

BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA



INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA



LABORATORIO DE NEUROFISIOLÓGÍA
DE LA CONDUCTA Y CONTROL MOTOR

**“EL DESEMPEÑO SEXUAL DE LAS RATAS HEMBRAS
DE ALTO BOSTEZO, BAJO BOSTEZO Y SPRAGUE-DAWLEY
ES DEPENDIENTE DEL GENOTIPO DE LOS MACHOS”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS FISIOLÓGICAS

PRESENTA:

Q.F.B. ALFONSO MORA-BOLAÑOS

H. PUEBLA DE ZARAGOZA

JUNIO, 2017.

The sexual behavior is a behavior in which individuals engage because its execution produces positive affect; in other words, we have sex because it is fun. (Ågmo, 1999).

RESUMEN

Las ratas HY (del inglés High Yawning) y LY (del inglés Low Yawning) son sublíneas de ratas obtenidas por cruzamiento endogámico a partir de la cepa Sprague-Dawley (SD), que difieren en su frecuencia de bostezo espontáneo. En estudios previos, realizados en el laboratorio, se evidenció que las ratas machos de la sublínea HY presentan un patrón copulatorio diferente a lo reportado en las ratas LY y SD, ya que los machos HY tienen largos intervalos interintromisorio y como consecuencia su latencia de eyaculación es prolongada, cuando son probados con hembras SD ovariectomizadas y con estro inducido. También se observó que dentro de la sublínea HY, hay una alta proporción de machos que no copulan después de repetidas exposiciones a hembras SD sexualmente activas, y son incapaces de reconocer las señales odoríferas obtenidas de hembras en estro inducido.

Para tratar de explicar el déficit en el despliegue de esta conducta, en el presente trabajo se evaluó el desempeño sexual de las ratas hembras de ambas sublíneas y SD, para determinar si el rol que tiene la hembra en base a su perfil genético tiene un efecto sobre los machos.

La hembra es el estímulo fundamental para el despliegue de la conducta sexual del macho. Ella realiza conductas típicas de estro, las cuales son: atractividad, proceptividad y receptividad. También la hembra es capaz de regular los estímulos recibidos por un macho sexualmente experto y en las pruebas de elección de pareja muestra preferencia por un macho en particular.

En el presente trabajo se evaluó la conducta sexual de las ratas hembra HY, LY y SD, primero en una cópula *ad libitum* en una arena circular con un macho sexualmente experto de la misma o diferente sublínea o bien con un macho SD. Después se evaluó en una prueba de elección de pareja la expresión de la preferencia de las hembras hacia un macho sexualmente experto SD, HY o LY. Las ratas hembra SD se tomaron como una cepa de referencia genéticamente heterogénea.

El estudio mostró que en la cópula *ad libitum* las ratas hembra SD, HY y LY respondieron a los estímulos sexuales del macho, en un promedio de 85% medido por el coeficiente de lordosis, independientemente del genotipo del macho. Sin embargo, se evidenció que las intensidades de las lordosis en las ratas SD y LY, es dependiente del macho, ya que ambas presentaron una menor intensidad cuando se expusieron frente a un macho HY que a un macho SD. Las hembras HY en comparación con las hembras SD presentaron una intensidad de lordosis mayor cuando fueron confrontadas con un macho HY. Las hembras HY en comparación con las demás hembras son más proceptivas frente a los machos de ambas sublíneas.

En las pruebas de elección de pareja, las hembras HY, LY y SD entraron en igual proporción a los redondeles de los machos, pero pasaron más tiempo en el redondel del macho LY, por lo que fue considerado como el macho preferido. El número de lordosis de los tres grupos de hembras no difiere frente los distintos machos probados. Sin embargo, las hembras realizan más conductas proceptivas con el macho preferido.

Los resultados experimentales de esta tesis exponen la primera caracterización del desempeño sexual de las ratas hembras de alto y bajo bostezo, y muestran claramente que el binomio hembra-macho es dependiente del contexto en que son probados.

