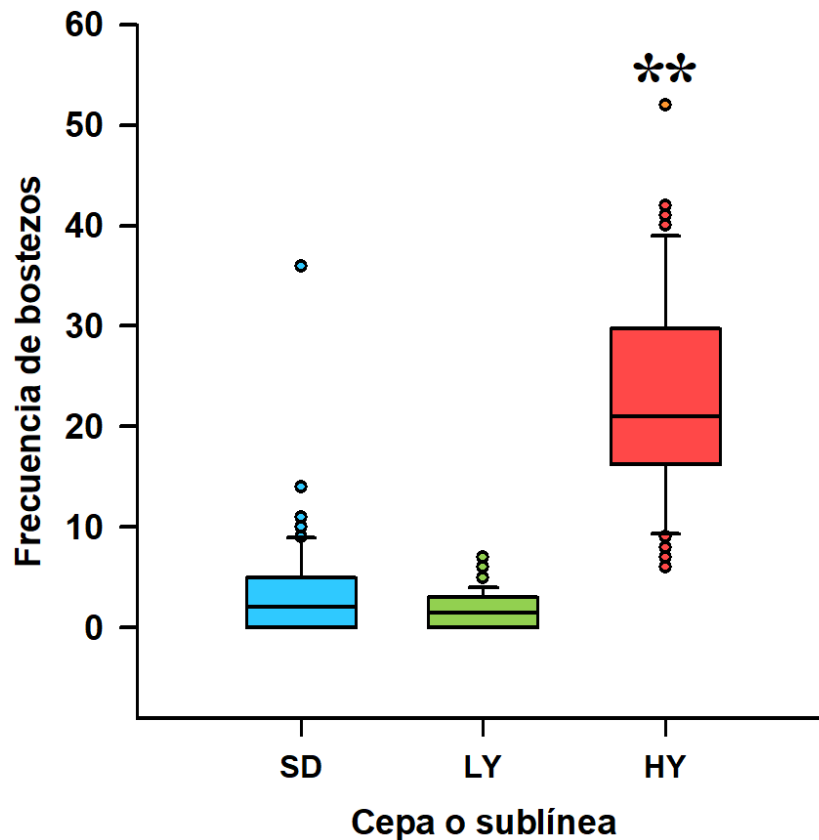


Figura 23. Comparación de la conducta de bostezo de las ratas macho SD, LY y HY. Note que las ratas HY tienen una frecuencia de bostezos significativamente mayor que las ratas SD y LY independientemente del tipo de madre que los crió. $**p < 0.001$ prueba de Dunn. Los datos son la mediana \pm los rangos intercuartiles, $n = 180$.

8.3.2 ERECCIONES ESPONTÁNEAS DEL PENE

La frecuencia de las erecciones del pene fue significativamente diferente entre los tres grupos de ratas ($\chi^2_{(2)} = 6.90$, $p < 0.05$; véase Figura 24). Las ratas LY tuvieron significativamente más erecciones del pene que las SD ($p < 0.05$, corrección Holm-Šidák), no hubo diferencias significativas entre las HY y las SD ($p = 0.30$), ni entre las LY y las HY ($p = 0.22$). No se obtuvieron diferencias significativas entre los machos que fueron hijos adoptivos y los machos que fueron criados por sus madres biológicas ($\chi^2_{(1)} = 0.18$, $p = 0.66$), ni por la cepa o sublínea de la madre que crio a los machos ($\chi^2_{(2)} = 0.35$, $p = 0.83$). Cabe destacar que, al evaluar las erecciones del pene de los 12 grupos de ratas, es decir machos con y sin intercambio de camadas, los machos LY criados por HY mostraron más erecciones del pene respecto a los SD control y los SD criados por HY ($\chi^2_{(11)} = 30.81$, $p = 0.025$).

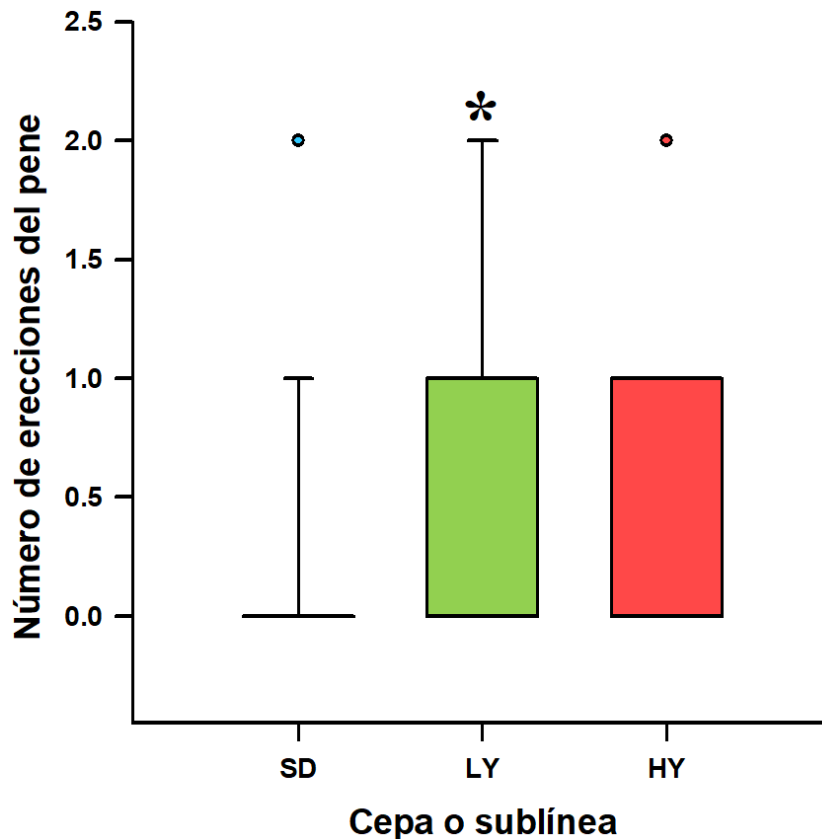


Figura 24. Número de erecciones espontáneas del pene de las ratas SD, LY y HY. Las ratas LY tienen más erecciones espontáneas del pene que las SD. * $p < 0.05$ prueba de Dunn. No se obtuvieron diferencias entre las SD y HY, ni entre las LY y HY. Los datos son la mediana \pm los rangos intercuartiles, $n = 180$.

8.3.3 EPISODIOS DE ASEO

El número de episodios de aseo al igual que la frecuencia de bostezo y erecciones del pene obtuvieron diferencias significativas al comparar a las ratas por el factor cepa o sublínea ($\chi^2_{(2)} = 22.40$, $p < 0.001$; véase Figura 25). Las ratas SD tuvieron significativamente un mayor número de episodios de aseo respecto a las ratas LY ($p < 0.001$, prueba de Dunn y corrección Holm-Šidák) y de las ratas macho HY ($p < 0.001$). No se obtuvo diferencia significativa en los episodios de aseo entre las LY y HY ($p = 0.08$). La sublínea de la madre no tuvo un efecto significativo sobre los episodios de aseo ($\chi^2_{(2)} = 2.17$, $p = 0.34$), ni tampoco se obtuvo diferencias entre los machos fueron hijos adoptivos o no ($\chi^2_{(1)} = 0.001$, $p = 0.98$).

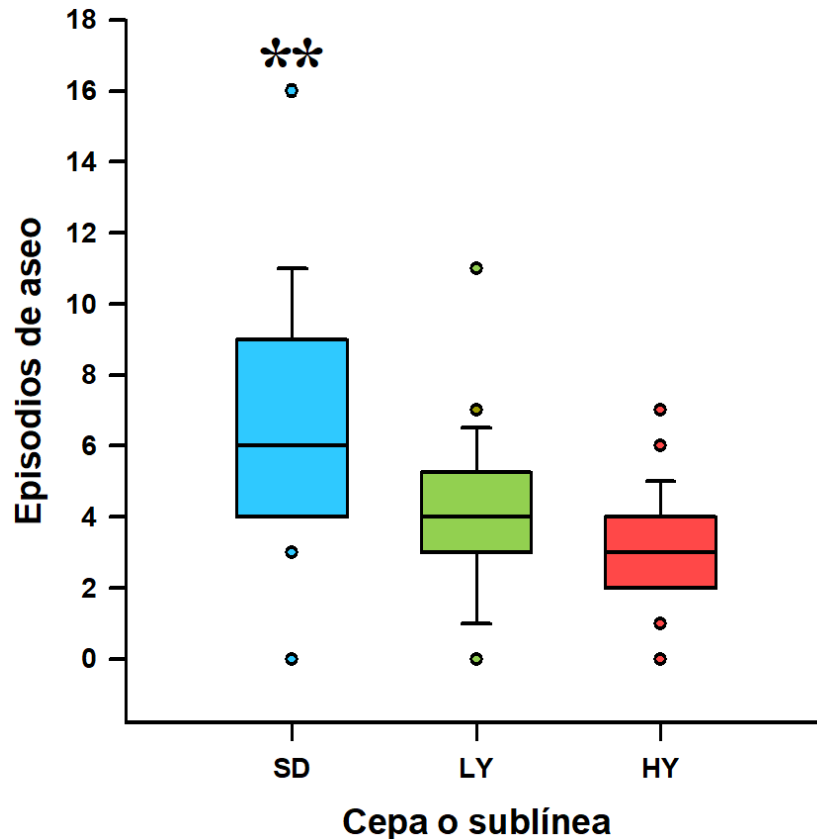


Figura 25. Número de episodios de aseo en las ratas macho SD, LY y HY. Las ratas SD tienen más episodios de aseo que las ratas LY y HY. $**p < 0.001$ prueba de Dunn. Los datos son la mediana \pm los rangos intercuartiles, $n = 180$.

8.3.4 FRECUENCIA DE RASCADOS

La frecuencia de episodios de rascado no obtuvo diferencias significativas entre los tres grupos de ratas machos estudiados ($\chi^2_{(2)} = 2.48$, $P = 0.28$), no se obtuvo efecto sobre la frecuencia de rascados respecto del tipo de madre que los crio ($\chi^2_{(2)} = 2.41$, $P = 0.30$), ni se obtuvo un efecto si los machos fueron hijos adoptivos o no ($\chi^2_{(1)} = 0.31$, $P = 0.59$).

8.4 DISCUSIÓN DEL EXPERIMENTO 2

Los individuos de la sublínea HY, independiente de la madre de la que recibieron el cuidado en el periodo de lactancia, siempre bostezaron más respecto de los machos SD y LY, por lo que el fenotipo “bostezador” parece ser influenciado más por un factor de tipo genético que epigenético, ya que al menos el cuidado materno no tuvo un efecto significativo sobre esta conducta (véase Figura 23). De manera relevante las ratas macho LY presentaron más erecciones espontáneas del pene respecto a las SD, lo que implica diferencias neurofisiológicas de los sitios neurales involucrados en la regulación de esta conducta, como son las neuronas oxitocinérgicas de la división parvocelular del núcleo paraventricular del hipotálamo que proyectan específicamente hacia la médula espinal, a las neuronas espinales lumbosacras que controlan las erecciones del pene en las ratas (Moreland et al., 2001). Esto es relevante ya que existe una correlación entre la conducta de bostezo y las erecciones espontáneas del pene en las ratas HY (Holmgren et al., 1985). Ambas conductas se correlacionan también cuando son inducidas por la administración sistémica de agonistas dopaminérgicos de receptores D₂ (Eguibar et al., 2003), o por la administración i.c.v de la hormona adrenocorticotropina o de oxitocina (Eguibar et al., 2004; Eguibar et al., 2015). Se ha reportado ambas conductas son reguladas en el núcleo paraventricular del hipotálamo, el septum medial y el hipocampo (Collins y Eguibar, 2010). En base a esto se esperaría que las ratas HY tuvieran más erecciones del pene respecto de los otros dos grupos de ratas, Lo cual puede atribuirse a que ambas conductas comparten el mismo circuito neural. Nuestros resultados muestran que las dos conductas pueden deberse a diferencias en su regulación neurofisiológica, debido al proceso de selección endogámica, aunque en otras sublíneas la endogamia no ha causado diferencias en la frecuencia de erecciones del pene, como es el caso de las ratas romanas de alta y baja evitación y las ratas

de alta y baja respuesta locomotora al exponerlas a un ambiente novedoso (Melis et al., 2018)

Las ratas macho SD tienen una mayor frecuencia de episodios de aseo inducido al colocarlas en un cristalizador de vidrio respecto de los obtenidos en las ratas macho LY y HY, esta diferencia podría ser debida al proceso de selección artificial por endogamia al que han sido sujetas las ratas HY y LY por más de 85 generaciones. Otras sublíneas también han mostrado diferencias en la conducta de aseo, por ejemplo, las ratas romanas de baja evitación presentan más episodios de aseo que las ratas romanas de alta evitación en la prueba del campo abierto y durante la habituación a una caja donde después les aplican choques eléctricos (Escorihuela et al., 1999; Estanislau et al., 2013), lo cual se ha relacionado con el fenotipo ansioso de las ratas romanas de baja evitación (Estanislau et al., 2013). La conducta de aseo entre las ratas HY y LY también ha sido diferente en otros contextos experimentales, como es el caso del aseo inducido después de que las ratas son sumergidas en un tanque de agua, las ratas LY tienen secuencias de aseo de mayor duración que las ratas HY, las ratas LY dedican más tiempo a realizar aseo facial y las HY dedican más tiempo al aseo caudal (Moyaho et al., 1995). Al exponer a las ratas LY y HY a un ambiente novedoso, que consistió en una caja de acrílico transparente dividida por un compartimento central y el piso cubierto virtualmente de madera, bajo estas condiciones las ratas HY realizaron más episodios de aseo que las LY, aunque no hubo diferencia en la duración y frecuencia en los componentes de aseo evaluados, esto es aseo facial, aseo corporal, aseo genital y aseo de las patas (Eguibar y Moyaho, 1997). Esto es similar a lo mostrado en las ratas romanas de alta y baja evitación en un ambiente novedoso, ya que las ratas de baja evitación presentan más episodios de aseo, pero después de presentar la respuesta de

evitación la respuesta se invierte, además no se reportaron diferencias en el número de episodios de aseo cuando fueron evaluados en su jaula de vida, lo que implica que un ambiente novedoso es un estresor moderado (Estanislau et al., 2013). Lo anterior conlleva a que existan diferencias neurofisiológicas específicas para cada grupo de ratas y que se manifiesta con diferentes respuestas conductuales dependiendo del contexto experimental en el que son evaluadas. Nuestros resultados muestran que el tipo de crianza recibido no modificó los episodios de aseo en ningún grupo lo que indica que esta conducta es poco sensible a las variaciones del cuidado materno. En el caso de las ratas romanas de baja evitación el aseo es inhibido después de una experiencia aversiva (Estanislau et al., 2013), por otra parte, aseo también es una conducta de desplazamiento, ya que el aseo es una medida que evalúa el estrés y ansiedad (Smolisky et al., 2009). Por lo que un aumento o disminución de esta conducta podrías ser un indicador de fenotipos ansiosos o resilientes, respectivamente (Smolisky et al., 2009).

En conclusión nuestros datos muestran que las conductas de bostezo, episodios de aseo y rascados son poco susceptibles a los cambios en el cuidado materno, de manera similar a lo que se ha reportado en otras conductas como son las respuestas a un ambiente novedoso (campo abierto, caja luz oscuridad y laberinto de cruz elevado) de las sublíneas de ratas de alta y baja respuesta locomotora ante la novedad, las cuales no modificaron su conducta después de haberse realizado intercambio de camadas (Stead et al., 2006). Las madres de baja respuesta locomotora ante la novedad dedican más tiempo al aseo y a la postura alta de lactancia respecto de las de alta respuesta locomotora (Clinton et al., 2010). Por lo que existen conductas susceptibles y no susceptibles al cuidado materno. Debemos destacar que en el caso de las erecciones del pene espontáneas es un hallazgo relevante que las ratas

macho LY de 60 días de edad muestran un mayor número de erecciones del pene cuando son criadas por madres HY. Dado que se sabe que el aseo anogenital que proporciona la madre es un factor que determina el número de erecciones del pene en la edad adulta (Moore 1984, 1992). Es probable que las madres HY hayan lamido más los genitales de las crías LY, este es un aspecto que se deberá analizar en experimentos futuros.

8.5 RESULTADOS DEL EXPERIMENTO 3: EFECTO DEL CUIDADO MATERNO SOBRE LA RESPUESTA DE LAS CONDUCTAS DE ERECCIONES DEL PENE, BOSTEZOS, ASEOS Y RASCADOS AL AGONISTA DOPAMINÉRGICO QUINPIROLE

8.5.1 BOSTEZO

En el caso de las conductas bajo el efecto del (-)-quinpirole las ratas HY son las que se tomaron como referencia para todos los análisis estadísticos dada su alta frecuencia de bostezo (véase Tabla 6).

La administración sistémica de diferentes dosis de (-)-quinpirole incrementó de manera significativa la proporción de bostezos (-0.410 ± 0.047 , $p < 0.01$; véase Tabla 4), el logaritmo de verosimilitud del modelo de regresión beta disminuyó significativamente respecto del modelo nulo, lo cual significa que esta variable independiente contribuyó significativamente a nuestros resultados ($\chi^2_{(2)} = 9.66$, $p < 0.01$).

A grandes dosis la tasa de bostezos disminuyó, este efecto fue incluido en el modelo mediante el término “Dosis^{0.9}”, el cual contribuyó significativamente a los resultados (0.660 ± 0.075 , $p < 0.01$; $\chi^2_{(1)} = 165.99$, $p < 0.001$). La sublínea de los machos evaluados también produjo diferencias significativas para el caso de las ratas HY (0.159 ± 0.138 ; véase Figura 25), las cuales tuvieron una proporción de bostezos significativamente mayor respecto de las ratas SD (-0.787 ± 0.166 , $p < 0.01$) y de las ratas LY (-0.922 ± 0.158 , $p < 0.01$; véase Tabla 6). Por otra parte, el factor cepa o sublínea de la rata contribuyó significativamente a nuestros resultados ($\chi^2_{(2)} = 96.20$, $p < 0.001$).

Finalmente se obtuvo una interacción significativa entre el factor cepa o sublínea de los machos y la dosis de (-)-quinpirole, en la cual las ratas macho SD (-0.024 ± 0.062) y las ratas macho LY (0.174 ± 0.056 ; $p < 0.01$) respondieron de manera diferente respecto de las

ratas HY con todas las dosis probadas (0.159 ± 0.138). La interacción entre los factores contribuyó significativamente a los resultados ($\chi^2_{(2)} = 6.79, p < 0.05$).

La variable “Dosis^{0.9}” hace más clara la diferencia en la respuesta a la droga en los tres grupos de ratas, para el caso de las ratas LY ($-0.281 \pm 0.089, p < 0.01$) que son significativamente menos sensibles a la droga respecto a lo obtenido en las ratas HY. La interacción de ambos factores contribuyó significativamente a los resultados ($\chi^2_{(2)} = 17.62, p < 0.001$). Las diferentes respuestas a las dosis de quinpirole administradas de (-)-quinpirole en los tres grupos de ratas puede observarse en la razón de probabilidades de que se presente un aumento o bien una disminución de la frecuencia de bostezos al compararlo con el grupo control, así a la dosis de 50 $\mu\text{g/Kg}$ las ratas SD presentaron una mayor sensibilidad respecto a las HY, seguidas por las LY, los valores de la razón de probabilidades fueron 1.888 para las SD, 1.562 para las HY y 1.430 para las LY (véase la Tabla 5).

Al calcular la dosis efectiva 50 (ED_{50}) se estimó que para las ratas SD fue de 5.96 $\mu\text{g/Kg}$, y para las ratas HY fue menor respecto a las SD con 4.27 $\mu\text{g/Kg}$, para el caso de las LY fue mayor 7.86 $\mu\text{g/Kg}$, lo que indica que las ratas LY fueron menos sensibles a la droga respecto a las SD y HY (véase Figura 26).

Tabla 5. Razón de probabilidad de la frecuencia de bostezos de las dosis de quinpirole frente al valor inicial (vehículo).

Cepa o sublínea	25 $\mu\text{g/Kg}$	50 $\mu\text{g/Kg}$	100 $\mu\text{g/Kg}$
SD	1.821	1.888	1.393
LY	1.396	1.43	1.127
HY	1.54	1.562	1.248

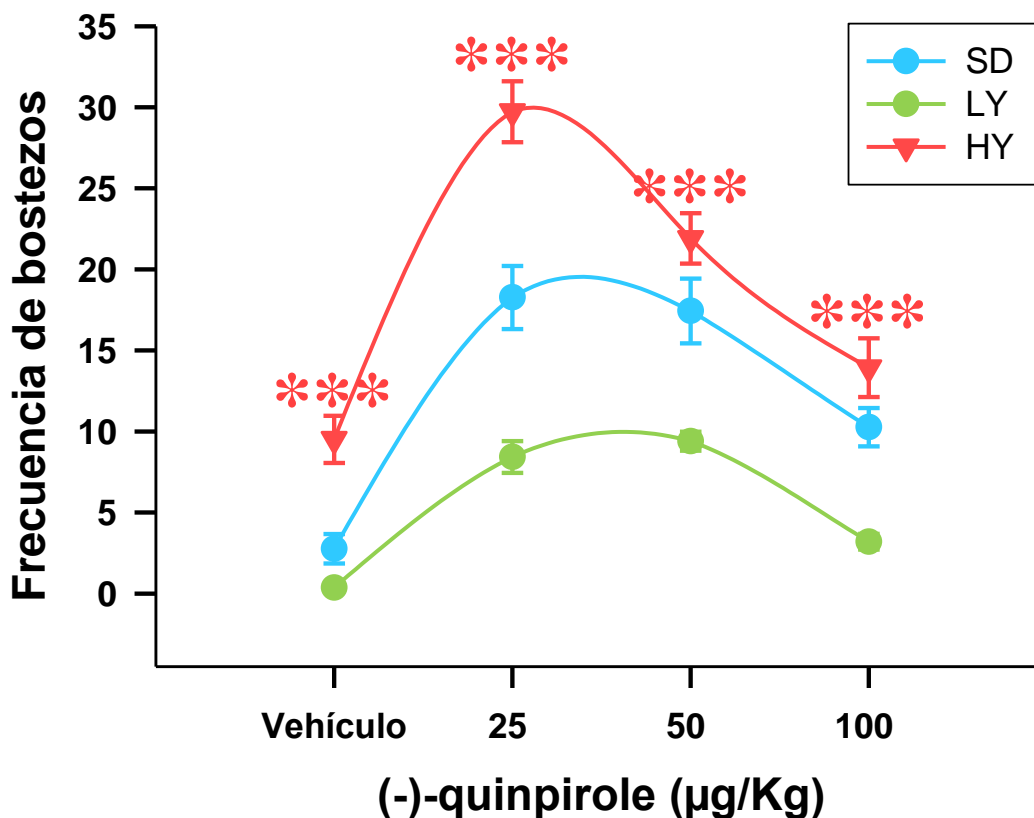


Figura 26. Curva dosis respuesta de la frecuencia de bostezos tras la administración sistémica de (-)-quinpirole en las ratas SD, LY y HY. La dosis vehículo y de 25 µg/Kg de (-)-quinpirole obtuvo una frecuencia de bostezo es significativamente mayor en las ratas macho HY respecto de las ratas SD y de las LY. Con la administración de las dosis de 50 y 100 µg/Kg de (-)-quinpirole las ratas macho HY sólo obtuvieron diferencias significativas respecto de las ratas macho LY, pero no respecto de las ratas macho SD. *** $p < 0.001$, $n = 98$.

8.5.2 ERECCIONES DEL PENE

El efecto del (-)-quinpirole sobre la ocurrencia de las erecciones del pene con las diferentes dosis empleadas mostró un efecto significativo (0.024 ± 0.006 , $p < 0.01$; véase Tabla 4), esta variable contribuyó significativamente a nuestros resultados ($\chi^2_{(1)} = 10.54$, $p < 0.01$). La cepa o sublíneas de los machos mostraron diferencias estadísticamente significativas en la ocurrencia de las erecciones del pene, siendo las ratas macho HY mucho más sensibles a la droga (-0.767 ± 0.289 , $p < 0.01$), el tipo de machos contribuyó significativamente al modelo ($\chi^2_{(1)} = 14.516$, $p < 0.001$; véase Figura 27), La interacción entre al tipo de rata y la dosis tuvo un efecto significativo, siendo más sensibles las ratas HY (-0.767 ± 0.289 , $p < 0.01$; véase Figura 27), y las de menor sensibilidad de las ratas LY (-0.024 ± 0.007 , $p <$

0.01), la interacción contribuyó significativamente al modelo ($\chi^2_{(2)} = 11.823, p < 0.01$). La razón de probabilidades de las erecciones del pene con la administración de 100 $\mu\text{g/Kg}$ de las HY fue de 10.79, la de las SD fue de 2.096 y de las LY fue de tan solo 0.947 (véase Tabla 6), que nos indica que a esta dosis las HY fueron las más sensibles y las LY las menos sensibles a la acción de la droga, cabe destacar que las respuestas de las ratas SD fueron muy similares en las diferentes dosis de (-)-quinpirole.

La ED_{50} estimada para las SD fue de 144.2 $\mu\text{g/Kg}$, y para las HY fue de 32.23 $\mu\text{g/Kg}$, la ED_{50} para la LY no pudo ser estimada dado el tipo de su respuesta lo que impidió el ajuste de la curva.

Tabla 6. Radio de probabilidades de las erecciones del pene de la dosis de (-)-quinpirole frente al valor inicial (vehículo)

Sublínea o cepa	25 $\mu\text{g/Kg}$	50 $\mu\text{g/Kg}$	100 $\mu\text{g/Kg}$
SD	1.203	1.448	2.096
LY	0.9865	0.9731	0.947
HY	1.812	3.284	10.79

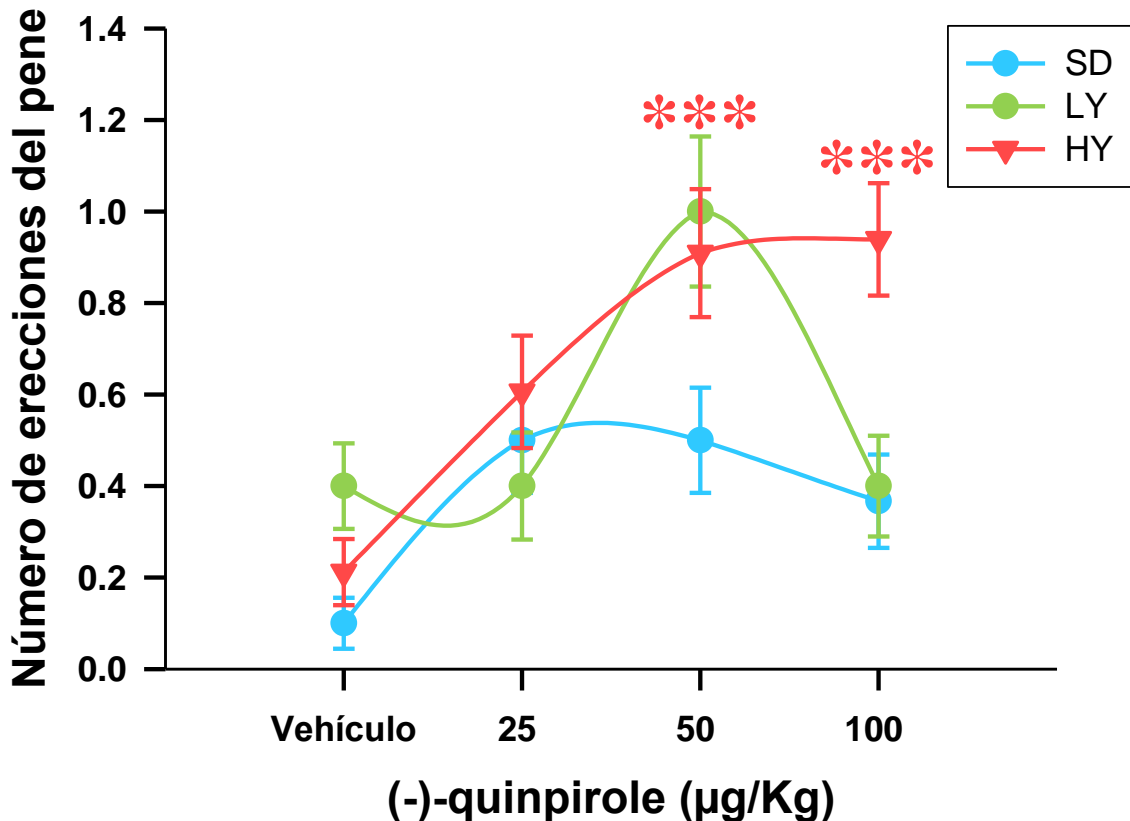


Figura 27. Curva dosis respuesta al (-)-quinpirole del número de erecciones del pene en las ratas SD, LY y HY. La administración de 50 µg/Kg mostró que el número de erecciones del pene en las ratas HY es significativamente mayor respecto a las SD, pero no de las ratas LY, con la dosis de 100 µg/Kg el número de erecciones es significativamente mayor en las HY respecto a las SD y LY. *** $p < 0.001$, $n = 98$. Significancia tomada de los coeficientes de la regresión logística.

8.5.3 EPISODIOS DE ASEO

El (-)-quinpirole produjo un efecto inhibitorio en los episodios de aseo en los tres grupos de ratas (0.024 ± 0.006 , $p < 0.01$; véase Tabla 4), en el cual disminuyó la devianza significativamente ($\chi^2_{(1)} = 159.78$, $p < 0.001$), lo que indica que la variable dosis de quinpirole contribuyó significativamente. Similar al caso de la conducta de bostezo y erecciones del pene la tipo de rata tuvo un efecto significativo sobre los episodios de aseo (véase la Figura 28), en el cual los valores de los coeficientes de la regresión de los tres grupos de ratas fueron significativamente diferentes, que en el caso de las SD fue de 0.789 ± 0.121 ($p < 0.01$), en las LY fue de 0.276 ± 0.124 ($p < 0.01$) y en las HY fue de 0.876 ± 0.098 ($p < 0.01$; véase Tabla 4), el grupo de ratas contribuyó significativamente al modelo

($\chi^2_{(2)} = 63.29, p < 0.001$). La interacción sublínea o cepa de la rata y la dosis de quinpirole también produjo resultados significativos, el valor de los coeficientes fue en las SD de -0.007 ± 0.003 ($p < 0.01$) y en las LY fue de 0.011 ± 0.003 ($p < 0.01$), lo que indica que el quinpirole tuvo un mayor efecto inhibitorio en las SD, que puede verse claramente en la razón de probabilidades de cada dosis respecto al vehículo en cada tipo de rata, por ejemplo la razón de posibilidades en la dosis de $100 \mu\text{g/Kg}$ fue de 0.0971 para la SD, de 0.6114 para las LY y 0.1977 para las HY (véase Tabla 7).

La ED_{50} fue estimada como el punto medio de los episodios de aseo a nivel basal y la total inhibición, esto es ausencia de episodios de aseo, la cual fue en el caso de las ratas SD de $29.72 \mu\text{g/Kg}$, para las LY de $140.90 \mu\text{g/Kg}$ y para las HY fue de $42.76 \mu\text{g/Kg}$.

Como en el caso de bostezos y erecciones del pene no hubo efecto del intercambio de camadas.

Tabla 7. Radio de los episodios de aseo vs el control (vehículo)

Sublínea o cepa	25 $\mu\text{g/Kg}$	50 $\mu\text{g/Kg}$	100 $\mu\text{g/Kg}$
SD	0.5582	0.3119	0.097709
LY	0.8843	0.7819	0.6114
HY	0.6668	0.4447	0.1977

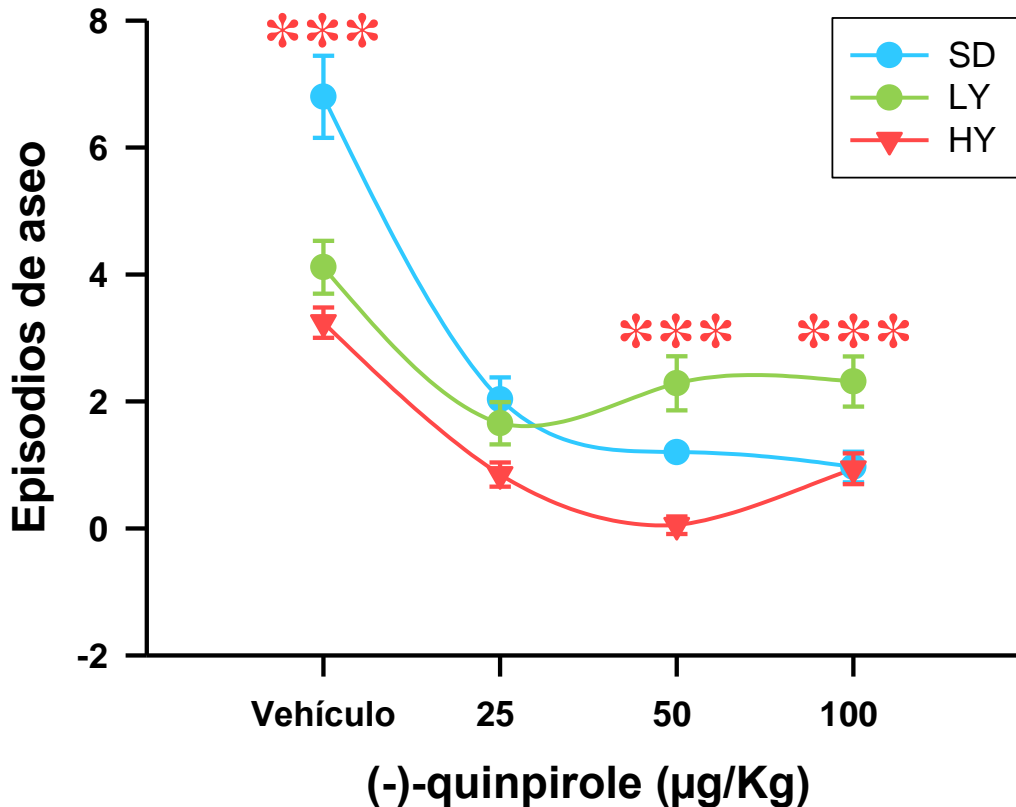


Figura 28. Comparación de la curva dosis respuesta al quinpirole de los episodios de aseo en las ratas SD, LY y HY. En la dosis vehículo los episodios de aseo de las ratas HY son significativamente diferente respecto de las ratas SD, no así de las ratas LY. En las dosis de 50 y 100 µg/Kg existe diferencia significativa entre las HY y las LY, pero entre las SD y HY. *** $p < 0.001$, $n = 98$. Significancia tomada de los coeficientes de la regresión de Poisson.

8.5.4 RASCADO

Las diferentes dosis sistémicas de quinpirole tuvieron un efecto inhibitorio significativo sobre la ocurrencia de rascado (-0.020 ± 0.004 , $p < 0.01$), el factor dosis de quinpirole contribuyó significativamente al modelo ($\chi^2_{(1)} = 37.019$, $p < 0.001$). No se encontraron diferencias significativas entre los machos de los tres grupos de ratas, el factor sublínea no contribuyó significativamente a al modelo, por la que se calculó una ED_{50} para todos los grupos en conjunto que fue de $53.31 \mu\text{g/Kg}$, el valor de la razón de posibilidades es igual en los tres grupos de ratas en todas las dosis (véase Tabla 8).

Tabla 8. Proporción de probabilidad (en inglés llamado Odds ratios) del número de rascados en las dosis de quinpirole frente al control (vehículo)

Cepa o sublínea	25 µg/Kg	50 µg/Kg	100 µg/Kg
Machos SD	0.6042	0.3651	0.1333
Machos LY	0.6042	0.3651	0.1333
Machos HY	0.6042	0.3651	0.1333

Tabla 9. Modelos de regresión de las variables conductuales bajo el efecto del (-)-quinpirole

	Variable dependiente			
	Tasa de bostezos	Ocurrencia de erecciones del pene	Frecuencia de episodios de aseo	Frecuencia de rascados
	Beta (1)	Logística (2)	Poisson (3)	Logística (4)
Quinpirole ($\mu\text{g/Kg}$)	-0.410*** (0.047)	0.024*** (0.006)	-0.016*** (0.003)	-0.020*** (0.004)
Dosis ^{0.9}	0.660*** (0.075)			
Machos SD	-0.787*** (0.166)	-0.301 (0.428)	0.789*** (0.121)	
Machos LY	-0.922*** (0.158)	0.385 (0.393)	0.276*** (0.124)	
Dosis ($\mu\text{g/Kg}$)0.9 x cepa SD	0.043 (0.098)			
Dosis ($\mu\text{g/Kg}$)0.9 x sublínea LY	-0.281*** (0.089)			
Dosis ($\mu\text{g/Kg}$) x cepa SD	-0.024 (0.062)	-0.016** (0.008)	-0.007** (0.003)	
Dosis ($\mu\text{g/Kg}$) x sublínea LY	0.174*** (0.056)	-0.024*** (0.007)	0.011*** (0.003)	
Constante	0.159 (0.138)	-0.767*** (0.289)	0.876*** (0.098)	-0.074 (0.165)
Observaciones	392	392	392	392
Pseudo R ²	0.51	0.07	0.26	0.08

Nota: * $p < 0.1$; ** $p < 0.05$; *** $p < 0.01$

8.6 DISCUSIÓN DEL EXPERIMENTO 3

Las respuestas conductuales inducidas por la administración sistémica con las diferentes dosis de (-)-quinpirole como son la frecuencia de bostezo, el número de erecciones y los episodios de aseo son similares a los obtenidos en investigaciones previas con ratas de diferentes cepas o sublíneas (Eilam et al., 1992; Horvitz et al., 2001; Eguibar et al., 2003; Hsieh et al., 2004; Collins et al., 2005; 2007; Sanna et al., 2011).

Se obtuvo un incremento significativo de los bostezos con las dosis de 25 $\mu\text{g/Kg}$ y 50 $\mu\text{g/Kg}$ y un incremento significativo de las erecciones del pene a las dosis de 50 $\mu\text{g/Kg}$ y 100 $\mu\text{g/Kg}$, con una curva dosis respuesta en forma de U invertida, similar a lo reportado en trabajos anteriores (Eguibar et al., 2003; Collins et al., 2005; 2007; 2009), y una inhibición concomitante de los episodios de aseo y de los rascados (Eguibar et al., 2003). Se ha sugerido que la inducción de bostezos y erecciones del pene por dosis bajas de agonistas D_2/D_3 está mediada por la activación selectiva del receptor D_3 , mientras que la inhibición del bostezo que ocurre a dosis más altas está mediada por una activación concomitante del receptor D_2 (Collins et al., 2007; 2009; Collins y Eguibar, 2010). Sin embargo, el estudio más reciente confirmó que el principal inductor de ambas conductas es el receptor dopaminérgico D_2 y no el D_3 , además de una función proérectil D_4 (Sanna et al., 2012; Melis et al., 2018). En un estudio reciente cuando agonistas y antagonistas específicos de la familia D_2 , los resultados muestran que el receptor dopaminérgico D_4 no participa en la regulación del bostezo (Sanna et al., 2012; Melis et al., 2018). En el presente trabajo el bostezo en las ratas LY fueron mostró ser menos sensible a la droga y para el caso de las ratas SD fueron las más sensibles, ya que la ED_{50} para las ratas macho LY fue de 7.86 $\mu\text{g/Kg}$ y en las SD fue de tan solo 5.96 $\mu\text{g/Kg}$, y las ratas macho HY fueron las más

sensibles con una ED₅₀ de 4.27 µg/Kg, además de que la respuesta a las dosis de 25 µg/Kg y de 55 µg/Kg de la droga fue menor en las LY y mayor en las SD al compararlas con sus respectivos controles (véase Tablas 5 y 9).

En cuanto a las erecciones del pene las respuestas conductuales de las ratas LY a las administraciones del (-)-quinpirole fueron más bien inhibitoras a diferencia de las ratas SD y HY, debido a esto no fue posible calcular la ED₅₀ para la LY. Para en caso de las ratas HY fueron más sensibles a la droga, ya que tuvieron más erecciones respecto al vehículo que los otros dos grupos de ratas (véase Tablas 6 y 9). Lo anterior muestra que la endogamia por más de 85 generaciones no sólo afecta modifica la frecuencia de bostezos y erecciones del pene, sino que también sus respuestas a los agonistas dopaminérgicos, ya observada en trabajos previos del laboratorio las respuestas con apomorfina, muestran que las ratas HY fueron más sensibles que las LY (Holmgren et al., 1985; Urbá-Holmgren et al., 1993). Por otra parte, el agonista dopaminérgico D₁ SKF 38393, tuvo un mayor efecto inhibitorio sobre el bostezo en las HY respecto a las LY, el (-)-quinpirole también ha sido utilizado en un trabajo previo en el cual el resultado es similar al mostrado en este trabajo, lo que prueba que el experimento es reproducible, y la coadministración de SKF 38393 con (-)-quinpirole produjo un similar incremento de bostezos en ambas sublíneas (Eguibar et al., 2003). Este trabajo confirma las diferentes respuestas al (-)-quinpirole con los diferentes ED₅₀ obtenidos en cada cepa o sublínea. Además de que las respuestas son significativamente diferentes respecto a la cepa exogámica SD. Cabe destacar que las ratas de la cepa SD son regularmente, una o dos veces al año, cruzadas con ratas de otros bioterios para mantenerlas con sus características exogámicas. Hemos empleado ratas de otros bioterios de México y en un par de ocasiones ratas de la compañía Harlan de México

y de EUA. En las ratas romanas de alta y baja evitación, se ha demostrado que tienen una mayor frecuencia de bostezos tras la administración de la apomorfina respecto a lo obtenido en las ratas SD y además las ratas de romanas de baja evitación muestran una mayor respuesta a la apomorfina respecto las ratas romanas de alta evitación (Sanna et al., 2013; Melis et al., 2018). Existen respuestas similares en este grupo de ratas con PD-168,077, un agonista dopaminérgico D₄, el cual induce erecciones, pero no tiene efecto sobre los bostezos (Sanna et al., 2013). En conclusión, nuestros resultados muestran que el intercambio de camadas no tuvo un efecto significativo sobre la frecuencia de bostezo de las crías, similar a los reportado en un trabajo previo con las ratas LY y HY (Moyaho et al., 2009). En el cual se mostró que el tamaño de la camada tuvo un efecto significativo sobre la frecuencia de bostezo, y que existe un dimorfismo sexual en el número de bostezos en las ratas HY, además de que hubo una interacción significativa entre el sexo de las crías y la cepa o sublínea de las madres adoptivas (Moyaho et al., 2009). Además de que el intercambio de camadas entre ratas del mismo grupo o diferente no modificó la frecuencia de bostezo en los machos y hembras (Moyaho et al., 2009). Esto es relevante ya que las ratas de dicho estudio permanecieron solas en su caja de vida después del destete hasta que fueron adultas jóvenes, esto es que se desarrollaron en condiciones de aislamiento que se considera un estresor mediano con características crónicas que pudieron haber influenciado en las conductas evaluadas. Se ha reportado que las ratas que viven aisladas pueden desarrollar el “síndrome del aislamiento” que consiste en hiperadrenocorticismo, peso corporal reducido, modificaciones en la respuesta a estímulos nociceptivos, alteración de los componentes del tejido sanguíneo, cambios en la señalización dopaminérgica en diferentes regiones del cerebro y neurogénesis. Estos cambios coinciden con alteraciones

conductuales como el caso de la agresión, la conducta sexual, el aprendizaje, las conductas depresivas y sensibilidad al dolor (Heidbreder et al., 2000; Beery y Kaufer, 2015).

En el caso de la conducta de aseo el (-)-quinpirole tuvo un mayor efecto inhibitorio en las ratas macho SD respecto a las ratas LY y HY, lo cual muestra al igual que el caso de la conducta de bostezos y erecciones del pene que existen diferentes repuestas conductuales de las obtenidas con la cepa exogámica respecto de las sublíneas endogámicas LY y HY. Además de que en este trabajo el (-)-quinpirole produjo un efecto inhibitorio mayor en las HY respecto a las LY, resultado que es ligeramente diferente a un trabajo previo en donde el efecto inhibitorio del (-)-quinpirole fue similar para ambas sublíneas (Eguibar et al., 2003). El SKF 38393 una agonista parcial D_1/D_5 produjo un incremento de los episodios de aseo dependiente de la dosis similar en ambas sublíneas (Eguibar et al., 2003). Diferentes respuestas conductuales entre las HY y LY se han observado en trabajos previos, como es el caso de la administración del agonista colinérgico muscarínico pilocarpina, el cual produjo una inhibición del aseo dependiente de la dosis en las ratas HY, pero en las ratas LY esta inhibición sólo ocurrió en la dosis más alta (Eguibar y Moyaho, 1997). La administración intracerebroventricular de la hormona adrenocorticotropa fracción 1-14 produjo en las ratas HY un incremento en el número y duración de los episodios de aseo; sin embargo, en las ratas LY sólo produjo un incremento en la duración de los episodios de aseo pero no su frecuencia (Eguibar et al., 2004). Por lo que las respuestas diferenciales de la conducta de aseo entre la cepa exogámica SD y las sublíneas endogámicas LY y HY depende del sistema de neurotransmisión involucrado y tipo de receptor que es estimulado.