AGRADECIMIENTOS

A la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla mi *alma máter*.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo financiero para la realización de mis estudios de maestría con número de becario 662091, gracias por estimular el desarrollo de la ciencia en México.

A mis mentores:

Dr. José Ramón Eguibar Cuenca, por darme la oportunidad de realizar mi trabajo de tesis bajo su tutela, por ser un gran guía y por proporcionarme su confianza.

Dra. Ma. del Carmen Cortés Sánchez, por las críticas constructivas, tan acertadas, que me ayudaron a enriquecer mi trabajo.

A mis revisores de tesis:

Dr. Enrique Soto Eguibar, Dr. Gonzalo Flores Álvarez y Dr. Alejandro C. Moyaho Martínez, por todas sus contribuciones a mi escrito de tesis.

A todos mis profesores:

Que a lo largo de mi vida académica han dejado una huella indeleble en mi formación.

Al personal técnico:

M.C. Araceli Ugarte Rojano y M.V.Z. Omar Isidro Maldonado por el aporte de la materia prima, cuya contribución ha sido importante para los experimentos.

A mis compañeros y amigos de laboratorio:

Karely, J. Alfredo, Yomaly, Adriela, Ma. de los Ángeles, Sandra, Lilia, Ángel, Rubén, Juan, Patricia, Carlos, Héctor, Saraí, Cecilia, Jocelyn y Andrea, por hacer la estancia en la maestría más agradable.

DEDICATORIA

A mi Familia:

Quiero dedicar mi tesis a los pilares más fuertes de mi vida, mis padres el Sr. Guadalupe Mora Martínez y la Sra. Rogaciana Bolaños Novella. Gracias por su amor incondicional y por creer siempre en mí; mi superación se las debo a ustedes, lo reconozco y lo agradezco eternamente.

A mis hermanas la Profa. Bibiana Mora Bolaños y la D.I.V. Mariana Mora Bolaños, gracias por motivarme a seguir en esta gran travesía.

A mi sobrina Frida Sofía Abad Mora, quien ocupa un gran espacio en mi corazón.

ÍNDICE

Resumen	II
Lista de Figuras	IX
1. Introducción	01
1.1. Maduración sexual de la rata hembra	02
1.2. El ciclo reproductor de la rata hembra	08
1.3. Control neuroendocrino de la conducta sexual femenina	12
1.4. El circuito neural implicado en la expresión de la conducta sexual de la hembra	14
1.5. Descripción de la conducta sexual de la rata hembra	19
1.6. Estudio de la motivación sexual femenina en ratas	23
1.7. Impacto del cuidado materno y el estrés sobre la conducta sexual en hembras	26
2. Antecedentes	29
3. Justificación	32
4. Hipótesis	32
5. Objetivos	33
5.1. Objetivo General	33
5.2. Objetivos Específicos	33
6. Metodología	34
6.1. Sujetos experimentales	34
6.2. Cirugía	35
6.3. Cuidado postoperatorio	36
6.4. Tratamiento hormonal	37
6.5. Procedimiento experimental	37

6.5.1. <u>Experimento 1.</u> Prueba de cópula <i>ad libitum</i>	38
6.5.2. <u>Experimento 2.</u> Prueba de elección de pareja	42
7. Resultados	44
7.1. <u>Experimento 1.</u> Prueba de cópula <i>ad libitum</i>	44
7.1.1. Conductas proceptivas	44
7.1.2. Receptividad en los tres grupos de ratas	46
7.1.3. Discusión: Experimento 1	48
7.2. <u>Experimento 2.</u> Prueba de elección de pareja	50
7.2.1. Conductas proceptivas	50
7.2.2. Conductas receptivas	52
7.2.3. Preferencia por algún tipo de macho	53
7.2.4. Discusión: Experimento 2	55
8. Discusión General	59
9. Conclusiones	62
10. Bibliografía	63