Así mismo las diferentes ED_{50} obtenidas en las conductas de bostezos, aseos y erecciones del pene nos muestran que existen diferencias en la regulación dopaminérgica de estas

conductas. Al no haber diferencias entre los machos de esta sublínea con diferentes crianzas podemos suponer que estas diferencias halladas en las conductas basales y respuesta a la droga se deben más a motivos genéticos que epigenéticos.

El (-)-quinpirole es un agonista dopaminérgico completo para los receptores D_2 con un pK_i de 4.9-7.7 y con una parcial selectividad para el receptor D_3 con una afinidad pK_i de 6.4-8.0 y poca afinidad para los D_4 con un pK_i de 7.5 (Bolaños-Jiménez et al., 2011; Simonsen et al., 2016). La actividad de los receptores D_2 puede modular la neurotransmisión de la dopamina al afectar su síntesis, liberación, recaptura o la actividad neuronal dependiente de la dopamina en varias partes del sistema nervioso tales como: el área tegmental ventral, el núcleo de Rafé dorsal, el núcleo accumbens, el estriado y la amígdala (Bolaños-Jiménez et al., 2011). Además, se han identificado receptores tipo D_2 con respuestas inhibitorias y excitatorias, por lo que su efecto dependerá de su regulación regional (Bolaños-Jiménez et al., 2011). La administración sistémica del (-)-quinpirole afectará dependiendo de la dosis principalmente a los receptores D_2 distribuidos en el sistema nervioso central teniendo efecto sobre diversas conductas (Bolaños-Jiménez et al., 2011), Para el caso de las erecciones del pene y el bostezo el (-)-quinpirole afectará a estas conductas principalmente ejerciendo su efecto sobre el núcleo paraventricular del hipotálamo (Sanna et al., 2012; Melis et al., 2018). Se ha mostrado que la administración directa de apomorfina un agonista dopaminérgico inespecífico, o de la lisurida un agonista parcial del receptor dopaminérgico D_2 o del pramipexole un agonista completo D_2 en el núcleo paraventricular del hipotálamo incrementa significativamente la frecuencia de bostezos y de las erecciones del pene (Chen et al., 1999; Sanna et al., 2012; Melis et al., 2018). Sin embargo, la administración del SKF-38393 un agonista D_1 o del 7-hidroxi-DPAT un agonista D_3 no tuvieron un efecto

sobre ambas conductas, además de que la administración de apomorfina de manera sistémica junto con el antagonista dopaminérgico D₁ SCH-23390 o del antagonista D₂ sulpirida directamente en el núcleo paraventricular del hipotálamo bloquea el efecto inducido por la apomorfina sobre el bostezo y las erecciones del pene (Chen et al., 1999). Se ha mostrado también que la inducción de bostezos y erecciones del pene inducidas por las microinyecciones de apomorfina y pramipexole en el núcleo paraventricular del hipotálamo fueron bloqueadas por la microinyección previa del antagonista específico D₂ L-741,626, pero no por el antagonista D₃ SB-277011A o por el antagonista D₄ L-745,870 (Sanna et al., 2012). Se ha propuesto que el núcleo paraventricular del hipotálamo funciona como un integrador donde los agonistas de la dopamina actúan para inducir las erecciones del pene y los bostezos a través de oxitocina (Sanna et al., 2012). Estos resultados soportan que el receptor D₂ y no el D₃, es el responsable de la inducción de estas conductas. La estimulación de los receptores D₂, la cual aumenta la entrada de Ca²⁺ en los cuerpos celulares de las neuronas oxitocinérgicas (Sanna et al., 2012). Esto aumenta la producción de óxido nítrico, que es el que activa la neurotransmisión oxitocinérgica en las áreas cerebrales extrahipotalámicas y de la médula espinal, lo que provoca la erección y el bostezo del pene (Sanna et al., 2012). Es relevante destacar que las ratas HY son más sensibles a la acción de la oxitocina administrada intracerebroventricularmente respecto de las ratas LY (Eguibar et al., 2015).

La conducta de autoaseo en roedores está regulada por varias regiones que pertenecen al sistema dopaminérgico, ya sea que contienen neuronas dopaminérgicas o que reciben proyecciones de estas, como son la vía mesolímbica, la vía nigroestriada y las del tallo cerebral (Kalueff et al., 2015). La secuencia de autoaseo, el inicio y la finalización de las

cadena sintáctica o cefalocaudal del aseo y los episodios de aseo en roedores pueden verse afectados bidireccionalmente por la manipulación experimental, incluidas las lesiones del tracto nigrostriatal que contiene dopamina, la administración de varios fármacos dopaminérgicos, las deleciones génicas permanentes (knock-out) en roedores y por el estrés psicológico (Kalueff et al., 2015). En roedores, la administración sistémica de agonistas del receptor de dopamina D₁ amplifica la súper estereotipia conductual del aseo, lo que lleva a la producción excesiva de episodios de aseo y de cadenas de autoaseo más rígidas. La coadministración sistémica del antagonista del receptor de dopamina D₂ haloperidol previene la súper estereotipia secuencial inducida por el agonista D₁ SKF38393 (Taylor et al., 2010), y la activación del autoaseo inducida por SKF83959, un agonista D₁ y un agonista parcial D₂, se elimina en ratones knock-out que carecen del gen para el receptor D₁. La conducta de aseo se inhibe a bajas y altas dosis de quinpirole (Eilam et al., 1992; Horvitz et al., 2001; Eguibar et al., 2003). La coadministración del agonista dopaminérgico D₁ SKF38393 con quinpirole también inhibe el aseo (Eilam et al., 1992). En conjunto, estos resultados muestran que existe un equilibrio entre los sistemas D₁ y D₂ del cuerpo estriado en la regulación del autoaseo (Kalueff et al., 2015). En el presente trabajo el (-)-quinpirole también tiene un efecto inhibitorio sobre el aseo en los tres grupos de ratas, pero, la intensidad de la respuesta difirió entre los tres grupos de animales, en los machos SD el efecto inhibitorio es más marcado respecto a de los otros dos grupos de ratas (véanse Tablas 7 y 9).

El (-)-quinpirole también tuvo un efecto inhibitorio sobre el rascado, parece ser que en el caso del rascado los agonistas dopaminérgicos y otras drogas tienen un efecto similar al que tienen sobre la conducta de aseo (Taylor et al., 2010). Por ejemplo, se ha observado

un incremento del rascado al igual que del aseo tras la administración del agonista dopaminérgico D₁ SKF38393 (Taylor et al., 2010), o por la administración central de oxitocina (Eguibar et al., 2015), bombesina (Díaz-Romero et al., 2002; Lee et al., 2003) y por la hormona adrenocorticotropa, aunque el incremento por la ACTH es inhibido por la coadministración de haloperidol, lo que implica que la acción de esta hormona se debe a cambios en la neurotransmisión dopaminérgica (Colbern et al., 1988), por lo que es posible que el aseo y rascado han de compartir algunos sitios reguladores.

En el presente trabajo no hubo diferencia en la respuesta de rascado en los tres grupos de ratas por lo que sólo se obtuvo una ID₅₀, aunque en trabajos previos del laboratorio se mostró que la bombesina inhibió el aseo en ambas sublíneas, pero la duración del rascado fue significativamente mayor en las ratas LY y que la administración de oxitocina produjo significativamente más rascados en las ratas LY respecto a las HY (Eguibar et al., 2015). Lo que indicaría diferencias en la regulación oxitocinérgica del rascado, pero no dopaminérgica en las ratas HY y LY.

Las diferentes ID₅₀ obtenidas en las conductas de bostezo, erecciones del pene y episodios de aseo nos muestran diferencias en la regulación dopaminérgica entre los machos SD, LY y HY. Las diferentes respuestas conductuales de las frecuencias de bostezos, erecciones del pene, episodios de aseo y rascados al (-)-quinpirole no se modificaron por el tipo de madre que crío a los machos, ni porque los machos eran hijos adoptivos o no. Por lo que los fenotipos conductuales resultantes son debidos al genotipo particular de cada grupo de ratas, el cual es producto de la selección artificial por endogamia.

8.7 RESULTADOS DEL EXPERIMENTO 4: EFECTO DEL CUIDADO MATERNO SOBRE EN LA CONDUCTA SEXUAL MASCULINA

8.7.1 CONDUCTA SEXUAL MASCULINA DE LAS RATAS SPRAGUE-DAWLEY, Y DE LAS SUBLÍNEAS DE ALTO Y BAJO BOSTEZO SIN INTERCAMBIO DE CAMADAS

8.7.1.1 LATENCIA Y NÚMERO DE MONTAS EN RATAS SD, LY Y HY SIN INTERCAMBIO DE CAMADAS

La latencia de monta disminuyó significativamente en serie copulatoria en los tres grupos de ratas, la cual fue significativamente menor en las ratas SD ($p \leq 0.05$) respecto a las LY en la 2ª y 4ª serie copulatoria y significativamente menor respecto de las ratas LY y HY en la 3ª serie copulatoria ($p \leq 0.05$; véase Tabla 10).

El número de montas se incrementó en cada serie copulatoria ($p \leq 0.05$). Las ratas HY ($p \leq 0.05$) tuvieron significativamente menos montas respecto de las ratas SD y LY en todas las series copulatorias ($p \leq 0.05$; véase Tabla 11).

Tabla 10. Latencia de monta en ratas macho Sprague-Dawley, y en las ratas de bajo (LY) y alto (HY) bostezo

Serie copulatoria (30 min)	Latencia de monta			ANOVA de Kruskal Wallis
	Machos SD (19 animales)	Machos LY (22 animales)	Machos HY (17 animales)	
1	210 ± 50	302 ± 74	367 ± 80	H = 3.79, gl = 2, $p = 0.15$
2	83 ± 29*	190 ± 23	284 ± 163	H = 11.69, gl = 2, $p = 0.03$
3	14 ± 4*	183 ± 48	303 ± 108	H = 23.06, gl = 2, $p \leq 0.001$
4	25 ± 6*	97 ± 17	264 ± 112	H = 15.61, gl = 2, $p \leq 0.001$
Prueba de Friedman	$\chi^2_{(3)} = 29.25, p \leq 0.001$	$\chi^2_{(3)} = 11.26, p \leq 0.001$	$\chi^2_{(3)} = 22.50, p \leq 0.001$	

Los datos son la media ± EEM. Las ratas SD tuvieron una latencia de eyaculación significativamente menor en las SD respecto a las LY en la 2ª y 4ª serie copulatoria y significativamente menor respecto a las LY y HY en las 3ª serie copulatoria. * $p < 0.05$.

Tabla 11. Número de montas en las ratas macho Sprague-Dawley, y en las ratas macho de bajo (LY) y alto (HY) bostezo

Serie copulatoria (30 min)	Número de montas			ANOVA de Kruskal Wallis
	Machos SD (19 animales)	Machos LY (22 animales)	Machos HY (17 animales)	
1	26 ± 3.6	24 ± 4.3	10 ± 3.1*	H = 8.52, gl = 2, p = 0.04
2	34 ± 4.4	32 ± 4.1	9 ± 3.18*	H = 18.86, gl = 2, p < 0.001
3	43 ± 4.4	36 ± 3.0	20 ± 2.9*	H = 13.80, gl = 2, p = 0.001
4	54 ± 5.4	44 ± 4.3	25 ± 7.9*	H = 16.26, gl = 2, p ≤ 0.001
Prueba de Friedman	$\chi^2_{(3)} = 17.89, p \leq$ 0.001	$\chi^2_{(3)} = 13.25, p =$ 0.004	$\chi^2_{(3)} = 18.18, p \leq$ 0.001	

Los datos son la media ± EEM. El número de montas fue significativamente menor en las ratas HY respecto a las SD y LY en todas las series copulatoria *p<0.05

8.7.1.2 LATENCIA Y NÚMERO DE INTROMISIONES EN LAS RATAS DE LA CEPA SPRAGUE-DAWLEY Y DE LAS SUBLÍNEAS DE ALTO Y BAJO BOSTEZO SIN INTERCAMBIO DE CAMADAS

La latencia de intromisión fue significativamente menor ($p \leq 0.05$; véase Tabla 12) en cada serie copulatoria en los tres grupos de ratas evaluados. En la 3ª serie copulatoria, la latencia de intromisión en las ratas macho LY fue significativamente mayor ($p \leq 0.05$) respecto de las ratas SD y HY.

El número de intromisiones se incrementó significativamente ($p \leq 0.05$; véase Tabla 13) en los machos SD y HY con cada serie copulatoria, no fue el caso para los machos LY. En la segunda serie copulatoria las ratas macho HY tuvieron un número de intromisiones significativamente menor respecto de los machos SD ($p \leq 0.05$).

Tabla 12. Latencia de intromisión en las ratas macho Sprague-Dawley (SD), y en las ratas de bajo (LY) y alto (HY) bostezo

Serie copulatoria	Latencia de intromisión			ANOVA de Kruskal Wallis
	Machos SD (19 animales)	Machos LY (22 animales)	Machos HY (17 animales)	
1	299 ± 89	477 ± 103	322 ± 83	H = 2.00, gl = 2, p = 0.37
2	216 ± 79	305 ± 71	107 ± 41	H = 4.83, gl = 2, p = 0.09
3	63 ± 29	381 ± 71*	152 ± 86	H = 20.77, gl = 2, p ≤ 0.001
4	201 ± 104	188 ± 45	243 ± 136	H = 4.25, gl = 2, p = 0.12
Prueba de Friedman	$\chi^2_{(3)} = 26.38, p \leq 0.001$	$\chi^2_{(3)} = 14.37, p = 0.002$	$\chi^2_{(3)} = 16.43, p \leq 0.001$	

Los datos son la media ± EEM. La latencia de intromisión fue significativamente mayor en los machos LY respecto a los SD y HY en la 2ª serie copulatoria. *p<0.05

Tabla 13. Número de intromisiones en las ratas macho Sprague-Dawley (SD), y en las ratas de bajo (LY) y alto (HY) bostezo

Serie copulatoria	Número de intromisiones			ANOVA de Kruskal Wallis
	Machos SD (19 animales)	Machos LY (22 animales)	Machos HY (17 animales)	
1	6.58 ± 1.7	4.54 ± 1.2	3.47 ± 1.3	H = 2.53, gl = 2, p = 0.282
2	11.16 ± 1.7	6.86 ± 1.2	5.12 ± 2.1*	H = 8.33, gl = 2, p = 0.016
3	11.89 ± 1.6	6.86 ± 1.3	8.41 ± 2.0	H = 5.79, gl = 2, p ≤ 0.055
4	11.53 ± 1.8	7.41 ± 1.1	9.76 ± 2.1	H = 3.59, gl = 2, p = 0.17
Prueba de Friedman o ANOVA de medidas repetidas	F = 4.70, p = 0.005	$\chi^2_{(3)} = 4.43, p = 0.33$	$\chi^2_{(3)} = 18.15, p \leq 0.001$	

Los datos son la media ± EEM. El número de intromisiones fue significativamente menor en los machos HY respecto a los SD en la 2ª serie copulatoria. *p<0.05

8.7.1.3 LATENCIA Y NÚMERO DE EYACULACIONES EN RATAS SD, LY Y HY SIN INTERCAMBIO DE CAMADAS

La latencia de eyaculación fue significativamente menor ($p \leq 0.05$; véase Tabla 14) con cada serie copulatoria en los tres grupos de ratas. La latencia de eyaculación fue significativamente menor en los machos HY respecto de los machos LY en la 3ª y 4ª serie copulatoria ($p \leq 0.05$), pero no respecto de los machos SD.

El número de eyaculaciones se incrementó significativamente con cada serie copulatoria en los machos SD ($F = 6.64, p \leq 0.001$; véase Figura 29), en los machos LY ($F = 4.21, p = 0.009$) y en los machos HY ($F = 3.99, p = 0.01$). Los machos SD tuvieron significativamente más eyaculaciones que los machos HY en la segunda serie copulatoria y que los machos LY en la tercera serie copulatoria ($p \leq 0.05$).

Tabla 14. Latencia de eyaculación en las ratas macho Sprague-Dawley (SD), y en las ratas de bajo (LY) y alto (HY) bostezo

Serie copulatoria	Latencia de eyaculación			ANOVA de Kruskal Wallis
	Machos SD (19 animales)	Machos LY (22 animales)	Machos HY (17 animales)	
1	798 ± 73	867 ± 159	676 ± 224	H = 1.37, gl = 2, $p = 0.50$
2	807 ± 76	706 ± 114	581 ± 81	H = 1.84, gl = 2, $p = 0.40$
3	699 ± 83	991 ± 92	433 ± 79*	H = 12.96, gl = 2, $p = 0.002$
4	614 ± 94	824 ± 99	416 ± 83*	H = 9.03, gl = 2, $p = 0.01$
ANOVA de medidas repetidas	F = 6.64, $p < 0.001$	F = 4.21, $p = 0.009$	F = 3.99, $p = 0.013$	

Los datos son la media ± EEM. La latencia de eyaculación fue significativamente menor en las HY respecto a las SD en la 3ª y 4ª serie copulatoria. * $p < 0.05$.

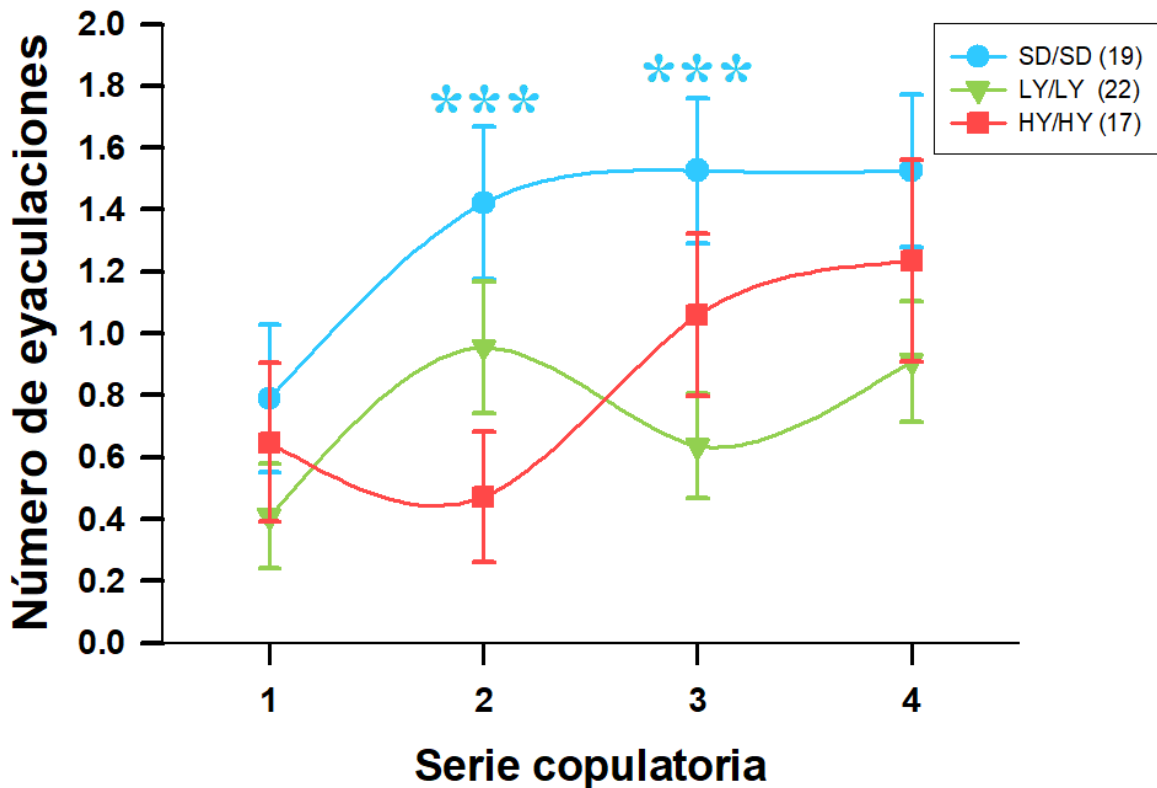


Figura 29. Número de machos que eyacularon en las 4 sesiones de copulatorias. El número de machos SD que eyacularon en la 2ª serie copulatoria fue significativamente mayor respecto a los machos HY y en la 3ª serie copulatoria el número de machos SD que eyacularon fue significativamente mayor respecto de los machos LY ($p \leq 0.05$). Entre paréntesis se muestra el número de animales evaluados.

8.7.2 PORCENTAJE DE NO COPULADORES, COPULADORES LENTOS, COPULADORES PROMEDIO Y COPULADORES PRECOSES EN RATAS SD, LY Y HY SIN INTERCAMBIO DE CAMADAS

La frecuencia de cada tipo de copulador fue significativamente diferente ($F = 13.04$, $p < 0.015$, prueba de Fisher) entre las ratas SD, LY y SD (véase Figura 30). El porcentaje de ratas SD no copuladores fue del 0%, un 32% fueron copuladores lentos, el 63% tuvieron un patrón copulatorio promedio y tan sólo el 5% fueron precoces. Para las ratas LY se obtuvo 0% de no copuladores, un 45% de copuladores lentos y un 55 de copuladores promedio y ninguno de ellos fueron precoces. En las ratas HY obtuvimos un 18% de no copuladores, un 29% de copuladores lentos, tan solo 29% fueron copuladores promedio y un 24% tuvieron un patrón precoz.

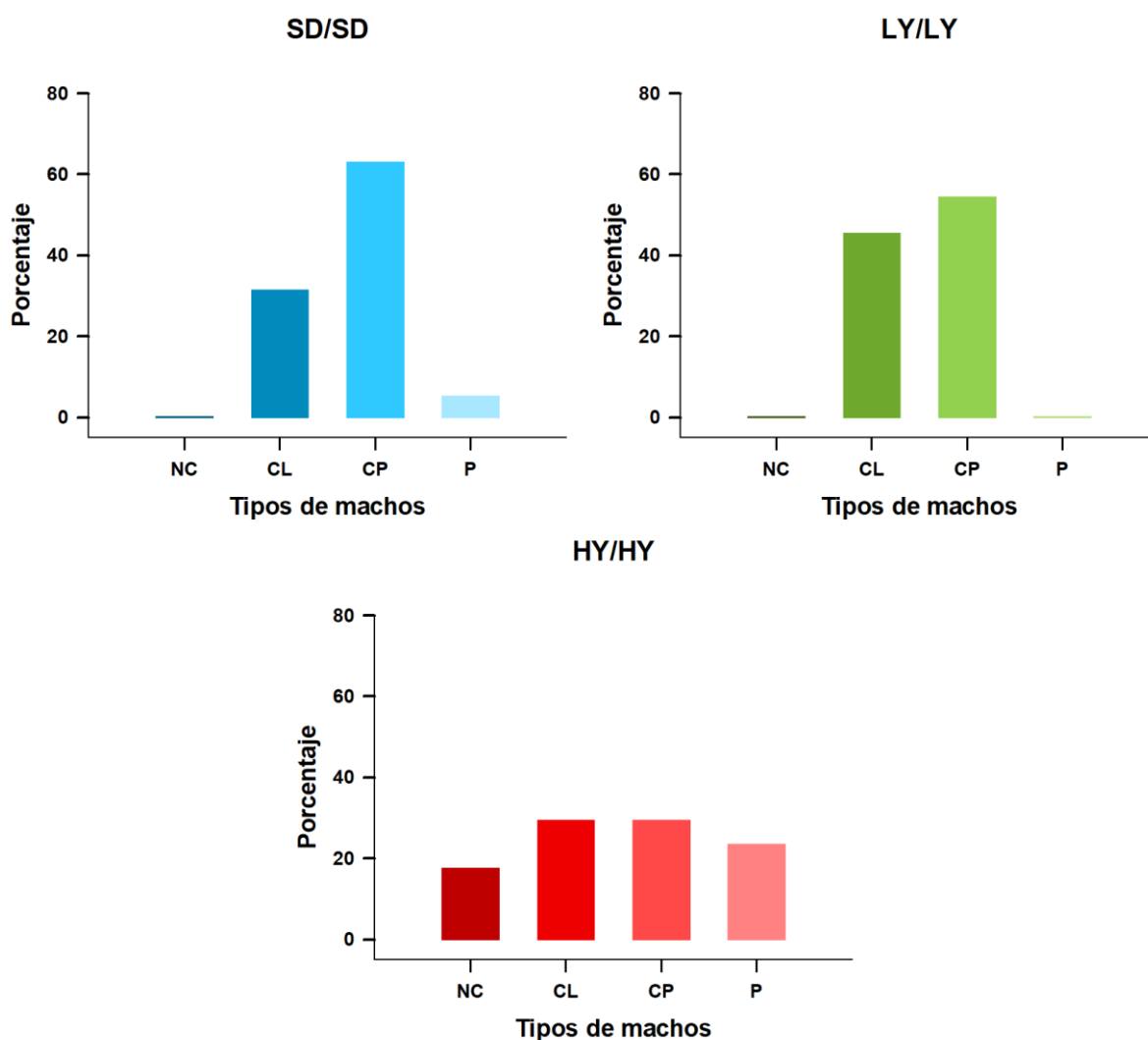


Figura 30. Los diferentes tipos de copuladores en ratas macho SD, LY y HY. Note que la proporción de machos no copuladores (NC), copuladores lentos (CL), copuladores promedio (CP) y precoces (P) difirió significativamente en los tres grupos de ratas. $F = 13.045$, $p < 0.015$, prueba de Fisher, $n = 58$.

8.7.3 EFECTO DEL CUIDADO MATERNO SOBRE LA PROPORCIÓN DE NO COPULADORES, COPULADORES LENTOS, COPULADORES PROMEDIO Y PRECOCES

En los machos SD y HY no se obtuvo un efecto de la madre que los cuidó en los diferentes tipos de patrones copuladores. En las ratas macho LY se obtuvo un resultado significativo ($F = 31.86$, $p < 0.001$, prueba de Fisher; véase Figura 31), las madres SD (-0.545 ± 0.158 , $p < 0.01$; véase Tabla 15), y las madres LY adoptivas (-0.462 ± 0.153 , $p < 0.01$) disminuyen significativamente la incidencia de copuladores promedio en los machos LY, así mismo las

madres SD (0.545 ± 0.115 , $p < 0.01$; véase Tabla 16) y las madres LY adoptivas (0.417 ± 0.153 , $p < 0.01$) incrementaron la proporción de machos no copuladores en la sublínea LY.

Tabla 15. Efecto del cuidado materno sobre la incidencia de ratas macho copuladores promedio de la sublínea LY

	Variable dependiente
	Copuladores promedio
Madre LY adoptiva	-0.462*** (0.112)
Madre SD	-0.545*** (0.158)
Madre HY	-0.016 (0.138)
Constante	0.545*** (0.091)
Observaciones	248

Se muestra los coeficientes de regresión y entre paréntesis se muestra el error estándar del coeficiente. Se tomó como referencia a los machos LY criados por sus madres biológicas. * $p < 0.1$; ** $p < 0.05$; *** $p < 0.01$.

Tabla 16. Efecto del cuidado materno sobre la incidencia de ratas macho no copuladoras de la sublínea LY

	Variable dependiente
	No copuladores
Madre LY adoptiva	0.417*** (0.153)
Madre SD	0.545*** (0.115)
Madre HY	-0.000 (0.101)
Constante	0.000 (0.067)
Observaciones	248

Se muestra el coeficiente de regresión y entre paréntesis se muestra el error estándar del coeficiente. Se tomó como referencia a los machos LY criados por sus madres biológicas. * $p < 0.1$; ** $p < 0.05$; *** $p < 0.01$

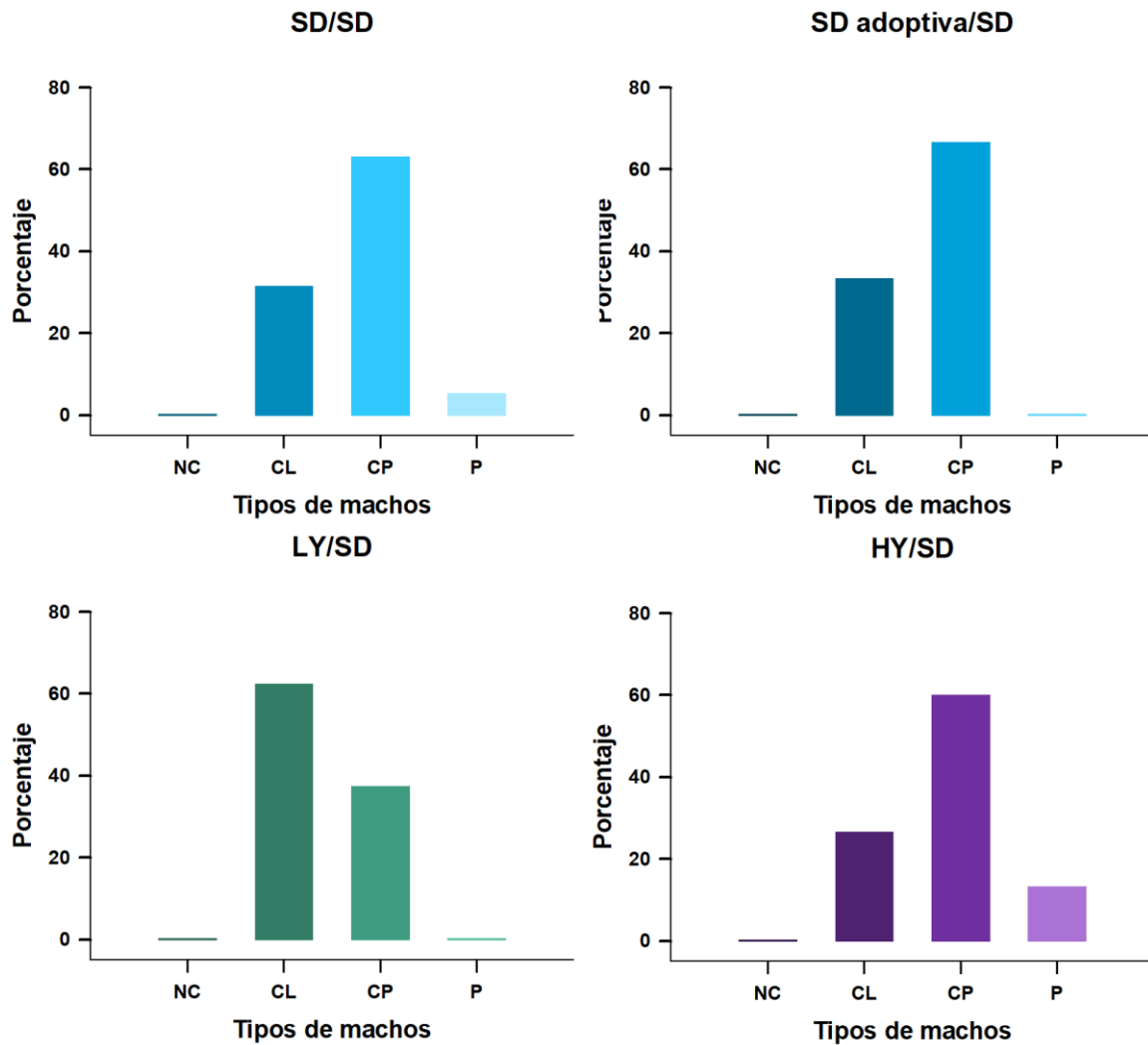


Figura 31. Efecto del cuidado materno sobre la proporción del tipo de patrones copulatorio en ratas macho SD. El tipo de madre que crío a los machos SD no tuvo un efecto significativo sobre la proporción de no copuladores (NC), copuladores lentos (CL), copuladores promedio (CP) y precoces (P), $n = 48$, se muestra la relación madre/hijo.

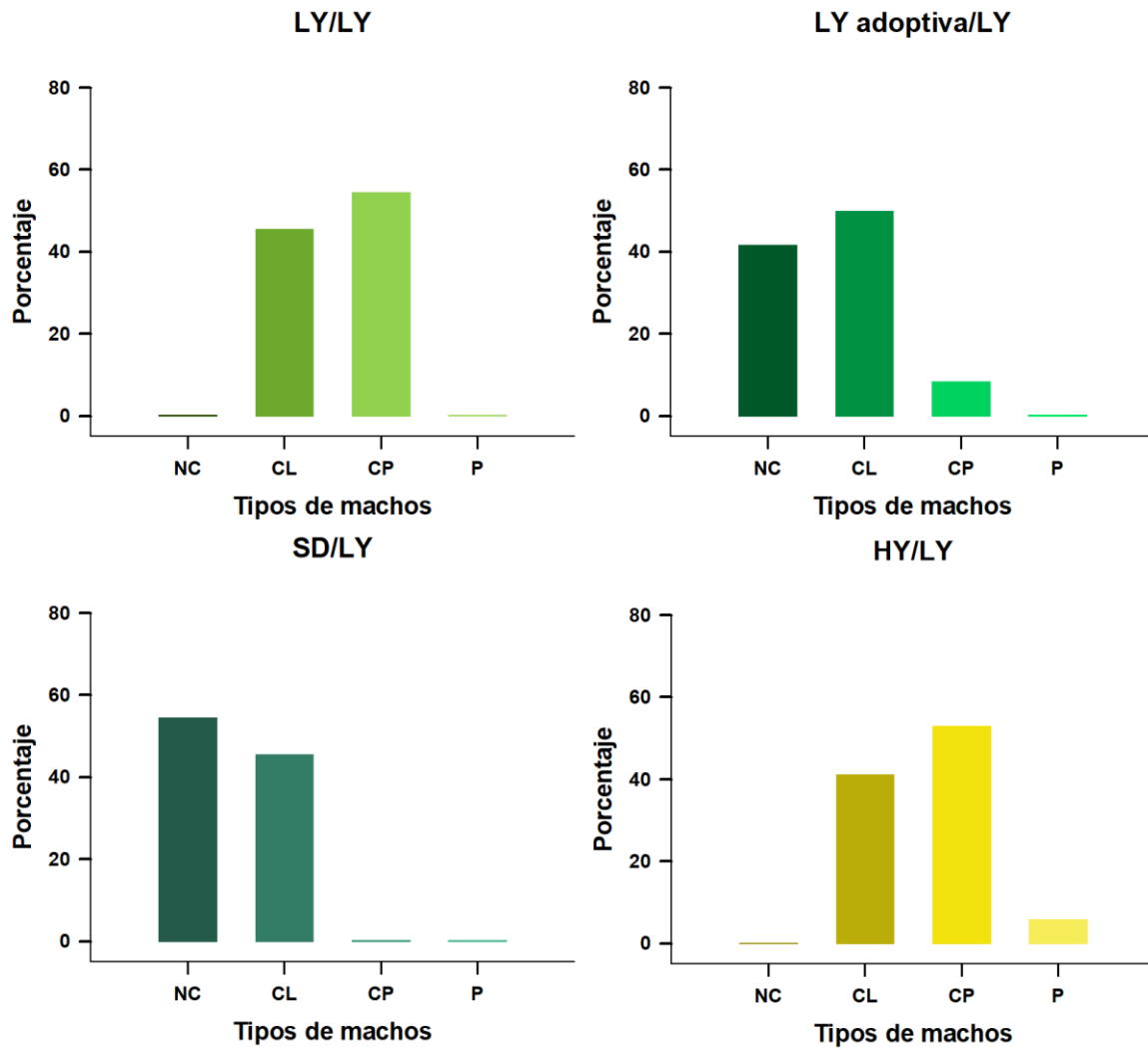


Figura 32. Efecto del cuidado materno en los diferentes patrones de copulación. La frecuencia de cada tipo de patrón copulatorio en los machos LY, los cuales fueron criados por diferentes madres fue diferente ($F = 31.860$ $p < 0.001$, prueba de Fisher). La madre tuvo un efecto significativo. Note que las madres HY favorecen a los precoces, $n = 62$, se muestra la relación madre/hijo.

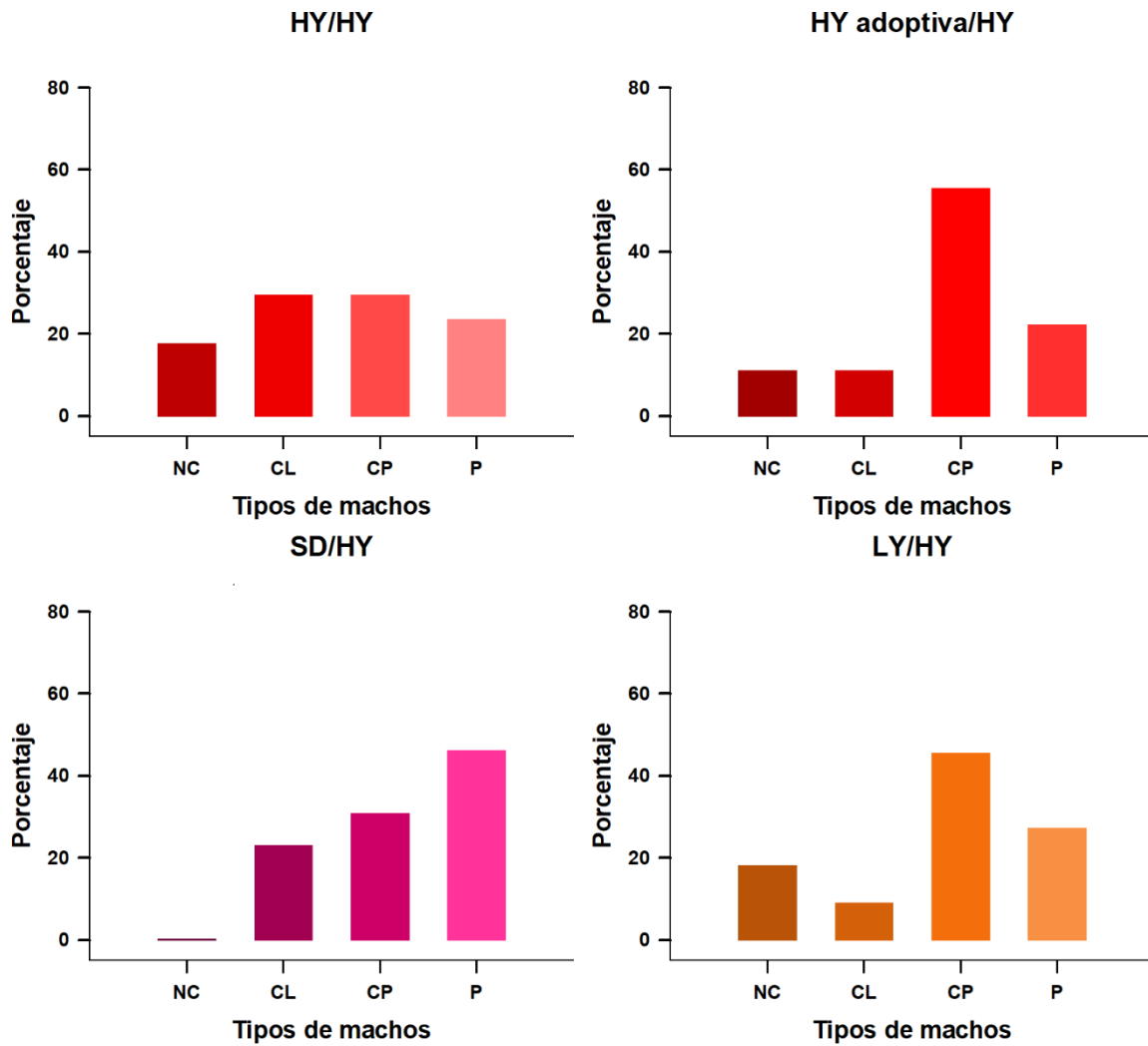


Figura 33. Efecto del cuidado materno sobre la proporción del tipo de patrones copulatorio en ratas macho HY. El tipo de madre que crío a los machos SD no tuvo un efecto significativo sobre la proporción de no copuladores (NC), copuladores lentos (CL), copuladores promedio (CP) y precoces (P), $n = 50$, se muestra la relación madre/hijo.

8.7.4 EXPRESIÓN DE LA ENZIMA AROMATASA DEL HIPOTÁLAMO DE NO COPULADORAS, COPULADORAS LENTAS, COPULADORAS PROMEDIO Y PRECOCES EN RATAS SD, LY Y HY SIN INTERCAMBIO DE CAMADAS.

La expresión de la enzima aromatasa fue significativamente diferente en los machos copuladores lentos y copuladores promedio en las SD (*t* de *Student*, *** $P \leq 0.01$; véase Figura 34). La expresión de esta enzima no fue diferente entre los copuladores lentos y promedio en el caso de las LY (véase Figura 35). La expresión de esta enzima tampoco fue significativamente diferente entre las ratas macho no copuladoras, los copuladores lentos, los copuladores promedio y los copuladores precoces en las ratas macho HY (véase Figura 36).

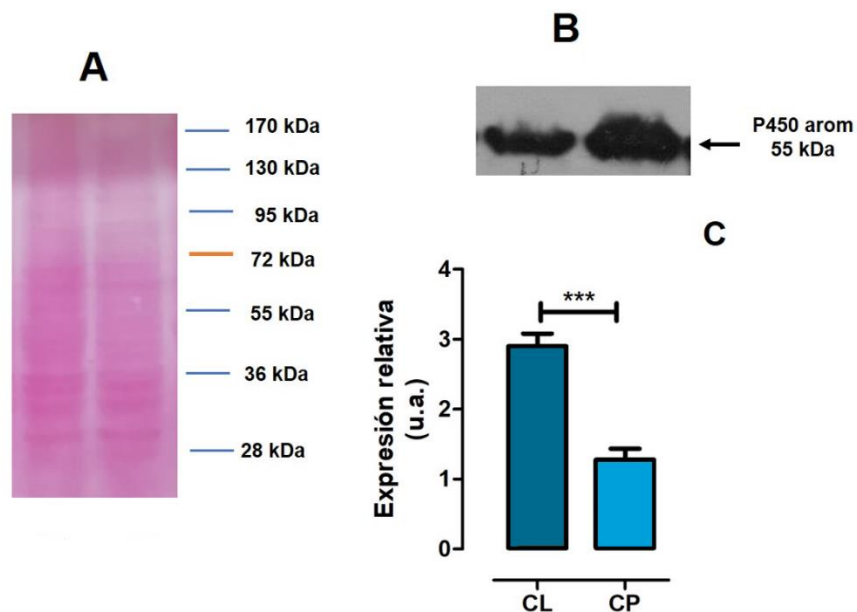


Figura 34. Expresión de la enzima P50 aromatasa en el hipotálamo de cepa SD. A) Membrana teñida con rojo de Ponceau para determinar los pesos moleculares de la proteína. B) Expresión de la enzima P450 aromatasa en el hipotálamo de ratas SD de las poblaciones de ratas macho copuladores lentos (CL) y copuladores promedio (CP) en todos los casos se empleó 100 µg de proteína. C) Expresión relativa normalizada con rojo de Ponceau de los valores de la enzima aromatasa P450. Los datos muestran la media ± EEM de 6 sujetos. *t* de *Student*, *** $P \leq 0.01$, $n = 6$.

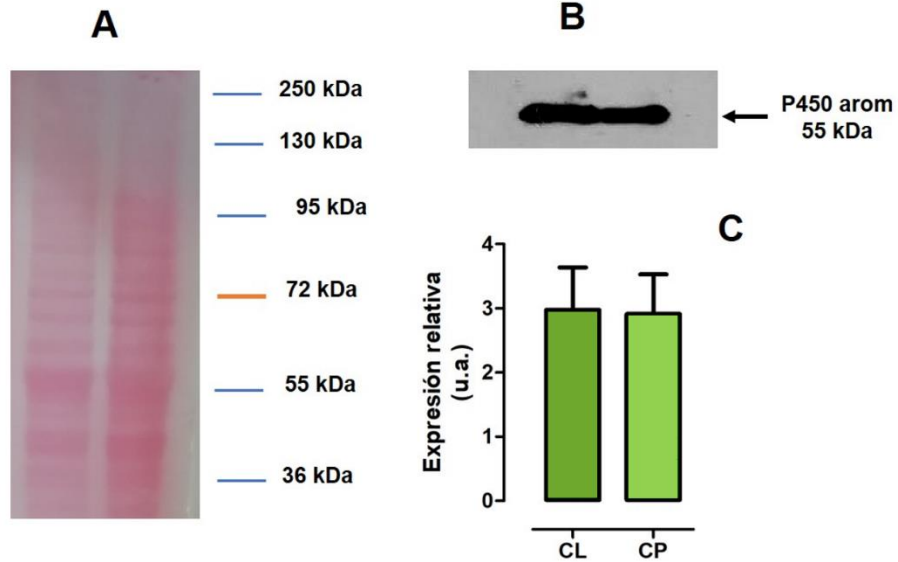


Figura 35. Expresión de la enzima P50 aromatasa en el hipotálamo de la sublínea LY. A) Membrana teñida con rojo de Ponceau para determinar los pesos moleculares de las proteínas. B) Expresión de la enzima P450 aromatasa en el hipotálamo de ratas LY de las poblaciones de ratas copuladores lentos (CL) y copuladores promedio (CP) en todos los casos se evaluaron 100 μ g de proteína. C) Expresión relativa normalizada respecto a los valores con rojo de Ponceau. Los datos muestran la media \pm EEM de 6 sujetos, n = 6.