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Activación del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal (HHG) durante las diferentes etapas del desarrollo de la rata hembra.	7
Figura 2.	Concentraciones de progesterona, estradiol, hormona luteinizante y hormona folículo estimulante en plasma periférica obtenida en un intervalo de 2-h durante cada día del ciclo estral de cuatro días de la rata.	10
Figura 3.	Áreas cerebrales involucradas en la conducta sexual de la rata hembra.	17
Figura 4.	El circuito neural para la conducta de la lordosis en la rata hembra.	18
Figura 5.	Áreas cutáneas marcadas por el macho al montar a la hembra.	21
Figura 6.	Ciclo de respuesta sexual en base a los comportamientos sexuales masculinos y femeninos.	22
Figura 7.	Incisión dorso-lateral.	36
Figura 8.	Arena circular de acrílico transparente.	38
Figura 9.	Intensidad de la lordosis evaluada sobre una escala.	41
Figura 10.	Sistema de redondeles para evaluar la elección de pareja sexual.	42
Figura 11.	Conductas proceptivas de las ratas hembras ovariectomizadas con estro inducido	45
Figura 12.	Conducta receptiva de las hembras ovariectomizadas en estro inducido con la administración secuencial de benzoato de estradiol más de progesterona.	46
Figura 13.	Intensidades de lordosis de las diferentes hembras frente a los machos sexualmente expertos SD, HY y LY.	47
Figura 14.	Conductas proceptivas de las ratas hembras cuando visitan a los diferentes tipos machos.	51
Figura 15.	Conducta receptiva de las hembras ovariectomizadas con estro inducido ante los diferentes tipos de machos.	52
Figura 16.	Frecuencia de visitas realizadas por las hembras a cada redondel.	53

- Figura 17. Porcentaje de tiempo que la hembra permaneció en cada redondel con distinto tipo de macho. 54
- Figura 18. Representación del potencial de acumulación eyaculatorio. 57

1. INTRODUCCIÓN

Desde el punto de vista biológico, la conducta sexual es comprendida como una de las funciones distintivas del macho y la hembra en la fisiología reproductiva cuyo propósito principal es la perpetuación de la especie. La conducta reproductiva es innata y genéticamente determinada que requiere de procesos neuroendocrinos, fisiológicos y anatómicos que se desarrollan desde estadios perinatales. El individuo ejecuta esta conducta no porque esté consciente de su propósito (sobrevivencia de la especie) sino porque simplemente produce afectos positivos (Ågmo, 1999; Ågmo y Ellingsen, 2003).

La expresión del comportamiento sexual depende de la acción de al menos dos mecanismos separados pero complementarios, un mecanismo motivacional que lleva al individuo a la búsqueda y al inicio de la interacción con la pareja, y un mecanismo consumatorio o de ejecución que le permite llevar a cabo eficientemente dicha interacción (Beach, 1942).

En muchos animales como la rata, especie utilizada en el presente trabajo, se pueden distinguir una serie de conductas dimórficas estereotipadas que influyen en la pareja para lograr la excitación sexual. Estas conductas forman un ciclo que se pueden dividir en tres fases: la precópula donde se observan conductas de solicitud y cortejo, en hembras está definida como la atractividad y la proceptividad; la cópula la cual es iniciada y controlada por la hembra, que impone y controla las múltiples montas, las intromisiones y las eyaculaciones que recibe del macho, la hembra responde a los estímulos sexuales del macho con una

postura de reflejo llamada lordosis; y la consumación que en los machos consiste en la eyaculación y en las hembras se derivan fenómenos que podrían caracterizarse como 'respuesta de orgasmo' (Beach, 1976; Pfau et al., 2015; Pfau et al., 2016).

La conducta sexual en ratas, es sensible a la influencia genética de las cepas. Las cepas puras (homocigotas) muestran entre sí diferencias neuroanatómicas y fisiológicas, que afectan el despliegue conductual normal. Los estudios comparativos con grupos endogámicos resultan relevantes en el entendimiento de la regulación neurobiológica de esta conducta y a la etología de la disfunción sexual.