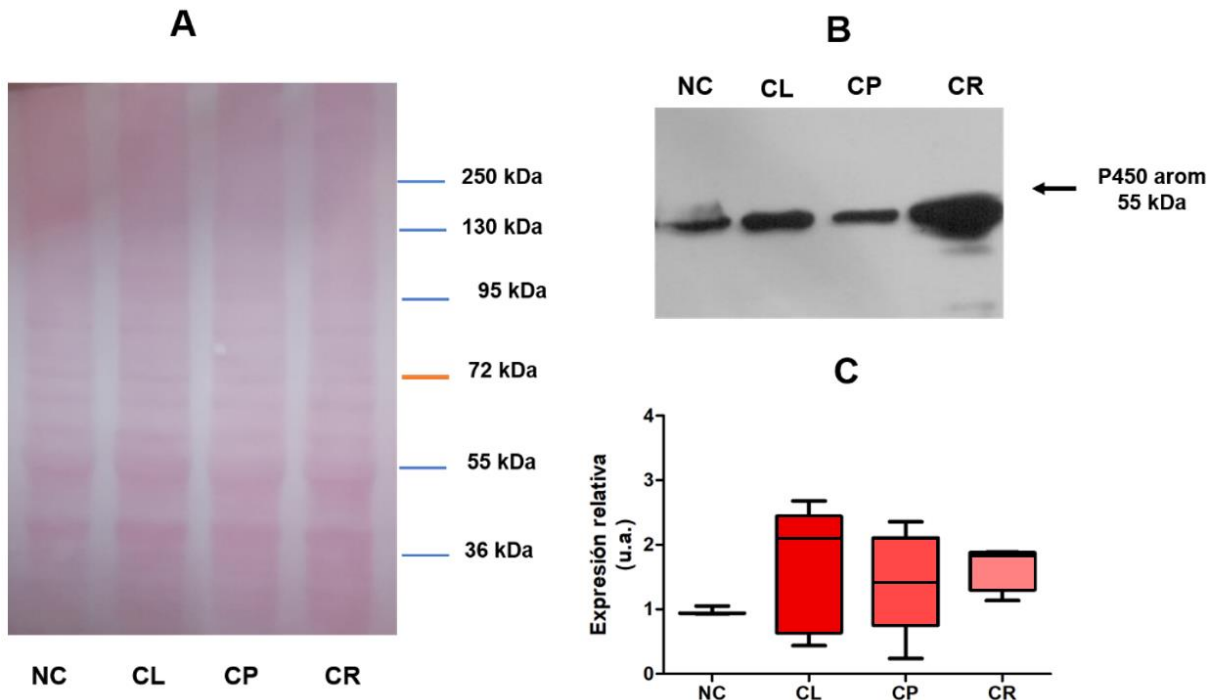


Fig. 36. Expresión de la enzima P50 aromatasa en el hipotálamo de ratas macho HY. A) Membrana teñida con rojo de Ponceau. B) Expresión de la enzima P450 aromatasa en el hipotálamo de ratas HY de las poblaciones de ratas no copuladores (NC), copuladores lentos (CL) copuladores promedio (CP) y copuladores rápidos (CR) en todos los casos se evaluaron 100 μ g de proteína. C) Expresión relativa normalizada con rojo de Ponceau. Los datos muestran la mediana más menos percentiles de 6 sujetos. Kruskal-Wallis, $*P \leq 0.05$; $**P \leq 0.01$, n = 6.

8.7.5 EFECTO DEL CUIDADO MATERNO SOBRE LOS COMPONENTES DE LA CONDUCTA SEXUAL MASCULINA

8.7.5.1 EFECTO DEL CUIDADO MATERNO SOBRE LA LATENCIA Y NÚMERO DE MONTAS

La latencia de monta disminuyó significativamente diferente en cada serie copulatoria (0.0004 ± 0.0001 , $p < 0.01$; véase Tabla 17). La latencia de monta fue significativamente mayor en los machos LY (-0.002 ± 0.01 , $p < 0.05$) y en los machos HY (-0.003 ± 0.001 , $p < 0.01$) respecto a los machos SD. Las variables independientes cepa o sublínea del macho y series copulatorias en conjunto contribuyeron significativamente al modelo lineal generalizado mixto respecto al modelo nulo ($\chi^2_{(2)} = 78.89$, $p < 0.0001$). No se obtuvo un efecto significativo de la madre, pero sí del proceso de adopción (-0.0001 ± 0.01 , $p < 0.01$). La latencia de monta de los machos LY adoptivos fue significativamente mayor respecto a los HY control (-0.002 ± 0.001 , $p < 0.01$). Las variables independientes cepa o sublínea del macho, series copulatorias y el proceso de adopción en conjunto contribuyeron significativamente al modelo lineal generalizado mixto respecto al modelo nulo ($\chi^2_{(1)} = 5.55$, $p < 0.01$); así como una interacción significativa entre la adopción y la cepa o sublínea de los machos ($\chi^2_{(2)} = 22.95$, $p < 0.0001$). Los resultados indican que los machos LY son más sensibles a la adopción que respecto de las ratas SD y HY.

El número de montas se incrementó significativamente con cada serie copulatoria (0.0002 ± 0.0001 , $p < 0.01$; véase Tabla 18). Se obtuvo también un efecto significativo del factor cepa o sublínea, ya que los machos de la sublínea LY (-0.001 ± 0.0002 , $p < 0.01$), y los machos HY (-0.001 ± 0.0002 , $p < 0.05$) presentaron un menor número de montas respecto de lo obtenido en los machos SD. El factor cepa o sublínea y el factor series copulatorias contribuyeron significativamente al modelo nulo ($\chi^2_{(2)} = 25.82$, $p < 0.0001$). Los machos adoptados por cualquier madre disminuyeron significativamente el número de montas,

respecto de los machos que fueron criados por sus madres biológicas (-0.633 ± 0.210 , $p < 0.01$). El factor cepa o sublínea, las sesiones de copulatorias, junto con la adopción contribuyeron significativamente al modelo lineal generalizado mixto respecto al modelo nulo ($\chi^2_{(1)} = 7.53$, $p < 0.001$). Las madres HY disminuyen significativamente el número de montas de sus hijos respecto de las madres SD (-0.640 ± 0.255 , $p < 0.01$). Los factores cepa o sublínea, el factor series copulatorias, el factor adopción, junto con el factor madre contribuyeron significativamente al modelo ($\chi^2_{(2)} = 6.24$, $p < 0.01$).

Tabla 17. Efecto del cuidado materno sobre la latencia de monta

	Variable dependiente	
	Latencia de monta	
	SD referencia	HY referencia
	1	2
Experiencia sexual (pruebas de cópula)	0.0004*** (0.0001)	0.0004*** (0.0001)
Machos HY	-0.003 *** (0.001)	
Machos LY	-0.002 ** (0.001)	
HY control vs SD		0.003 (0.001)
HY control vs LY		0.001 (0.0005)
Machos adoptivos	-0.0001 (0.001)	0.001* (0.0003)
Hijos adoptivos HY	0.001 (0.001)	
Hijos adoptivos LY	-0.001 (0.001)	
HY controles vs SD adoptivos		-0.001 (0.001)
HY controles vs LY adoptivos		-0.002*** (0.001)
Constante	0.004*** (0.001)	0.0004 (0.0003)
Observaciones	640	640

Nota: Las SD control son el grupo de referencia (constante). Se muestra los coeficientes del modelo lineal generalizado \pm EE de los coeficientes. * $p < 0.1$; ** $p < 0.05$; *** $p < 0.01$.

Tabla 18. Efecto del cuidado materno sobre el número de montas

	Variable dependiente	
	Número de montas	
	SD referencia	HY referencia
	1	2
Experiencia sexual (pruebas de cópula)	0.0002*** (0.0001)	0.244*** (0.007)
Machos HY	-0.001** (0.0002)	
Machos LY	-0.001*** (0.0002)	
HY control vs SD		1.268*** (0.262)
HY control vs LY		-0.052 (0.255)
Machos adoptivos	-0.0002* (0.0001)	-0.633*** (0.210)
Madre HY	0.0001 (0.0001)	
Madre LY	0.0001 (0.0002)	
Madre HY vs madre SD		-0.640*** (0.255)
Madre HY vs madre LY		-0.293 (0.255)
Constante	0.001*** (0.0003)	2.423*** (0.257)
Observaciones	640	640

Nota: Las SD control son el grupo de referencia (constante). Se muestra los coeficientes del modelo lineal generalizado \pm EE de los coeficientes. * $p < 0.1$; ** $p < 0.05$; *** $p < 0.01$.

8.7.5.2 EFECTO DEL CUIDADO MATERNO SOBRE LA LATENCIA Y NÚMERO DE INTROMISIONES

La latencia de intromisión disminuye significativamente con cada sesión de copulatoria (0.0002 ± 0.00004 , $p < 0.01$; véase Tabla 19). La latencia de intromisión de los machos HY es significativamente mayor respecto de los machos SD (-0.001 ± 0.0003 , $p < 0.01$) y significativamente menor respecto de las LY (0.001 ± 0.0002 , $p < 0.01$). El factor cepa o sublínea y las series copulatorias contribuyeron significativamente al modelo nulo ($\chi^2_{(2)} = 23.62$, $p < 0.0001$). Se obtuvo un efecto significativo en el proceso de adopción, siendo los machos HY adoptivos los que disminuyen su latencia de intromisión significativamente respecto a los SD control (0.001 ± 0.001 , $p < 0.01$). Los machos SD adoptivos (-0.001 ± 0.0003 , $p < 0.01$) y los LY adoptivos (-0.001 ± 0.0003 , $p < 0.01$), los cuales mostraron una latencia de intromisión significativamente mayor respecto a los machos HY control. El factor cepa o sublínea, el número de series copulatorias, y la adopción contribuyeron significativamente al modelo nulo ($\chi^2_{(1)} = 4.12$, $p < 0.01$). No se obtuvo un efecto significativo de la madre que cuidó a los machos.

En cada serie copulatoria se incrementó significativamente el número de intromisiones (0.220 ± 0.013 , $p < 0.01$; véase Tabla 20). Las ratas macho LY (-1.325 ± 0.306 , $p < 0.01$) presentaron significativamente menor número de intromisiones respecto de los obtenido en los SD. Las series copulatorias y la cepa o sublínea contribuyeron significativamente al modelo respecto al modelo nulo ($\chi^2_{(2)} = 18.32$, $p < 0.0001$). No se obtuvo un efecto significativo del factor adopción y del cuidado materno sobre el número de intromisiones.

Tabla 19. Efecto del cuidado materno sobre la latencia de intromisión

	Variable dependiente	
	Latencia de intromisión	
	SD referencia	HY referencia
	1	2
Experiencia sexual (pruebas de cópula)	0.0002*** (0.00004)	0.0002*** (0.00004)
Machos HY	-0.001 *** (0.0003)	
Machos LY	-0.0005 (0.0003)	
HY control vs SD		0.001*** (0.0003)
HY control vs LY		0.001*** (0.0002)
Machos adoptivos	-0.0004 (0.0003)	0.001* 0.0003
Hijos adoptivos HY	0.001*** (0.001)	
Hijos adoptivos LY	-0.0003 (0.0003)	
HY controles vs SD adoptivos		-0.001*** (0.0003)
HY controles vs LY adoptivos		-0.001*** (0.0003)
Constante	0.002*** (0.0003)	0.0004*** (0.0001)
Observaciones	640	640

Nota: Las SD control son el grupo de referencia (constante). Se muestra los coeficientes del modelo lineal generalizado \pm EE de los coeficientes. * $p < 0.1$; ** $p < 0.05$; *** $p < 0.01$.

Tabla 20. Efecto del cuidado materno sobre el número de intromisiones

	Variable dependiente
	Número de intromisiones
Experiencia sexual (pruebas de cópula)	0.220*** (0.013)
Machos HY	-0.545* (0.317)
Machos LY	-1.325*** (0.306)
Constante	1.330*** (0.228)
Observaciones	640

Nota: Las SD control son el grupo de referencia (constante). Se muestra los coeficientes del modelo lineal generalizado \pm EE de los coeficientes. * $p < 0.1$; ** $p < 0.05$; *** $p < 0.01$.

8.7.5.3 EFECTO DEL CUIDADO MATERNO SOBRE LA LATENCIA Y NÚMERO DE EYACULACIONES

Con cada serie copulatoria la latencia de eyaculación disminuyó significativamente (-0.125 ± 0.026 , $p < 0.01$; véase Tabla 21). La latencia de eyaculación de los machos LY es significativamente de la obtenida en los machos SD (356 ± 122 , $p < 0.01$). Las series copulatorias y el tipo de macho contribuyeron significativamente al modelo lineal generalizado mixto respecto al modelo nulo ($\chi^2_{(2)} = 19.61$, $p < 0.0001$). No se obtuvo un efecto significativo por la adopción o por el tipo de madre que crío a los machos sobre las latencias de eyaculación.

El número de eyaculaciones se incrementaron significativamente con cada serie copulatoria (0.215 ± 0.037 , $p < 0.01$; véase Tabla 22). Los machos LY (-1.037 ± 0.206 , $p < 0.01$) presentaron significativamente menos eyaculaciones respecto de lo obtenido en los machos SD. Las series copulatorias y el tipo de rata contribuyeron significativamente al modelo respecto al modelo nulo ($\chi^2_{(2)} = 30.75$, $p < 0.0001$). No se obtuvo un efecto significativo por la adopción o por el tipo de madre sobre el número de eyaculaciones que alcanzaron los machos.

Tabla 21. Efecto del cuidado materno sobre la latencia de eyaculación

	Variable dependiente
	Latencia de eyaculación
Experiencia sexual (pruebas de cópula)	-0.125*** (0.026)
Machos HY	-0.199 (0.129)
Machos LY	0.356*** (0.122)
Machos adoptivos	-0.048 (0.104)
Constante	7.195*** (0.126)
Observaciones	640

Nota: Las SD control son el grupo de referencia (constante). Se muestra los coeficientes del modelo lineal generalizado \pm EE de los coeficientes. * $p < 0.1$; ** $p < 0.05$; *** $p < 0.01$.

Tabla 22. Efecto del cuidado materno sobre el número de eyaculaciones

	Variable dependiente
	Número de Eyaculaciones
Experiencia sexual (pruebas de cópula)	0.215*** (0.037)
Machos HY	-0.052 (0.198)
Machos LY	-1.037*** (0.206)
Constante	-0.587*** (0.176)
Observaciones	640

Nota: Las SD control son el grupo de referencia (constante). Se muestra los coeficientes del modelo lineal generalizado \pm EE de los coeficientes. * $p < 0.1$; ** $p < 0.05$; *** $p < 0.01$.

8.7.5.4 EFECTO DEL CUIDADO MATERNO SOBRE EL INTERVALO INTERINTROMISORIO

El intervalo interintromisorio disminuyó significativamente con las series copulatorias (-0.108 ± 0.001 , $p < 0.01$; véase Tabla 23). Las ratas macho LY (0.439 ± 0.001 , $p < 0.01$) tuvieron intervalos interintromisorios significativamente mayores respecto de los machos SD. Las ratas macho HY (-0.997 ± 0.001 , $p < 0.01$) presentaron un intervalo interintromisorio significativamente menor respecto a los machos SD. Las series copulatorias y el tipo de rata contribuyeron significativamente al modelo respecto al modelo nulo ($\chi^2_{(2)} = 31.03$, $p < 0.0001$). No se obtuvo un efecto significativo del proceso de adopción o del tipo de madre que cuidó a los machos sobre el intervalo interintromisorio.

Tabla 23. Efecto del cuidado materno sobre el intervalo interintromisorio

	Variable dependiente
	Intervalo interintromisorio
Experiencia sexual (pruebas de cópula)	-0.108*** (0.001)
Machos HY	-0.997*** (0.001)
Machos LY	0.439*** (0.001)
Constante	5.123*** (0.001)
Observaciones	268

Nota: Las SD control son el grupo de referencia (constante). Se muestra los coeficientes del modelo lineal generalizado \pm EE de los coeficientes. * $p < 0.1$; ** $p < 0.05$; *** $p < 0.01$.

8.7.5.5 EFECTO DEL CUIDADO MATERNO SOBRE EL INTERVALO POSTEYACULATORIO

El intervalo posteyaculatorio no cambió significativamente con las series copulatorias (véase Tabla 24). El tipo de macho tuvo un efecto significativo. El intervalo posteyaculatorio de las ratas HY es significativamente menor respecto de los machos SD (-0.0003 ± 0.0001 , $p < 0.05$). Las series copulatorias y el tipo de macho contribuyeron significativamente al modelo respecto al modelo nulo ($\chi^2_{(2)} = 6.01$, $p < 0.05$). No se obtuvo un efecto significativo del proceso de adopción o por el tipo de madre que crio a los machos sobre el intervalo posteyaculatorio.

Tabla 24. Efecto del cuidado materno sobre el intervalo posteyaculatorio

	Variable dependiente
	Intervalo posteyaculatorio
Experiencia sexual (pruebas de cópula)	0.00002 (0.00003)
Machos HY	-0.0003** (0.0001)
Machos LY	-0.0003** (0.0001)
Constante	0.003*** (0.0001)
Observaciones	268

Nota: Las SD control son el grupo de referencia (constante). Se muestra los coeficientes del modelo lineal generalizado \pm EE estándar de los coeficientes. * $p < 0.1$; ** $p < 0.05$; *** $p < 0.01$.

8.8 DISCUSIÓN DEL EXPERIMENTO 4

La experiencia sexual mejoró significativamente la conducta sexual en las ratas macho SD, LY y HY, en base a que las latencias de monta, intromisión y eyaculación disminuyó significativamente en cada encuentro sexual y se incrementaron el número de montas, intromisiones y eyaculaciones, como ya ha sido reportado en ratas Wistar y Sprague-Dawley (Hull et al., 2002; Hull y Rodríguez-Manzo, 2009). Sin embargo, se obtuvieron diferencias significativas en varios componentes de la conducta sexual de manera similar a lo reportado previamente por el Laboratorio de Neurofisiología y Control Motor del Instituto de Fisiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (Eguibar et al, 2016). El despliegue sexual de los machos SD, LY y HY difirieron, en cuanto a la latencia de monta, el número de montas, y latencia de eyaculación lo que impactó las proporciones de machos no copuladores, copuladores lentos, copuladores promedio y precoces. El intercambio de camadas entre las madres de la misma cepa o sublínea o entre las madres de los tres grupos de ratas evaluadas modificó varios de los componentes de la conducta sexual masculina, ya sea debido al tipo de madre que crío a los machos, las madres HY disminuyen el número de montas de sus hijos, o porque fueron criados por madres adoptivas, los machos HY que fueron hijos adoptivos disminuyeron su latencia de intromisión y los machos SD y LY que fueron adoptivos aumentaron su latencia de intromisión. Además, los machos LY fueron más afectados al proceso de adopción respecto de los obtenido en los machos SD y HY.

En una población muy grande de ratas de la cepa Wistar (546 individuos evaluados) en base a su conducta sexual en cuatro sesiones de cópula *ad libitum* por 30 minutos y determinado por el número de eyaculaciones en la 4ª sesión copulatoria se obtuvo que el

10% de la población son copuladores lentos o precoces (Olivier et al., 2006). En varias sublíneas de ratas se ha mostrado que los procesos de selección artificial por endogamia modifica el patrón copulatorio, es decir las latencias y frecuencias de las montas, intromisiones, o de las eyaculaciones, además de su eficiencia copulatoria y la saciedad sexual difiere entre los grupos (Sanna et al., 2014; Eguibar et al., 2016, Melis et al., 2018), Esto implica que el cambio en la proporción de machos que son clasificados como no copuladores, copuladores lentos, copuladores, promedio o bien copuladores precoces. Nuestros resultados muestran que la proporción de cada tipo de macho en las ratas SD, LY y HY son significativamente diferentes, ya que existen pocos estudios en grandes poblaciones de roedores (Waldinger y Olivier, 2005; Olivier et al., 2006) de las cepas más empleadas como las Wistar y las Sprague- Dawley. En la cepa SD fue no se obtuvieron no copuladores en una muestra de 19 ratas, y un 5% fueron precoces; pero en las ratas HY, en la cual en una muestra de tan sólo 17 individuos se obtuvo un 18% de no copuladores y un 24% de precoces; por último, en las ratas LY (22 machos) no se obtuvieron machos no copuladores ni precoces, lo que implica que en las HY es más probable obtener no copuladores y precoces. El cuidado materno no modificó la proporción de los diferentes tipos de machos en las SD y HY, sin embargo, en las LY fueron afectadas por la crianza llevada a cabo por sus madres adoptivas LY y SD, ya que estas aumentaron significativamente la proporción de machos no copuladores, lo que las hace más sensibles al ambiente materno respecto a las SD y HY. No se pudo determinar que elemento del cuidado materno produjo este resultado, ya que el cuidado materno de las ratas SD, LY y HY no se modificó en función de la camada bajo su cuidado en la muestra evaluada, por lo que sería interesante evaluar la conducta materna en varias muestras a lo largo de las 24 horas del día (Champagne et al., 2001), ya que podrían obtener diferencias dependiendo de

la hora o fase del día, como es el caso de la conducta materna de las ratas de la sublínea de alta respuesta locomotora ante la novedad que exhiben menos postura alta de lactancia, menos aseos y menos contactos con sus crías en la fase oscura/activa que las madres de la sublínea de baja respuesta locomotora (Clinton et al., 2010). Sin embargo, en la fase luminosa las ratas de alta respuesta locomotora presentan significativamente más postura pasiva de lactancia y contacto con sus crías que las ratas de baja respuesta locomotora (Clinton et al., 2010). Estos resultados son claves de que existe un ritmo circadiano en el cuidado materno.

Por otra parte, la expresión de la enzima aromatasa P450 en el hipotálamo es significativamente mayor en los copuladores lentos de los machos SD respecto de los copuladores promedio SD, resultado similar a lo reportado en un trabajo previo con ratas Wistar (Antaramian et al., 2015), en el cual los copuladores lentos tuvieron una mayor expresión del ARNm de la enzima aromatasa P450 en el área preóptica medial, y en la amígdala. Además de una expresión mayor del ARNm del receptor para los andrógenos en el área preóptica medial y una menor expresión en el bulbo olfatorio, además de una expresión mayor del receptor de estrógenos alfa en el bulbo olfatorio (Antaramian et al., 2015). Estos resultados indican que los copuladores lentos de las cepas exogámicas muestran una expresión génica diferente en las regiones del cerebro que participan en el control de la conducta sexual y sus aspectos motivacionales (Antaramian et al., 2015). En el caso de las cepas endogámicas esas diferencias en el patrón copulatorio pueden deberse a otras diferencias de las áreas del cerebro que regulan la conducta sexual, como el tracto dopaminérgico mesocortico-límbico, tracto dopaminérgico nigro-estriatal, el núcleo paraventricular del hipotálamo, el hipotálamo ventromedial o lateral, todos ellos son sitios

integradores de la conducta sexual masculina junto con el área preóptica medial (Hull y Rodríguez-Manzo 2009). O bien estas diferencias pueden deberse a la diferenciación sexual central o bien a los aspectos activacionales mediados por andrógenos (McCarthy, 2012). No se encontraron diferencias significativas en la expresión de la enzima aromatasa entre los machos no copuladores, y precoces respecto a los copuladores promedios. En el caso de los machos no copuladores sería pertinente medir la expresión del receptor de estrógenos alfa y del receptor de andrógenos en el área preóptica medial, y en las porciones de la amígdala dorsal, posterior y anterior, ya que se han encontrado diferencias en su expresión respecto a los copuladores promedio (Portillo y Paredes, 2004; Portillo et al., 2006a). En cuanto a las ratas macho precoces no se han encontrado cuales aspectos neurobiológicos determinan esa conducta, la mayoría de los machos precoces estudiados son aquellos a lo que se les induce este patrón por manipulación farmacológica, por ejemplo, con agonistas dopaminérgicos o colinérgicos, o lo tratados con oxitocina (Bitran y Hull, 1987; Arletti et al., 1985; Waldinger y Olivier, 2005), o se usan como modelos animales para tratar la eyaculación precoz, por ejemplo con agonistas serotoninérgicos del receptor 5-HT_{1A}, aunque el mecanismo de acción de esos fármacos aun no es claro (Waldinger y Olivier, 2005), por lo que se ha estudiado poco a los precoces “naturales”. Es importante estudiar los aspectos neurobiológicos y ambientales y la tasa fertilidad en cada tipo de macho, en grupos de animales seleccionados genéticamente como lo son las ratas LY y HY, en particular porque hemos mostrado que existe una mayor proporción de no copuladores y que no difieren en los niveles de andrógenos (Portillo et al., 2010).

Lo más relevante de este estudio fue el de analizar los aspectos epigenéticos que impactan en desempeño sexual en la edad adulta, siendo el cuidado materno, las condiciones del

nido, y la convivencia con los hermanos un aspecto muy relevante como se ha mostrado en las respuestas de ansiedad, el despliegue agresivo, la conducta de juego e incluso el maternal de las hijas e inclusive nietas (Champagne, 2008; Shepard et al., 2009; Champagne y Rissman; 2011).

9 DISCUSIÓN GENERAL

El objetivo de este estudio fue determinar el posible rol que desempeña el cuidado materno sobre las conductas innatas como son el bostezo y el desempeño sexual masculino. Nuestros resultados muestran que el carácter de alto bostezo de la sublínea HY es resiliente al cuidado materno, ya que no se vio afectado por los distintos tipos de cuidado materno que proveen los distintos tipos de madres. Para este objetivo se ha empleado el entrecruzamiento de camadas como una estrategia que permite diferenciar entre las características fenotípicas, como lo es el bostezo, respecto de los efectos epigenéticos determinados por el cuidado materno y las condiciones de vida en el nido incluyendo hermanos.

Es relevante en este contexto que las madres HY indujeron un incremento en el número de erecciones del pene espontáneas. Esto implica que los reflejos involucrados en la dorsiflexión (flips) o despliegue de copas (cups) que se deben a la acción de los músculos isquiocavernoso y bulboesponjoso (Sachs y Liu, 1992). De hecho, se sabe que el lamido anogenital que proveen las madres determina el número de erecciones del pene y de aseos anogenitales (Moore, 1992 a y b).

En el caso del aseo y el rascado no se obtuvieron diferencias entre los distintos pares madre/hijo, lo que implica que no se tiene una influencia relevante por parte de la base

genética seleccionada a través de 90 generaciones, esto es por más de 35 años lo que enfatiza el carácter conductual seleccionado como lo es el bostezo.

Es relevante que son las madres LY las que indujeron un incremento de los niveles de receptores dopaminérgicos D₂ (Dorantes-Nieto et al., sometido a consideración editorial), pero esto no impactó el efecto inductor del agonista específico D₂ como lo es el (-)-quinpirole. Collins y su grupo han mostrado mediante el empleo de varios agonistas y antagonistas que la fase ascendente de la curva dosis-respuesta de la frecuencia de bostezo corresponde a un efecto principalmente D₃ y la descendente se debe preferentemente a D₂ (Collins et al., 2005). Esto implica que en el futuro debemos analizar los niveles de receptores D₃. Resultados preliminares muestran que las ratas HY tienen un mayor contenido de dopamina y su metabolito DOPAC (datos no publicados), pero que se deben al cuidado materno recibido.

En el caso de la conducta sexual masculina nuestros resultados muestran que el porcentaje de los grupos del tipo de copuladores varían dependiendo del cuidado materno, particularmente en las ratas macho LY lo que es relevante porque este fenotipo muestra un patrón de ansiedad (Moyaho et al., 1995), en el laberinto de cruz elevado o en la caja luz-oscuridad (Días, 2019; Eguibar et al., sometido a consideración editorial). En base a estos resultados las ratas LY son consideradas ansiosas y las HY resilientes. El desempeño de la conducta sexual es un estresor y produce la liberación de corticosterona (Retana-Márquez et al., 1998), lo que implica que las ratas LY liberarían más corticosterona durante el desempeño sexual respecto de las ratas HY o de las SD. La activación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal es un componente adaptativo e importante, pero si la respuesta es mayor a lo requerido puede ser un factor inhibitorio (Retana-Márquez et al., 1998).

Los animales no copuladores se asemejan a los humanos asexuales y representan entre el 1 y 3% de la población (Portillo y Paredes, 2019). Se han reportado animales no copuladores en borregos, gerbos, hámsteres, cuyos, ratas y ratones (Harding y Feder, 1976; Paredes et al., 1990; Alexander et al., 1999; Clark y Galef, 2000; Mirto et al., 2017; Ventura-Aquino y Paredes, 2017; Portillo y Paredes, 2019).

La evidencia muestra que la diferencia se localiza en el área preóptica medial del hipotálamo con cambios en la expresión de la enzima aromatasa y en los niveles de receptores para andrógenos y para estrógenos alfa. Nosotros por primera vez hemos mostrado que se puede cambiar la proporción de ratas no copuladoras en base al cuidado materno y la convivencia en el nido durante la lactancia. Adicionalmente los machos muestran cambios en los aspectos motivacionales (latencias) y en los consumatorios (frecuencias) de los componentes de la conducta sexual masculina. Esto es relevante ya que se ha mostrado que la distancia anogenital es un buen indicador del tipo de patrón copulatorio ya que a mayor distancia es mayor la probabilidad de ser un copulador promedio y a distancias cortas mayor la proporción de copulador lento o no copulador (Portillo y Paredes, 2019). Este aspecto alométrico no fue evaluado por nosotros, pero sin duda es una buena forma de analizar los aspectos organizacionales de los andrógenos y los efectos debidos al cuidado materno.

Por último, los copuladores lentos son aun más relevantes porque tienen un patrón copulatorio muy poco estudiado y representan en promedio el 10% de la población y nuestros resultados muestran que el 45% de los LY son copuladores lentos que es mayor que los copuladores lentos SD con un 31%. La expresión de la enzima aromatasa P450 se mostró que es mayor en los copuladores lentos SD respecto a los copuladores promedio

SD, similar a los resultados en la cepa Wistar (Antaramian et al., 2015), no así en los copuladores lentos LY respecto a los copuladores promedio LY, lo cual en el futuro se debe explorar.

En conclusión, nuestros resultados muestran que las proporciones de los tipos de eyaculación varían dependiendo del cuidado materno siendo mayor el efecto en los machos LY.

10 CONCLUSIONES

1. El desempeño maternal no varió entre las madres independientemente de la sublínea de las crías.
2. Las ratas HY fueron las que más bostezaron independientemente de quien le proveyó el cuidado materno.
3. Los machos LY tuvieron significativamente más erecciones del pene que las SD.
4. Las madres HY incrementaron el número de erecciones espontaneas del pene.
5. La proporción de los diferentes tipos de copuladores fue significativamente diferente en los tres grupos de ratas sin intercambio de camadas.
6. Los machos LY cambiaron su patrón copulatorio dependiendo del tipo de madre que los cuidó.
7. La expresión de la enzima aromatasa es mayor en los copuladores lentos SD.

11 BIBLIOGRAFÍA

Abney, T. (1999) The potential roles of estrogen in regulating Leydig cell development and function: a review. *Steroids*, **64**: 610-617.

Adkins, E. K. (1977). Effects of diverse androgens on the sexual behavior and morphology of castrated male quail. *Hormones and Behavior*, **8**: 201-207.

Adkins, E. K., Boop, J. J., Koutnik, D. L., Morris, J. B. y Pniewski, E. E. (1980). Further evidence that androgen aromatization is essential for the activation of copulation in male quail. *Physiology & Behavior*, **24**: 441-446.

Adler, N. T. (1969). Effects of the male's copulatory behavior on successful pregnancy of the female rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, **69**, 613-622.

Adler, N. y Bermant, G. (1966). Sexual behavior of male rats: effects of reduced sensory feedback. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, **61**: 240-243.

Adler, N. T. y Zoloth, S. R. (1970). Copulatory behavior can inhibit pregnancy in female rats. *Science*, **168**, 1480-1482.

Ågmo, A. (1997). Male rat sexual behavior. *Brain Research Protocols*, **1**: 203-209.

Alexander, B. M., Stellflug, J. N., Rose, J. D., Fitzgerald, J. A. y Moss, G. E. (1999). Behavior and endocrine changes in high-performing, low-performing, and male-oriented domestic rams following exposure to rams and ewes in estrus when copulation is precluded. *Journal of Animal Science*, **77**: 1869-1874.

Andersson, K. E. (2001). Pharmacology of penile erection. *Pharmacological Reviews*, **53**: 417-450.

Andersson, K. E. (2011). Mechanisms of penile erection and basis for pharmacological treatment of erectile dysfunction. *Pharmacological Reviews*, **63**: 811-859.

Anías, J., Holmgren B., Urbá-Holmgren, R. y Eguibar J. R. (1984). Circadian variation of yawning behavior. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, **44**: 179-86.

Antaramian, A., González-Gallardo, A., García-Ugalde, C., Portillo, W. y Paredes, R. G. (2015). Steroid receptors and aromatase gene expression in different brain areas of copulating and sexually sluggish male rats. *The Journal of Sexual Medicine*, **12**: 2267-2275.

Antonio-Cabrera, E. y Paredes, R. G. (2012). Effects of chronic estradiol or testosterone treatment upon sexual behavior in sexually sluggish male rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, **101**: 336-341.

Argiolas, A. y Melis, M. R. (2005). Central control of penile erection: role of the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *Progress in Neurobiology*, **76**: 1-21.

Arnold, A. P. y Gorski, R. A. (1984). Gonadal steroid induction of structural sex differences in the central nervous system. *Annual Review of Neuroscience*, **7**: 413-442.

Arteaga, L., Bautista, A., Martínez-Gómez, M., Nicolás, L. y Hudson, R. (2008). Scent marking, dominance and serum testosterone levels in male domestic rabbits. *Physiology & Behavior*, **94**: 510-515.

Bakker, J., Honda, S., Harada, N. y Balthazart, J. (2002). Sexual partner preference requires a functional aromatase (cyp19) gene in male mice. *Hormones and Behavior*, **42**: 158-171.

Bakker, J., Honda, S., Harada, N. y Balthazart, J. (2004). Restoration of male sexual behavior by adult exogenous estrogens in male aromatase knockout mice. *Hormones and Behavior*, **46**: 1-10.

Balthazart, J., Baillien, M., Cornil, C. A. y Ball, G. F. (2004). Preoptic aromatase modulates male sexual behavior: slow and fast mechanisms of action. *Physiology & Behavior*, **83**: 247-270.

Balthazart, J. y Ball, G. (2013). *Brain Aromatase, Estrogens, and Behavior*. Oxford University Press. Oxford, Reino unido.

Balthazart, J., Evrard, L. y Surlemont, C. (1990). Effects of the nonsteroidal inhibitor R76713 on testosterone-induced sexual behavior in the Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Hormones and Behavior*, **24**: 510-531.

Balthazart, J., Schumacher, M. y Malacarne, G. (1985). Interaction of androgens and estrogens in the control of sexual behavior in male Japanese quail. *Physiology & Behavior*, **35**: 157-166.

Baskerville, T. A. y Douglas, A. J. (2008). Interactions between dopamine and oxytocin in the control of sexual behaviour. *Progress in Brain Research*, **170**: 277-290.

Beach, F. A. (1976). Sexual attractivity, proceptivity, and receptivity in female mammals. *Hormones and Behavior*, **7**: 105-138.

Beach, F. A. y LeBoeuf, B. J. (1967). Coital behaviour in dogs. I. Preferential mating in the bitch. *Animal Behaviour*, **15**: 546-558.

Beckmann, H. y Zimmer, R. (1981). An ethological interpretation of stereotypy induced by environmental stimulus. *Archiv fur Psychiatrie und Nervenkrankheiten*, **230**: 81-89.

Barfield, R. J. y Geyer, L. A. (1975). The ultrasonic postejaculatory vocalization and the postejaculatory refractory period of the male rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, **88**: 723-734.

Barfield, R. J. y Sachs, B. D. (1968). Sexual behavior: stimulation by painful electrical shock to skin in male rats. *Science*, **161**: 392-395.

Bautista, A., Drummond, H., Martínez-Gómez, M. y Hudson, R. (2003). Thermal benefit of sibling presence in the newborn rabbit. *Developmental Psychobiology: The Journal of the International Society for Developmental Psychobiology*, **43**: 208-215.

Beaulieu, J. M. y Gainetdinov, R. R. (2011). The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. *Pharmacological Reviews*, **63**: 182-217.

Beery, A. K. y Kaufer, D. (2015). Stress, social behavior, and resilience: insights from rodents. *Neurobiology of Stress*, **1**: 116-127.

Benassi-Benelli, A., Ferrari, F. y Quarantotti, B. P. (1979). Penile erection induced by apomorphine and Nn-propyl-norapomorphine in rats. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie*, **242**: 241-247.

Bermant, G. y Taylor, L. (1969). Interactive effects of experience and olfactory bulb lesions in male rat copulation. *Physiology & Behavior*, **4**: 13–17.

Bertolucci, L. F. (2011). Pandiculation: Nature's way of maintaining the functional integrity of the myofascial system? *Journal of Bodywork and Movement Therapies*, **15**: 268-280.

Beyer, C., Contreras, J. L., Morali, G. y Larsson, K. (1981). Effects of castration and sex steroid treatment on the motor copulatory pattern of the rat. *Physiology & Behavior*, **27**: 727-730.

Beyer, C., Morali, G., Naftolin, F., Larsson, K. y Perez-Palacios, G. (1976). Effect of some antiestrogens and aromatase inhibitors on androgen induced sexual behavior in castrated male rats. *Hormones and Behavior*, **7**: 353–363.

Bitran, D. y Hull, E. M. (1987). Pharmacological analysis of male rat sexual behavior. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **11**: 365-389.

Björklund, A., Lindvall, O. y Nobin, A. (1975). Evidence of an incerto-hypothalamic dopamine neurone system in the rat. *Brain Research*, **89**: 29–42

Bolaños-Jiménez, R., Arizmendi-Vargas, J., Martínez-Zavala, N., Carrillo-Ruiz, J. D., Calderón Álvarez-Tostado J. L., Jiménez-Ponce, F. y Rivera-Silva, G. (2011). Quinpirole effects on the dopaminergic system. *British Journal of Pharmacology and Toxicology*, **2**: 310-317.

Booth, J. E. (1978). Effects of the aromatization inhibitor androst-4-ene-3, 6, 17-trione on sexual differentiation induced by testosterone in the neonatally castrated rat. *Journal of Endocrinology*, **79**: 69-76.

Bonsall, R. W., Clancy, A. N. y Michael, R. P. (1992). Effects of the nonsteroidal aromatase inhibitor, fadrozole, on sexual behavior in male rats. *Hormones and Behavior*, **26**: 240-254.

Bredy, T. W., Humpartzoomian, R. A., Cain, D. P. y Meaney, M. J. (2003). Partial reversal of the effect of maternal care on cognitive function through environmental enrichment. *Neuroscience*, **118**: 571-576.

Bridges, R. S. (2015). Neuroendocrine regulation of maternal behavior. *Frontiers in Neuroendocrinology*, **36**: 178-196.

Brunelli, S. A., Shair, H. N. y Hofer, M. A. (1994). Hypothermic vocalizations of rat pups (*Rattus norvegicus*) and direct maternal search behavior. *Journal of Comparative Psychology*, **108**: 298-303.

Caldji, C., Francis, D., Sharma, S., Plotsky, P. M. y Meaney, M. J. (2000). The effects of early rearing environment on the development of GABA_A and central benzodiazepine receptor levels and novelty-induced fearfulness in the rat. *Neuropsychopharmacology*, **22**: 219-229.

Callard, G. V., Petro, Z. y Ryan, K. J. (1978). Conversion of androgen to estrogen and other steroids in the vertebrate brain. *American Zoologist*, **18**: 511-523.

Carballada, R. y Esponda, P. (1992). Role of fluid from seminal vesicles and coagulating glands in sperm transport into the uterus and fertility in rats. *Reproduction*, **95**: 639-648.

Carroll, R. S., Erskine, M. S., Doherty, P. C., Lundell, L. A. y Baum, M. J. (1985). Coital stimuli controlling luteinizing hormone secretion and ovulation in the female ferret. *Biology of Reproduction*, **32**: 925-933.

Champagne, F. A. (2008). Epigenetic mechanisms and the transgenerational effects of maternal care. *Frontiers in Neuroendocrinology*, **29**: 386-397.

Champagne, F. A. y Curley, J. P. (2009). Epigenetic mechanisms mediating the long-term effects of maternal care on development. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **33**: 593-600.

Champagne, F., Diorio, J., Sharma, S. y Meaney, M. J. (2001). Naturally occurring variations in maternal behavior in the rat are associated with differences in estrogen-inducible central oxytocin receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **98**: 12736-12741.

Champagne, F. A. y Rissman, E. F. (2011). Behavioral epigenetics: a new frontier in the study of hormones and behavior. *Hormones and Behavior*, **59**: 277-278.

Chen, K. K., Chan, J. Y. y Chang, L. S. (1999). Dopaminergic neurotransmission at the paraventricular nucleus of hypothalamus in central regulation of penile erection in the rat. *The Journal of Urology*, **162**: 237-242.

Chevalier-Skolnikoff, S. (1975). Heterosexual copulatory patterns in stumptail macaques (*Macaca arctoides*) and in other macaque species. *Archives of Sexual Behavior*, **4**: 199-220.

Christensen, L. W. y Clemens, L. G. (1975). Blockade of testosterone-induced mounting behavior in the male rat with intracranial application of the aromatization inhibitor, androst-1, 4, 6-triene-3, 17-dione. *Endocrinology*, **97**: 1545-1551.

Clark, M. M. y Galef Jr, B. G. (2000). Why some male Mongolian gerbils may help at the nest: testosterone, asexuality and alloparenting. *Animal Behaviour*, **59**: 801-806.

Claro, F., Segovia, S., Guilamón, A. y Del Abril, A. (1995). Lesions in the medial posterior region of the BST impair sexual behavior in sexually experienced and inexperienced male rats. *Brain Research Bulletin*, **36**: 1-10.

Clinton, S. M., Bedrosian, T. A., Abraham, A. D., Watson, S. J. y Akil, H. (2010). Neural and environmental factors impacting maternal behavior differences in high-versus low-novelty-seeking rats. *Hormones and Behavior*, **57**: 463-473.

Collins, G. T. y Eguibar, J. R. (2010). Neuropharmacology of yawning. En *The mystery of yawning in physiology and disease*. 1a ed por Walusinski, O. Karger Publishers, 90-106.

Collins, G. T., Witkin, J. M., Newman, A. H., Svensson, K. A., Grundt, P., Cao, J. y Woods, J. H. (2005). Dopamine agonist-induced yawning in rats: a dopamine D₃ receptor-mediated behavior. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **314**: 310-319.

Collins, G. T., Newman, A. H., Grundt, P., Rice, K. C., Husbands, S. M., Chauvignac, C., Chen, J., Wang, S. y Woods, J. H. (2007). Yawning and hypothermia in rats: effects of dopamine D₃ and D₂ agonists and antagonists. *Psychopharmacology*, **193**: 159-170.

Collins, G. T., Truccone, A., Haji-Abdi, F., Newman, A. H., Grundt, P., Rice, K. C., Husbands, S. M., Greedy, B. M., Enguehard-Gueiffier, C., Gueiffiery, A., Chen, J., Shaomeng, W., Katz, J. L., Grandy, D. K., Sunahara, R. K. y Woods, J. H. (2009). Proerectile effects of dopamine D2-like agonists are mediated by the D3 receptor in rats and mice. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **329**: 210-217.

Cole, P. A. y Robinson, C. H. (1988). Peroxide model reaction for placental aromatase. *Journal of the American Chemical Society*, **110**: 1284-1285.

Conley, A. y Hinshelwood, M. (2001). Mammalian aromatases. *Reproduction*, **121**: 685-695.

Contrò, V., Basile, J. R. y Proia, P. (2015). Sex steroid hormone receptors, their ligands, and nuclear and non-nuclear pathways. *AIMS Molecular Science*, **2**: 294-310.

Cooke, B., Hegstrom, C. D., Villeneuve, L. S. y Breedlove, S. M. (1998). Sexual differentiation of the vertebrate brain: principles and mechanisms. *Frontiers in Neuroendocrinology*, **19**: 323-362.

Coopersmith, C. y Erskine, M. S. (1994). Influence of paced mating and number of intromissions on fertility in the laboratory rat. *Reproduction*, **102**: 451-458.

Cornill, C. A. y Bournonville, C. (2018). Dual action of neuro-estrogens in the regulation of male sexual behavior. *General and Comparative Endocrinology*, **256**: 57-62.

Cruz, M. R., Liu, Y. C., Manzo, J., Pacheco, P. y Sachs, B. D. (1999). Peripheral nerves mediating penile erection in the rat. *Journal of the Autonomic Nervous System*, **76**, 15-27.

Cruz, Y., Martínez-Gómez, M., Manzo, J., Hudson, R. y Pacheco, P. (1996). Changes in pain threshold during the reproductive cycle of the female rat. *Physiology & Behavior*, **59**, 543-547.