En consecuencia, diversas cepas y sublíneas de roedores obtenidas endogámicamente han sido utilizadas para examinar las posibles influencias genéticas subyacentes a la expresión diferencial de la conducta sexual (Hubierna-Cordero et al. 2015).

En el Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor contamos con un buen modelo de ratas endogámicas que nos ha permitido estudiar el déficit en el despliegue de la conducta sexual del macho. Tratando de elucidar la causa de este problema, nos hemos enfocado en el papel que tiene la hembra sobre la cópula.

1.1. MADURACIÓN SEXUAL DE LA RATA HEMBRA

La pubertad es un proceso biológico que se define como el período transitorio de desarrollo de la infancia hacia la edad adulta. El inicio normal de la pubertad

juega un papel importante en la promoción del desarrollo del sistema reproductivo, haciendo que los mamíferos adquieran la capacidad de reproducirse (Bianco, 2012).

La pubertad implica la maduración del aparato reproductor y la producción de gametos viables (Asdell, 1946). La apertura vaginal (que ocurre al final del primer proestro), los cambios en el frotis vaginal, el aumento del peso del útero a más de 200mg, la presencia del primer estro después de 24h de la apertura vaginal, la receptividad sexual y la ovulación, son factores integrales en el logro de la pubertad en la rata hembra (Blandau y Money, 1943; Ojeda et al., 1973).

El inicio de la pubertad y la regulación de la fertilidad se rigen por una compleja red neuronal, principalmente en el hipotálamo, en la cual convergen las neuronas productoras de la hormona liberadora de gonadotropina, las reguladoras maestras de la secreción de gonadotropina, el crecimiento postnatal y la función gonadal. El desarrollo adecuado de las neuronas productoras de la hormona liberadora de gonadotropina, la expresión, la señalización y la hormona liberadora de gonadotropina son esenciales para la maduración sexual y el funcionamiento normal del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal (Prevot, 2015).

La pubertad es la culminación de una serie extraordinariamente compleja de eventos que ocurren durante el desarrollo embrionario y postnatal, y se derivan de una mezcla de procesos genéticos, epigenéticos, estructurales, neuroanatómicas y funcionales (Prevot, 2015).

Las neuronas productoras de la hormona liberadora de gonadotropina se originan en la placoda olfativa. Alrededor del día embrionario 11, las neuronas dejan el epitelio de la fosa olfatoria media y migran a través de la región frontonasal, y penetran en la parte rostral del cerebro medio y continúan su migración hacia la región hipotalámica a lo largo de la rama ventral del nervio vomeronasal que se proyecta hacia el prosencéfalo basal. Finalmente, las neuronas se separan de sus guías axonales a lo largo de su trayectoria migratoria, y se dispersan hacia el parénquima cerebral, en especial en el área preóptica media del hipotálamo (Schwanzel-Fukuda et al., 1989; Prevot, 2015).

Al nacer, las terminales neuroendocrinas de estas neuronas marcan el espacio de los vasos sanguíneos del sistema portal hipofisario en la eminencia media (Ojeda et al., 1980).

Las neuronas productoras de la hormona liberadora de gonadotropina y la red neural a la que pertenecen están expuestas después a diferentes períodos de activación. Así, durante el periodo neonatal y la vida postnatal temprana (edad infantil), la liberación pulsátil de la hormona liberadora de gonadotropina está activa, pero luego llega a ser latente durante la edad juvenil (Navarro et al., 2004a).

La primera activación del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal coincide con la llegada de las fibras del núcleo arcuato del hipotálamo a la región preóptica, lo que da lugar a un aumento temprano de la hormona folículo estimulante que desencadena el crecimiento del primer conjunto de folículos ováricos destinados a

ovular en la pubertad, así como un aumento esporádico de los niveles de la hormona luteinizante que contribuye a su maduración (Bouret et al., 2004).

Un nivel plasmático bajo de estradiol, producido por los folículos en crecimiento que obtiene acceso gradual al hipotálamo, ejerce un efecto de retroalimentación negativa sobre las neuronas del núcleo arcuato (Andrews y Ojeda, 1977).