Cutting, A., Chue, J. y Smith, C. A. (2013). Just how conserved is vertebrate sex determination?. *Developmental Dynamics*, **242**: 380-387.

Dail, W. G., Minorsky, N., Moll, M. A. y Manzanares, K. (1986). The hypogastric nerve pathway to penile erectile tissue: histochemical evidence supporting a vasodilator role. *Journal of the Autonomic Nervous System*, **15**: 341-349.

Davidson, J. M. y Allinson, P. A. (1969). Effects of estrogen on the sexual behavior of male rats. *Endocrinology*, **84**: 1365-1372.

De Gasperin-Estrada, G. P., Camacho, F. J. y Paredes, R. G. (2008). Olfactory discrimination and incentive value of non-copulating and sexually sluggish male rats. *Physiology & Behavior*, **93**: 742-747.

Dewsbury, D. A. (1969). Copulatory behaviour of rats (*Rattus norvegicus*) as a function of prior copulatory experience. *Animal Behaviour*, **17**: 217-223.

Dewsbury, D. A. (1972). Patterns of copulatory behavior in male mammals. *Quarterly Review of Biology*, **47**: 1-33.

Díaz-Espinosa Lilia. (2019). Papel de los glucocorticoides en la consolidación de la memoria de las ratas de la sublíneas de alto y bajo bostezo. Tesis de maestría. Facultad en Ciencias Biológicas. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Diederichs, W., Stief, C. G., Bénard, F., Bosch, R., Lue, T. F. y Tanagho, E. A. (1991). The sympathetic role as an antagonist of erection. *Urological Research*, **19**: 123-126.

Dixson, A. F. (2003). *Primate sexuality. Comparative studies of prosimians, monkeys, apes, and human beings*. Oxford University Press. Oxford, England.

Dixson, A. F. (2009). *Sexual selection and the origins of human mating systems*. Oxford University Press. Oxford, England.

Dollinger, M. J., Holloway Jr, W. R. y Denenberg, V. H. (1980). Parturition in the rat (*Rattus norvegicus*): normative aspects and the temporal patterning of behaviours. *Behavioural Processes*, **5**: 21-37.

Doody, K. J., Lorence, M. D., Mason J. I. y Simpson, E. R. (1990). Expression of ribonucleic acid species encoding steroidogenic enzymes in human follicles and corpora lutea throughout the menstrual cycle. *Clinical Endocrinology and Metabolism*, **70**: 1041-1045.

Eguibar, J. R., Barajas, M. y Moyaho, A. (2004). Genotype-dependent effect of ACTH₁₋₂₄ on grooming and yawning in two inbred strains of rats. *Neuropeptides*, **38**: 283-288.

Eguibar, J. R., Cortes, C., Isidro, O. y Ugarte, A. (2015). Central administration of oxytocin differentially increases yawning, penile erections and scratching in high- (HY) and low yawning (LY) sublines of Sprague–Dawley rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, **134**: 6-11.

Eguibar, J. R., Cortes, M., Romero-Carbente, J. C., Toriz, G., Gonzalez-Flores, O. y Fernandez Guasti, A. (2016). Differential organization of male copulatory patterns in high-

and low-yawning-frequency sublines versus outbred Sprague–Dawley rats. *Physiology & Behavior*, **153**: 84-90.

Eguibar, J. R. y Moyaho, A. (1997). Inhibition of grooming by pilocarpine differs in high- and low-yawning sublines of Sprague–Dawley rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **58**: 317-322.

Eguibar, J. R., Moyaho, A. y Romero, J. C. (2002). Influencias medio ambientales y farmacológicas sobre el bostezo y aseo en dos sublíneas de ratas con una frecuencia de bostezo espontáneo diferente. En *Neuroetología. La Década del cerebro y la Conducta Animal*. Edición por Manzo, D. J. Universidad Veracruzana, 1-16.

Eguibar, J. R., Romero-Carbente, J. C. y Moyaho, A. (2003). Behavioral differences between selectively bred rats: D₁ versus D₂ receptors in yawning and grooming. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, **74**: 827-832.

Eilam, D., Talangbayan, H., Canaran, G. y Szechtman, H. (1992). Dopaminergic control of locomotion, mouthing, snout contact, and grooming: opposing roles of D₁ and D₂ receptors. *Psychopharmacology*, **106**: 447-454.

Escorihuela, R. M., Fernández-Teruel, A., Gil, L., Aguilar, R., Tobeña, A. y Driscoll, P. (1999). Inbred Roman high-and low-avoidance rats: differences in anxiety, novelty-seeking, and shuttlebox behaviors. *Physiology & Behavior*, **67**: 19-26.

Estanislau, C., Díaz-Morán, S., Cañete, T., Blázquez, G., Tobeña, A. y Fernández-Teruel, A. (2013). Context-dependent differences in grooming behavior among the NIH

heterogeneous stock and the Roman high-and low-avoidance rats. *Neuroscience Research*, **77**: 187-201.

Ferrari, S. y Cribari-Neto, F. (2004). Beta regression for modelling rates and proportions. *Journal of Applied Statistics*, **31**: 799-815.

Ferreira-Nuño, A., Overstreet, D. H., Morales-Otal, A. y Velázquez-Moctezuma, J. (2002). Masculine sexual behavior features in the Flinders sensitive and resistant line rats. *Behavioural Brain Research*, **128**, 113-119.

Forger, N. G. (2009). The organizational hypothesis and final common pathways: sexual differentiation of the spinal cord and peripheral nervous system. *Hormones and Behavior*, **55**: 605-610.

Francis, D. D., Champagne, F. C. y Meaney M. J. (2000). Variations in maternal behaviour are associated with differences in oxytocin receptor levels in the rat. *Journal of Neuroendocrinology*, **12**: 1145-1148.

Francis, D., Diorio, J., Liu, D. y Meaney, M. J. (1999). Nongenomic transmission across generations of maternal behavior and stress responses in the rat. *Science*, **286**: 1155-1158.

Friedman, M. I., Bruno, J. P. y Alberts, J. R. (1981). Physiological and behavioral consequences in rats of water recycling during lactation. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, **95**: 26-35.

Foidart, A., Harada, N. y Balthazart, J. (1994). Effects of steroidal and non steroidal aromatase inhibitors on sexual behavior and aromatase-immunoreactive cells and fibers in the quail brain. *Brain Research*, **657**: 105-123.

Frost, J. (2019). An intuitive guide for using and interpreting linear models. 1a ed. statisticsbyjim.com.

Gallup, A. C. (2010). A thermoregulatory behavior. En *The mystery of yawning in physiology and disease*. 1a ed por Walusinski, O. Karger Publishers, 84-89.

Gallup, A. C. (2011). Why do we yawn? Primitive versus derived features. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **35**: 765-769.

Gamble, T. y Zarkower, D. (2012). Sex determination. *Current Biology*, **22**: R257-R262.

Geerling, J. C., Shin, J. W., Chimenti, P. C. y Loewy, A. D. (2010). Paraventricular hypothalamic nucleus: axonal projections to the brainstem. *Journal of Comparative Neurology*, **518**: 1460-1499.

Gerardin, D. C. y Pereira, O. C. (2002). Reproductive changes in male rats treated perinatally with an aromatase inhibitor. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, **71**: 301-305.

Gerstenberg, T. C., Levin, R. J. y Wagner, G. (1990). Erection and ejaculation in man. Assessment of the electromyographic activity of the bulbocavernosus and ischiocavernosus muscles. *British Journal of Urology*, **65**: 395-402.

Geyer, L. A. y Barfield, R. J. (1978). Influence of gonadal hormones and sexual behavior on ultrasonic vocalization in rats: I. Treatment of females. *Journal of Comparative and Physiological, Psychology*, **92**: 438-446.

Giganti, F. y Salzarulo, P. (2010). Yawning throughout life. En *The mystery of yawning in physiology and disease*. 1a ed por Walusinski, O. Karger Publishers, 26-31

Giganti, F., Zilli, I., Aboudan, S. y Salzarulo, P. (2010). Sleep, sleepiness and yawning. En *The mystery of yawning in physiology and disease*. 1a ed por Walusinski, O. Karger Publishers, 42-46.

Giordano, A. L., Siegel, H. I. y Rosenblatt, J. S. (1989). Nuclear estrogen receptor binding in the preoptic area and hypothalamus of pregnancy-terminated rats: correlation with the onset of maternal behavior. *Neuroendocrinology*, **50**: 248-258.

Giordano, A. L., Siegel, H. I. y Rosenblatt, J. S. (1991). Nuclear estrogen receptor binding in microdissected brain regions of female rats during pregnancy: Implications for maternal and sexual behavior. *Physiology & Behavior*, **50**: 1263-1267.

Giuliano, F., Bernabé, J., Brown, K., Droupy, S., Benoit, G. y Rampin, O. (1997). Erectile response to hypothalamic stimulation in rats: role of peripheral nerves. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, **273**: R1990-R1997.

Giuliano, F. A. y Rampin, O. (2000). Central neural regulation of penile erection. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **24**: 517-533.

Gladue, B. A. y Clemens, L. G. (1980). Flutamide inhibits testosterone-induced masculine sexual behavior in male and female Rats. *Endocrinology*, **106**: 1917-1922.

González-Toriz, C. A. (2006). Alteraciones en el desempeño sexual de la rata macho: participación del cuidado materno. Tesis de Doctorado en Ciencias Fisiológicas. Instituto de Fisiología. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Gréco, B., Edwards, D. A., Michael, R. P. y Clancy, A. N. (1996). Androgen receptor immunoreactivity and mating-induced Fos expression in forebrain and midbrain structures in the male rat. *Neuroscience*, **75**: 161-171.

Guggisberg, A. G., Mathis, J., Schnider, A. y Hess, C. W. (2010). Why do we yawn? *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **34**: 1267-1276.

Harada, N., Sasano, H., Murakami, H., Okkuma, T., Nagura, H. y Takagi, Y. (1999). Localized expression of aromatase in human vascular tissues. *Circulation Research*, **84**: 1285-1291.

Harding, C. F. y Feder, H. H. (1976). Relation between individual differences in sexual behavior and plasma testosterone levels in the guinea pig. *Endocrinology*, **98**: 1198-1205.

Hart, B. L. (1968). Sexual reflexes and mating behavior in the male rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, **65**: 453-460.

Heidbreder, C. A., Weiss, I. C., Domeney, A. M., Pryce, C., Homberg, J., Hedou, G. y Nelson, P. (2000). Behavioral, neurochemical and endocrinological characterization of the early social isolation syndrome. *Neuroscience*, **100**: 749-768.

Heijkoop, R., Huijgens, P. T. y Snoeren, E. M. (2018). Assessment of sexual behavior in rats: The potentials and pitfalls. *Behavioural Brain Research*, **352**: 70-80.

Helt, M. S., Eigsti, I. M., Snyder, P. J. y Fein, D. A. (2010). Contagious yawning in autistic and typical development. *Child development*, **81**: 1620-1631.

Hertelendy, F. y Zakar, T. (2004). Regulation of myometrial smooth muscle functions. *Current Pharmaceutical Design*, **10**: 2499-2517.

Hickey, G. J., Chen, S., Besman, M. J., Shively, J. E., Hall, P. F., Gaddy-Kurten, D., & Richards, J. S. (1988). Hormonal regulation, tissue distribution, and content of aromatase cytochrome P450 messenger ribonucleic acid and enzyme in rat ovarian follicles and corpora lutea: relationship to estradiol biosynthesis. *Endocrinology*, **122**: 1426-1436.

Hofer, M. A. (1994). Early relationships as regulators of infant physiology and behavior. *Acta Paediatrica*, **83**: 9-18.

Holmgren, B., Budelli, R., Urba-Holmgren, R., Eguibar, J. R., Holmgren, M., Baz-Tellez, G. y Anias, J. (1991). Food anticipatory yawning rhythm in the rat. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*. **51**: 97-105.

Holmgren, B., Urbá-Holmgren, R., Trucios, N., Zermeno, M. y Eguibar, J. R. (1985). Association of spontaneous and dopaminergic-induced yawning and penile erections in the rat. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, **22**: 31-35.

Horvitz, J. C., Williams, G. y Joy, R. (2001). Time-dependent actions of D₂ family agonist quinpirole on spontaneous behavior in the rat: dissociation between sniffing and locomotion. *Psychopharmacology*, **154**: 350-355.

Hsieh, G. C., Hollingsworth, P. R., Martino, B., Chang, R., Terranova, M. A., O'Neill, A. B., Lynch, J.J., Moreland, R. B., Donnelly-Roberts, D. L., Kolasa, T., Mikusa, J. P., McVey J. M., Marsh, K. C., Sullivan, J. P. y Brioni, J. P. (2004). Central mechanisms regulating

penile erection in conscious rats: the dopaminergic systems related to the proerectile effect of apomorphine. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **308**: 330-338.

Hsieh, G. C., Hollingsworth, P. R., Martino, B., Chang, R., Terranova, M. A., O'Neill, A. B., Lych, J. J., Moreland, Donnelly-Roberts, D. L., Kolasa, T., Mikusa, J. P., McVey, J. M., Marsh, K. C., Sullivan, J. P. y Brioni, J. D. (2004). Central mechanisms regulating penile erection in conscious rats: the dopaminergic systems related to the proerectile effect of apomorphine. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **308**: 330-338.

Huang, Z. L., Urade, Y. y Hayaishi, O. (2007). Prostaglandins and adenosine in the regulation of sleep and wakefulness. *Current opinion in pharmacology*, **7**: 33-38.

Huang, Z. L., Urade, Y. y Hayaishi, O. (2011). The role of adenosine in the regulation of sleep. *Current topics in medicinal chemistry*, **11**: 1047-1057.

Hull, E. M., Meisel, R. L. y Sachs, B. D. (2002). Male sexual behavior. En *Hormones, Brain and Behavior*. Edición por Pfaff, D. W., Arnold, A. P., Etgen, A. M., Fahrbach, S. E. y Rubin, R. T. Academic Press Inc, 3-137.

Hull, E. M. y Rodríguez-Manzo, G. (2009). Male sexual behavior. En *Hormones, Brain and Behavior*. 2a Edición por Pfaff, D. W., Arnold, A. P., Etgen, A. M., Fahrbach, S. E., y Rubin R. T. Academic Press Inc, 5-65.

Hull, E. M., Wood, R. I. y McKenna, K. E. (2006). Neurobiology of male sexual behavior. En *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*. 3a edición por Neill J. D. Academic Press Inc, 1729-1824

Hurwitz, Z. E. y Riley, A. L. (2011). The differential expression of male sexual behavior in the Lewis, Fischer and Sprague-Dawley rat strains. *Learning & Behavior*, **39**, 36-45.

Jakab, R. L., Horvath, T. L., Leranth, C., Harada, N. y Naftolin, F. (1993). Aromatase immunoreactivity in the rat brain: gonadectomy-sensitive hypothalamic neurons and an unresponsive “limbic ring” of the lateral septum-bed nucleus-amygdala complex. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, **44**: 481-498.

Janig, W. y McLachlan, E. M. (1987). Organization of lumbar spinal outflow to distal colon and pelvic organs. *Physiological Reviews*, **67**: 1332-1404.

Kalueff, A. V., Stewart, A. M., Song, C., Berridge, K. C., Graybiel, A. M. y Fentress, J. C. (2016). Neurobiology of rodent self-grooming and its value for translational neuroscience. *Nature Reviews Neuroscience*, **17**: 45-59.

Kinsley, C. H. y Lambert, K. G. (2006). The maternal brain. *Scientific American*, **294**: 72-79.

Kohlert JG. y Bloch GJ. (1996). Hyperactivity in hyposexual male rats. *Physiology & Behavior*, **59**: 171-178.

Komisaruk, B. R., Adler, N. T. y Hutchison, J. (1972). Genital sensory field: enlargement by estrogen treatment in female rats. *Science*, **178**: 1295-1298.

Kondo, Y., Sachs, B. D. y Sakuma, Y. (1997). Importance of the medial amygdala in rat penile erection evoked by remote stimuli from estrous females. *Behavioural Brain Research*, **88**: 153-160.

- Kondo, Y., Tomihara, K. y Sakuma, Y. (1999). Sensory requirements for noncontact penile erection in the rat. *Behavioral Neuroscience*, **113**: 1062- 1070
- Konkle, A. T. y McCarthy, M. M. (2011). Developmental time course of estradiol, testosterone, and dihydrotestosterone levels in discrete regions of male and female rat brain. *Endocrinology*, **152**: 223–235.
- Krasnegor, N. A. y Bridges, R. S. (1990). Mammalian parenting: Biochemical, neurobiological, and behavioral determinants. En *National Institute of Child Health and Human Development Conference on Biological and Behavioral Determinants of Parental Behavior in Mammals*, Sep, 1987, Leesburg, VA, US. Oxford University Press.
- Kristal, M. B. (1980). Placentophagia: a biobehavioral enigma (or De gustibus non disputandum est). *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **4**: 141-150.
- Kristal, M. B. (2009). The biopsychology of maternal behavior in nonhuman mammals. *Ilar Journal*, **50**: 51-63.
- Lanier, D. L. y Dewsbury, D. A. (1976). A quantitative study of copulatory behaviour of large felidae. *Behavioural Processes*, **1**: 327-333.
- Larsson, K. (1956). The pattern of sexual behavior in the male rat. En *Conditioning and sexual behaviour in the male albino rat*. Editado por Elmgren, J. Almqvist & Wiksell, 1–269.
- Lee, A., Li, M., Watchus, J. y Fleming, A. S. (1999). Neuroanatomical basis of maternal memory in postpartum rats: selective role for the nucleus accumbens. *Behavioral Neuroscience*, **113**: 523-538.

Lee, H., Naughton, N. N., Woods, J. H. y Ko, M. C. H. (2003). Characterization of scratching responses in rats following centrally administered morphine or bombesin. *Behavioural Pharmacology*, **14**: 501-508.

Lenz, K. M., Nugent, B. M. y McCarthy, M. M. (2012). Sexual differentiation of the rodent brain: dogma and beyond. *Frontiers in Neuroscience*, **6**: 1-13.

Lenz, K. M. y Sengelaub, D. R. (2006). Maternal licking influences dendritic development of motoneurons in a sexually dimorphic neuromuscular system. *Brain Research*, **1092**: 87-99.

Lenz, K. M. y Sengelaub, D. R. (2009). Maternal care effects on SNB motoneuron development: the mediating role of sensory afferent distribution and activity. *Developmental Neurobiology*, **69**: 603-615.

Leon, M. (1974). Maternal pheromone. *Physiology & Behavior*, **13**: 441-453.

Lephart, E. D. (1993). Brain 5 α - reductase: cellular, enzymatic, and molecular perspectives and implications for biological function. *Molecular and Cellular Neurosciences*, **4**: 473-484.

Lephart, E. D. (1996). A review of brain aromatase cytochrome P450. *Brain Research Reviews*, **22**: 1-26.

Lévy, F., Keller, M. y Poindron, P. (2004). Olfactory regulation of maternal behavior in mammals. *Hormones and Behavior*, **46**: 284-302.

Leitman, D. C., Paruthiyil, S., Yuan, C., Herber, C. B., Olshansky, M., Tagliaferri, M., Cohen, I. y Speed, T. P. (2012, January). Tissue-specific regulation of genes by estrogen receptors. In *Seminars in reproductive medicine* (Vol. 30, No. 01, pp. 14-22). New York, USA: Thieme Medical Publishers.

Lisk, R. D., Pretlow, R. A. y Friedman, S. M. (1969). Hormonal stimulation necessary for elicitation of maternal nest-building in the mouse (*Mus musculus*). *Animal Behaviour*, **17**: 730-737.

Liu, D., Diorio, J., Day, J. C., Francis, D. D. y Meaney, M. J. (2000). Maternal care, hippocampal synaptogenesis and cognitive development in rats. *Nature Neuroscience*, **3**: 799-806.

Liu, D., Diorio, J., Tannenbaum, B., Caldji, C., Francis, D., Freedman, A. y Meaney, M. J. (1997). Maternal care, hippocampal glucocorticoid receptors, and hypothalamic-pituitary adrenal responses to stress. *Science*, **277**: 1659-1662.

López, H. H. y Ettenberg, A. (2002). Sexually conditioned incentives: Attenuation of motivational impact during dopamine receptor antagonism. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, **72**: 65-72.

Lonstein, J. S. y Gammie, S. C. (2002). Sensory, hormonal, and neural control of maternal aggression in laboratory rodents. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **26**: 869-888.

Lucio, R. A., Cruz, Y., Pichardo, A. I., Fuentes-Morales, M. R., Fuentes-Farias, A. L., Molina-Cerón, M. L. y Gutiérrez-Ospina, G. (2011). The physiology and ecophysiology of ejaculation. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, **15**: 113- 117

- Lue, T. F., Gleason, C. A., Brock, G. B, Carroll, P. R. y Tanagho, E. A. (1995). Intraoperative electrostimulation of the cavernous nerve: Technique, results and limitations. *Journal of Urology*, **154**: 1426–1428.
- Lumley, L. A. y Hull, E. M. (1999). Effects of a D₁ antagonist and of sexual experience on copulation-induced Fos-like immunoreactivity in the medial preoptic nucleus, *Brain Research*, **829**: 55-68.
- Lynch, C. S. y Story, A. J. (2000). Dihydrotestosterone and estrogen regulation of rat brain androgen-receptor immunoreactivity. *Physiology & Behavior*, **69**: 445-453.
- Maestriperi, D., Schino, G., Aureli, F. y Troisi, A. (1992). A modest proposal: displacement activities as an indicator of emotions in primates. *Animal Behaviour*, **44**: 967-979.
- Major, A. T. y Smith, C. A. (2016). Sex reversal in birds. *Sexual Development*, **10**: 288-300.
- Márquez, S. y Velázquez-Moctezuma, J. (1995). Regulación colinérgica de la conducta sexual. En Temas selectos de neurociencias. UAM, 487-509.
- Melis, M. R. y Argiolas, A. (2011). Central control of penile erection: a re-visitation of the role of oxytocin and its interaction with dopamine and glutamic acid in male rats. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **35**: 939-955.
- McCarthy, M. M, Arnold, A. P, Ball, G. F, Blaustein, J. D. y De Vries, G. J. (2012). Sex differences in the brain: the not so inconvenient truth. *The Journal of Neuroscience*, **32**: 2241-2247.

McCarthy, M. M., Nugent, B. M. y Lenz, K. M. (2017). Neuroimmunology and neuroepigenetics in the establishment of sex differences in the brain. *Nature Reviews Neuroscience*, **18**: 471-484.

McCarty, R. (2017). Cross-fostering: Elucidating the effects of gene x environment interactions on phenotypic development. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **73**: 219-254.