Las neuronas y las células gliales del área preóptica del hipotálamo, y posiblemente también otras áreas del cerebro, contribuyen a la maduración del patrón de pulsatilidad de la hormona liberadora de gonadotropina secretada a lo largo de la edad juvenil, promoviendo además la liberación de la gonadotropina y el crecimiento folicular (Prevot, 2015).

El segundo periodo de activación ocurre durante el periodo peri-puberal, cuando se establece un ritmo diurno de liberación de la hormona luteinizante que acentúa el desarrollo funcional de los ovarios (Prevot, 2015).

Un tercer y último período de activación coincide con el momento en que los folículos ováricos maduran completamente, es decir, la etapa de Graaf, y la subsecuente liberación de esteroides ováricos, específicamente del estradiol, que ejerce un efecto de retroalimentación positiva sobre las neuronas del núcleo anteroventral periventricular, coordinando el inicio de la primera oleada preovulatoria de la hormona liberadora de gonadotropina y de las hormonas folículo estimulante y luteinizante, y así la activación de la primera ovulación que le confiere la fertilidad a los individuos, véase la Figura 1. Los eventos primarios que

forman el inicio de la pubertad se originan dentro del hipotálamo (Dohler et al., 1975; Kamberi et al., 1980).

La kisspeptina, un péptido producto del gen *Kiss1*, estimula la secreción de la hormona liberadora de gonadotropina, por activación de su receptor GPR54, un tipo de receptor acoplado a proteína G que se encuentra en las neuronas secretoras de dicha hormona. Los niveles de los genes *Kiss1* y GPR54 en el hipotálamo son altos al inicio de la pubertad (Feng et al., 2008; Navarro et al., 2004a), manifestándose entonces la apertura vaginal, aumento del peso del útero, y un incremento en los niveles séricos de la hormona luteinizante y del estradiol (Navarro et al., 2004b).

Las neuronas kisspeptinérgicas están principalmente localizadas en dos áreas: en el núcleo periventricular anteroventral (región anterior del hipotálamo) y en el núcleo arcuato en la parte posterior del hipotálamo (Xu et al., 2012).

Los axones de las neuronas kisspeptinérgicas se proyectan a los cuerpos celulares de las neuronas secretoras de la hormona liberadora de gonadotropina; estas neuronas presentan receptores a kisspeptina GPR54 (Herbison, 2015), y como consecuencia se inicia la liberación pulsátil de la hormona liberadora de gonadotropina que dirige la secreción en la glándula pituitaria de las hormonas gonadotropinas: la hormona luteinizante y la hormona folículo estimulante, dando como resultado la ovulación; este proceso se describirá con más detalle en el siguiente apartado.