McDonald, P., Beyer, C., Newton, F., Brien, B., Baker, R., Tan, H. S., Sampsom, C., Kitching, P., Greenhill, R. y Pritchard, D. (1970). Failure of 5 α -dihydrotestosterone to initiate sexual behaviour in the castrated male rat. *Nature*, **227**: 964-965.

McEwen, B. S. y Milner, T. A. (2017). Understanding the broad influence of sex hormones and sex differences in the brain. *Journal of Neuroscience Research*, **95**: 24-39.

McGowan, P. O., Suderman, M., Sasaki, A., Huang, T. C., Hallett, M., Meaney, M. J. y Szyf, M. (2011). Broad epigenetic signature of maternal care in the brain of adult rats. *Plos One*, **6**: e14739.

McKenna, K. E. y Nadelhaft, I. (1986). The organization of the pudendal nerve in the male and female rat. *Journal of Comparative Neurology*, **24**: 532-549.

Meaney, M. J. (2001). Maternal care, gene expression, and the transmission of individual differences in stress reactivity across generations. *Annual Review of Neuroscience*, **24**: 1161-1192.

Meehan, K. L. y Sadar, M. D. (2003). Androgens and androgen receptor in prostate and ovarian malignancies. *Frontiers in Bioscience: A Journal and Virtual Library*, **8**: 780-800.

Melis, M. R. y Argiolas, A. (1995). Dopamine and sexual behavior. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **19**: 19-38.

Melis, M. R., Sanna, F. y Argiolas, A. (2018). Rats selectively bred for showing divergent behavioral traits in response to stress or novelty or spontaneous yawning with a divergent frequency show similar changes in sexual behavior: the role of dopamine. *Reviews in the Neurosciences*, **30**: 427-454.

Mohamadi, W., Kia, H. D., Khani, A. H. y Alijani, S. (2011). Effects of male goat pheromones on feeding behavior of female Markhoz goats during breeding season. *Pakistan Veterinary Journal*, **31**: 327-330.

Moltz, H. y Leidahl, L. C. (1977). Bile, prolactin, and the maternal pheromone. *Science*, **196**: 81-83.

Moore, C. L. (1984). Maternal contributions to the development of masculine sexual behavior in laboratory rats. *Developmental Psychobiology: The Journal of the International Society for Developmental Psychobiology*, **17**: 347-356.

Moore, C. L. (1984). Maternal contributions to the development of masculine sexual behavior in laboratory rats. *Developmental Psychobiology: The Journal of the International Society for Developmental Psychobiology*, **17**: 347-356.

Moore, C. L. (1985). Sex differences in urinary odors produced by young laboratory rats (*Rattus norvegicus*). *Journal of Comparative Psychology*: **99**, 336-341.

Moore, C. L. (1992). The Role of Maternal Stimulation in the Development of Sexual Behavior and Its Neural Basis a. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **662**: 160-177.

Moore, C. L., Dou, H. y Juraska, J. M. (1992a). Maternal stimulation affects the number of motor neurons in a sexually dimorphic nucleus of the lumbar spinal cord. *Brain Research*, **572**: 52-56.

Morali, G., Larsson, K. y Beyer, C. (1977). Inhibition of testosterone-induced sexual behavior in the castrated male rat by aromatase blockers. *Hormones and Behavior*, **9**: 203-213.

Moreland, R. B., Hsieh, G., Nakane, M. y Brioni, J. D. (2001). The biochemical and neurologic basis for the treatment of male erectile dysfunction. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **296**: 225-234.

Moussaoui, N., Larauche, M., Biraud, M., Molet, J., Million, M., Mayer, E. y Taché, Y. (2016). Limited nesting stress alters maternal behavior and in vivo intestinal permeability in male Wistar pup rats. *Plos One*, **11**: e0155037.

Moyaho, A., Barajas, M., Ugarte, A. y Eguibar, J. R. (2009). Genetic and littermate influences on yawning in two selectively bred strains of rats. *Developmental Psychobiology: The Journal of the International Society for Developmental Psychobiology*, **51**: 243-248.

Noonan, M. y Kristal, M. B. (1979). Effects of medial preoptic lesions on placentophagia and on the onset of maternal behavior in the rat. *Physiology & Behavior*, **22**: 1197-1202.

Numan, M. (1974). Medial preoptic area and maternal behavior in the female rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, **87**: 746-759.

Numan, M. (2007). Motivational systems and the neural circuitry of maternal behavior in the rat. *Developmental Psychobiology*, **49**: 12-21

Numan, M. (2012). Maternal behavior: neural circuits, stimulus valence, and motivational processes. *Parenting*, **12**: 105-114.

Numan, M. (2015). Parental behavior. En *Neurobiology of social behavior toward and understanding of the prosocial and antisocial brain*. Edición por Numan, M. Academic Press, 165-234.

Numan, M. e Insel, T. R. (2003). *The Neurobiology of Parental Behavior*. Springer-Verlag. Nueva York, EUA.

Numan, M., Rosenblatt, J. S. y Komisaruk, B. R. (1977). Medial preoptic area and onset of maternal behavior in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, **91**: 146-164.

Olivier, B., Chan, J. S. W., Pattij, T., De Jong, T. R., Oosting, R. S., Veening, J. G. y Waldinger, M. D. (2006). Psychopharmacology of male rat sexual behavior: Modeling human sexual dysfunctions? *International Journal of Impotence Research*, **18**: S14- S23.

Pageat, P. y Gaultier, E. (2003). Current research in canine and feline pheromones. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, **33**: 187-211.

Paredes, R., Haller, A. E., Manero, M. C., Alvarado, R. y Ágmo, A. (1990). Medial preoptic area kindling induces sexual behavior in sexually inactive male rats. *Brain Research*, **515**: 20-26.

Pattij, T., De Jong, T. R., Uitterdijk, A., Waldinger, M. D., Veening, J. G., Cools, A. R., Graff, P. H. y Olivier, B. (2005). Individual differences in male rat ejaculatory behaviour: searching for models to study ejaculation disorders. *European Journal of Neuroscience*, **22**: 724-734.

Pérez-Torrero, E. y Rubio-Navarro, L. (2015). Maternal Behavior Their Adjustments and Implicated Factors. *Journal of Behavioral and Brain Science*, **5**: 40-55.

Phoenix, C. H., Goy, R. W., Gerall, A. A. y Young, W. C. (1959). Organizing action of prenatally administered testosterone propionate on the tissues mediating mating behavior in the female guinea pig. *Endocrinology*, **65**: 369-382.

Picard, D. (2006). Chaperoning steroid hormone action. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, **17**: 229-235.

Portillo, W., Camacho, F., Eguibar, J. R. y Paredes, R. G. (2010). Behavioral characterization of non-copulating male rats with high spontaneous yawning frequency rate. *Behavioural Brain Research*, **214**: 225-230.

Portillo, W., Castillo, C. G., Retana-Márquez, S., Roselli, C. E. y Paredes, R. G. (2007). Neuronal activity of aromatase enzyme in non-copulating male rats. *Journal of Neuroendocrinology*, **19**: 139-141.

Portillo, W., Díaz, N. F., Cabrera, E. A., Fernández-Guasti, A. y Paredes, R. G., (2006a). Comparative analysis of immunoreactive cells for androgen receptors and oestrogen receptor α in copulating and non-copulating male rats. *Journal of Neuroendocrinology*, **18**: 168-176.

Portillo, W., Díaz, N. F., Retana-Márquez, S. y Paredes, R. G. (2006b). Olfactory, partner preference and Fos expression in the vomeronasal projection pathway of sexually sluggish male rats. *Physiology & Behavior*, **88**: 389-397.

Portillo, W. y Paredes, R. G. (2003). Sexual and olfactory preference in noncopulating male rats. *Physiology & Behavior*, **80**: 155-162.

Portillo, W. y 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. *Hormones and Behavior*, **46**: 330-340.

Portillo, W. y Paredes, R. G. (2019). Motivational drive in non-copulating and socially monogamous mammals. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, **13**: 238.

Rajagopal, T. y Archunan, G. (2011). Histomorphology of preorbital gland in territorial and non-territorial male blackbuck Antelope cervicapra, a critically endangered species. *Biologia*, **66**: 370-378.

Ralls, K. (1971). Mammalian scent marking. *Science*, **171**: 443-449.

Retana-Marquez, S., Bonilla-Jaime, H. y Velazquez-Moctezuma, J. (1998). Lack of effect of corticosterone administration on male sexual behavior of rats. *Physiology & behavior*, **63**: 367-370.

Rodríguez, M. J., Alvarenga, T. A. F., Monroy-López, E., Ferreira-Nuño, A., Morales-Otal, A. y Velázquez-Moctezuma, J. (2016). Sexual Behavior in Rats: An Animal Model for the Study of the Neuroendocrine System. En *Rodent Model as Tools in Ethical Biomedical Research*. Editado por Andersen, M. L. y Tufik, S. Springer International Publishing, 237-251.

Romero-Carbente, J.C. (2000). Regulación de las conductas de aseo, bostezo y erecciones del pene por agentes dopaminérgicos en dos sublíneas ratas de la cepa Sprague-Dawley. Tesis de Licenciatura en Biología. Escuela de Biología. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Roselli, C. E. y Resko, J. A. (1984). Androgens regulate brain aromatase activity in adult male rats through a receptor mechanism. *Endocrinology*, **114**: 2183-2189.

Roselli, C. E. y Resko, J. A. (1987). The distribution and regulation of aromatase activity in the central nervous system. *Steroids*, **50**: 495-508.

Roselli, C. E. y Resko, J. A. (1993). Aromatase activity in the rat brain: hormonal regulation and sex differences. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, **44**: 499-508.

Rosenblatt, J. S. y Lehrman, D. S. (1963). Maternal behavior of the laboratory rat. En *Maternal behavior in mammals*. Edición por Rheingold, H. L. John Wiley & Sons, 8-57.

Rosenblatt, J. S. y Siegel, H. I. (1975). Hysterectomy-induced maternal behavior pregnancy in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, **89**: 685-700.

Sachs, B. D. (1980). Sexual reflexes of spinal male house mice. *Physiology & Behavior*, **24**: 489-492.

Sachs, B. D. (1997). Erection evoked in male rats by airborne scent from estrous females. *Physiology & Behavior*, **62**: 921-924.

Sachs, B. D. (2000). Contextual approaches to the physiology and classification of erectile function, erectile dysfunction, and sexual arousal. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **24**, 541-560.

Sachs, B. D., Akasofu, K. y McEldowney, S. S. (1994). Effects of copulation on apomorphine-induced erection in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **48**: 423-428.

Sachs, B. D. y Barfield, R. (1976). Functional analysis of masculine copulatory in the rat. En *Advances in the Study of Behavior*. Edición por Hinde, R. A., Shaw, E y Beer, C. Academic Press, 92-154.

Sachs, B. D. y Liu, Y. C. (1992). Copulatory behavior and reflexive penile erection in rats after section of the pudendal and genitofemoral nerves. *Physiology & behavior*, **51**: 673-680.

Sanna, F., Corda, M. G., Melis, M. R., Piludu, M. A., Giorgi, O. y Argiolas, A. (2014). Male Roman high and low avoidance rats show different patterns of copulatory behaviour: comparison with Sprague Dawley rats. *Physiology & Behavior*, **127**, 27-36.

Sanna, F., Corda, M. G., Melis, M. R., Piludu, M. A., Löber, S., Hübner, H., Gmeiner, P., Argiolas, A. y Giorgi, O. (2013). Dopamine agonist-induced penile erection and yawning: a

comparative study in outbred Roman high-and low-avoidance rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **109**: 59-66.

Sanna, F., Succu, S., Melis, M. R. y Argiolas, A. (2012). Dopamine agonist-induced penile erection and yawning: Differential role of D2-like receptor subtypes and correlation with nitric oxide production in the paraventricular nucleus of the hypothalamus of male rats. *Behavioural Brain Research*, **230**: 355-364.

Senju, A. (2010). Developmental and comparative perspectives of contagious yawning. En *The mystery of yawning in physiology and disease*. 1a ed por Walusinski, O. Karger Publishers, 113-119.

Schrøder, H. D. (1980). Organization of the motoneurons innervating the pelvic muscles of the male rat. *Journal of Comparative Neurology*, **192**: 567-587.

Schroth, G. y Klose, U. (1992). Cerebrospinal fluid flow. II. Physiology of respiration-related pulsations. *Neuroradiology*, **35**: 10-15.

Shapiro, H. A. (1937). Effect of testosterone propionate on mating. *Nature*, **139**: 588-589.

Shay, D. A., Vieira-Potter, V. J. y Rosenfeld, C. S. (2018). Sexually Dimorphic Effects of Aromatase on Neurobehavioral Responses. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, **11**: 1-12.

Schlinger, B. A. y Callard, G. V. (1990). Aromatization mediates aggressive behavior in quail. *General and Comparative Endocrinology*, **79**: 39-53.

Schmidt, M. H. y Schmidt, H. S. (1993). The ischiocavernosus and bulbospongiosus muscles in mammalian penile rigidity. *Sleep*, **16**: 171-183.

Schwarz, J. M. (2016). Sex and the Developing Brain. En *Sex Differences in the Central Nervous System*. Edición por Shansky, R. M. Oxford, England, 221-245.

Shepard, K. N., Michopoulos, V., Toufexis, D. J. y Wilson, M. E. (2009). Genetic, epigenetic and environmental impact on sex differences in social behavior. *Physiology & Behavior*, **97**: 157-170.

Siegel, H. I. y Rosenblatt, J. S. (1978). Duration of estrogen stimulation and progesterone inhibition of maternal behavior in pregnancy-terminated rats. *Hormones and Behavior*, **11**: 12-19.

Simerly, R. B. y Swanson, L. W. (1986). The organization of neural inputs to the medial preoptic nucleus of the rat. *Journal of Comparative Neurology*, **246**: 312-342.

Simerly, R. B. y Swanson, L. W. (1988). Projections of the medial preoptic nucleus: a *Phaseolus vulgaris* leucoagglutinin anterograde tract-tracing study in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, **270**: 209-242.

Simonsen, U., Comerma-Steffensen, S. y Andersson, K. E. (2016). Modulation of dopaminergic pathways to treat erectile dysfunction. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, **119**: 63-74.

Simpson, E. R. y Davis, S. R. (2001). Minireview: aromatase and the regulation of estrogen biosynthesis—some new perspectives. *Endocrinology*, **142**: 4589-4594.

Simpson, E. R., Mahendroo, M. S., Means, G. D., Kilgore, M. W., Hinshelwood, M. M., Graham-Lorence, S., Amarneh, B., Ito, Y., Fisher, C. R., Michael, M. D., Mendelson, C. R.

y Bulun, S.E. (1994). Aromatase cytochrome P450 the enzyme responsible for estrogen synthesis. *Endocrine Reviews*, **15**: 342-355.

Simpson, E. R., Zhao, Y., Agarwal, V. R., Michael, M. D., Bulun, S. E., Hinshelwood, M. M., Graham-Lorence, S., Sun, T., Fisher, C. R., Qin, K. y Mendelson, C. R. (1997). Aromatase expression in health and disease. *Recent Progress in Hormone Research*, **52**: 185-213.

Smolinsky, A. N., Bergner, C. L., LaPorte, J. L. y Kalueff, A. V. (2009). Analysis of grooming behavior and its utility in studying animal stress, anxiety, and depression. En *Mood and anxiety related phenotypes in mice*. Edición por Gould, T. D. Humana Press, 21-36.

Soma, K. K., Sullivan, K. y Wingfield, J. (1999). Combined aromatase inhibitor and antiandrogen treatment decreases territorial aggression in a wild songbird during the nonbreeding season. *General and Comparative Endocrinology*, **115**: 442-453.

Soma, K. K., Tramontin, A. D. y Wingfield, J. C. (2000). Oestrogen regulates male aggression in the non-breeding season. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, **267**: 1089-1096.

Stead, J. D., Clinton, S., Neal, C., Schneider, J., Jama, A., Miller, S., Vasquez, D. M., Watson, S. J. y Akil, H. (2006). Selective breeding for divergence in novelty-seeking traits: heritability and enrichment in spontaneous anxiety-related behaviors. *Behavior Genetics*, **36**: 697.

Steers, W. D. (2000). Neural pathways and central sites involved in penile erection: neuroanatomy and clinical implications. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **24**: 507-516.

Stern, J. M. (1996). Somatosensation and maternal care in Norway rats. *Advances in the Study of Behaviour*, **25**: 243-294.

Stern, J. M. y Lonstein, J. S. (2001). Neural mediation of nursing and related maternal behaviors. En *In Progress in Brain Research*. Edición por Russell, J. A., Douglas, A. J., Windle, R. J y Ingram, C. D. Elsevier, 263-278.

Stolzenberg, D. S. y Champagne, F. A. (2016). Hormonal and non-hormonal bases of maternal behavior: the role of experience and epigenetic mechanisms. *Hormones and Behavior*, **77**: 204-210.

Stone, C. P. (1939). Copulatory activity in adult male rats following castration and injections of testosterone propionate 1. *Endocrinology*, **24**: 165-174.

Takahashi, Y., Yamanaka, H., Akiyama, I. y Sakuma, Y. (1989). Brain Aromatase Activity and Behavioral Consequences in the Male Rat Treated In Utero with 4-Hydroxy-Androstened. *Endocrinologia Japonica*, **36**: 29-36.

Taylor, J. L., Rajbhandari, A. K., Berridge, K. C. y Aldridge, J. W. (2010). Dopamine receptor modulation of repetitive grooming actions in the rat: potential relevance for Tourette syndrome. *Brain Research*, **1322**: 92-101.

Tlachi-López, J. L., Eguibar, J. R., Fernández-Guasti, A. y Lucio, R. A. (2012). Copulation and ejaculation in male rats under sexual satiety and the Coolidge effect. *Physiology & Behavior*, **106**: 626-630.

Terkel, J. y Sawyer, C. H. (1978). Male copulatory behavior triggers nightly prolactin surges resulting in successful pregnancy in rats. *Hormones and Behavior*, **11**: 304-309.

Thompson, E. A. y Siiteri, P. K. (1974). The involvement of human placental microsomal cytochrome P-450 in aromatization. *Journal of Biological Chemistry*, **249**: 5373-5378.

Tremblay, G. B., Tremblay, A., Copeland, N. G., Gilbert, D. J., Jenkins, N. A., Labrie, F. y Giguere, V. (1997). Cloning, chromosomal localization, and functional analysis of the murine estrogen receptor β . *Molecular Endocrinology*, **11**: 353-365.

Trukhina, A. V., Lukina, N. A., Wackerow-Kouzova, N. D. y Smirnov, A. F. (2013). The variety of vertebrate mechanisms of sex determination. *BioMed Research International*, **2013**: 1-9.

Ugarte, A. (2006). Conducta maternal y respuesta al estrés de ratas criadas por madres de alto y bajo bostezo. Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas. División de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Tlaxcala.

Ugarte, A., Eguibar, J. R., Cortés, M., León-Chávez, B. A. y Melo, A. I. (2011). Comparative analysis of maternal care in the high-yawning (HY) and low-yawning (LY) sublines from Sprague-Dawley rats. *Developmental Psychobiology*, **53**: 105-117.

Urbá-Holmgren, R., Santos, A., Holmgren, B. y Eguíbar, J. (1993). Two inbred rat sublines that differ in spontaneous yawning behavior also differ in their responses to cholinergic and dopaminergic drugs. *Behavioural Brain Research*, **56**:155-159.

Urbá-Holmgren, R., Trucios, N., Holmgren, B., Eguibar, J., Gavito, A., Cruz, G. y Santos, A. (1990). Genotypic dependency of spontaneous yawning frequency in the rat. *Behavioural Brain Research*, **40**: 29-35.

Uribe, C. A. (2015). Efecto del cuidado materno sobre las respuestas de estrés de la descendencia de las sublíneas HY y LY y de la cepa Sprague-Dawley. Tesis de Doctorado en Ciencias Fisiológicas. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Valenzuela, N., Neuwald, J. L. y Literman, R. (2013). Transcriptional evolution underlying vertebrate sexual development. *Developmental Dynamics*, **242**: 307-319.

Ventura-Aquino, E., Portillo, W. y Paredes, R. G. (2018). Sexual motivation: a comparative approach in vertebrate species. *Current Sexual Health Reports*, **10**: 114-123.

Waldinger, M. D. y Olivier, B. (2005). Animal models of premature and retarded ejaculation. *World Journal of Urology*, **23**: 115-118.

Walusinski, O. (2013). Why do we yawn? Past and current hypotheses. En *Hypotheses in clinical medicine*. Edición por Shoja, M. M., Agutter, P. S., Tubbs, R. S., Ghanei, M., Kamyar, G., Harris, A y Loukas, M. Nova Science Publishers, 245-256.

Weaver, I. C., Cervoni, N., Champagne, F. A., D'Alessio, A. C., Sharma, S., Seckl, J. R., Dymov, S., Szyf, M. y Meaney, M. J. (2004). Epigenetic programming by maternal behavior. *Nature Neuroscience*, **7**: 847-854.

Whalen, R. E. y Luttge, W. G. (1971). Testosterone, androstenedione and dihydrotestosterone: effects on mating behavior of male rats. *Hormones and Behavior*, **2**: 117-125.

Wilson, J. R., Adler, N. y Le Boeuf, B. (1965). The effects of intromission frequency on successful pregnancy in the female rat. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **53**: 1392-1395.

Wright, P. K., May, F. E., Darby, S., Saif, R., Lennard, T. W. y Westley, B. R. (2009). Estrogen regulates vesicle trafficking gene expression in EFF-3, EFM-19 and MCF-7 breast cancer cells. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*, **2**: 463-475.

Yonezawa, A., Yoshizumi, M., Ise, S. N., Watanabe, C., Mizoguchi, H., Furukawa, K., Hiromichi, T., Yukio, K., Masahito, K. y Sakurada, S. (2009). Synergistic actions of apomorphine and m-chlorophenylpiperazine on ejaculation, but not penile erection in rats. *Biomedical Research*, **30**: 71-78.

Zakar, T. y Hertelendy, F. (2007). Progesterone withdrawal: key to parturition. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **196**: 289-296.

Zhang, T. Y., Chrétien, P., Meaney, M. J. y Gratton, A. (2005). Influence of naturally occurring variations in maternal care on prepulse inhibition of acoustic startle and the medial prefrontal cortical dopamine response to stress in adult rats. *The Journal of Neuroscience*, **25**: 1493-1502.

Zilli, I., Giganti, F. y Salzarulo, P. (2007). Yawning in morning and evening types. *Physiology & Behavior*, **91**: 218-222.

Zucker, I. y Wade, G. (1968). Sexual preferences of male rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, **66**: 816-819.