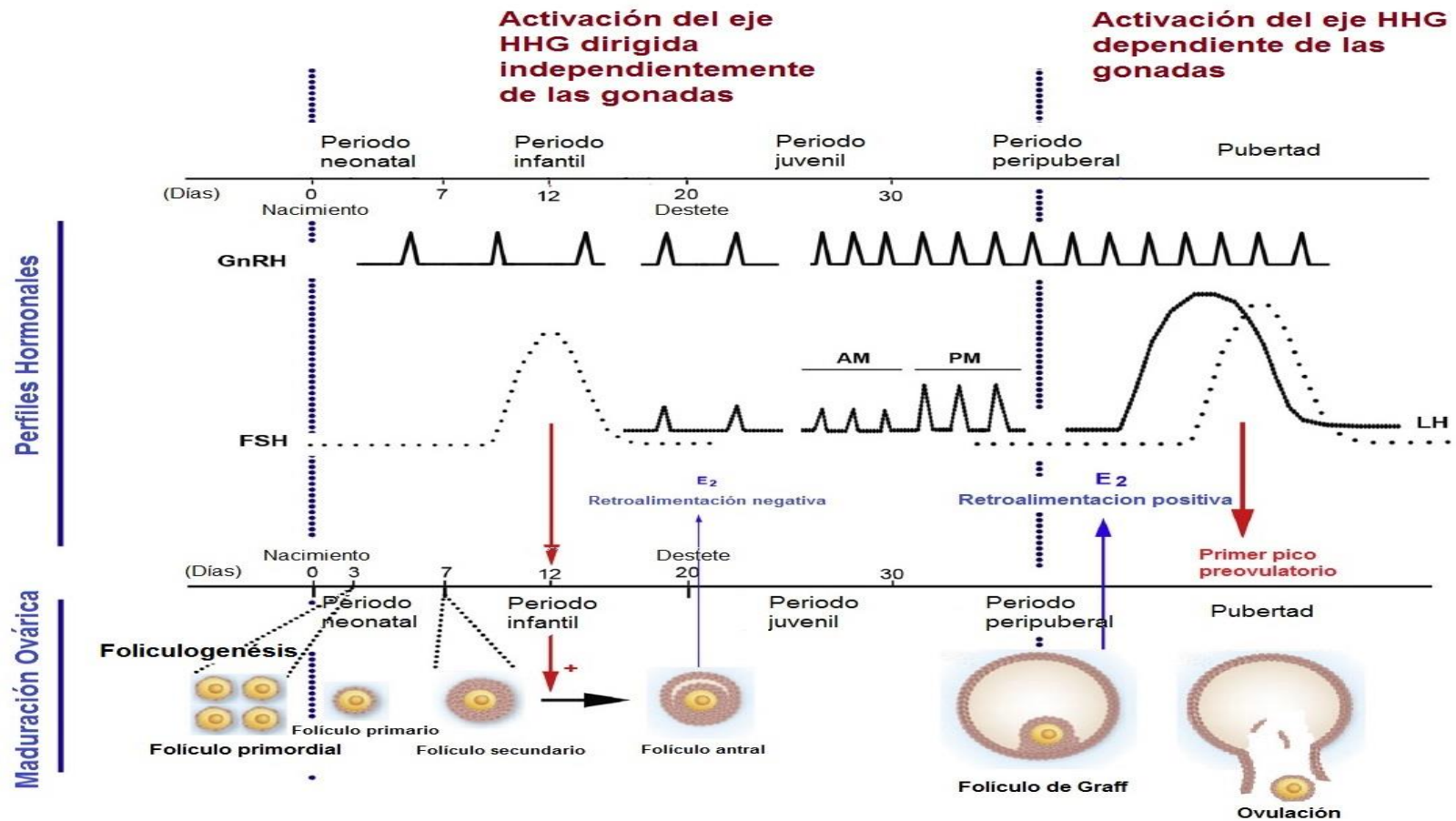


Figura 1. Activación del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal (HHG) durante las diferentes etapas del desarrollo de la ratona hembra. El perfil hormonal que es dependiente o no de las gónadas, afecta la foliculogénesis, y el avance de la maduración folicular modulado por el hipotálamo y la hipófisis a través de la secreción de estradiol (E2) durante el desarrollo postnatal. Abrev. Hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), hormona luteinizante (LH), hormona foliculo estimulante (FSH), ante meridiano (AM), pasado meridiano (PM). Modificado de Prevot, 2015.

1.2. EL CICLO REPRODUCTOR DE LA RATA HEMBRA

La rata hembra de laboratorio es un mamífero poliéstrico, no estacional y con ovulación espontánea que presenta un ciclo reproductor llamado ciclo estral y el cual tiene una duración de 4 a 5 días, la hembra ovula una vez cada cuatro días (Freman, 1994). El ciclo estral presenta cuatro etapas con duración, características citológicas, hormonales y conductuales específicas que hacen evidente el estadio de referencia denominadas: la fase de proestro, estro, metaestro y diestro (Figura 2); (Smith et al., 1975; Goldman et al., 2007).

El proestro es un estado preparativo al estro también llamado preovulatorio, que dura de 12 a 14 horas aproximadamente (Freeman, 2005). En esta fase la hormona liberadora de gonadotropina es producida por neuronas localizadas en el área preóptica y sitios adyacentes en la región rostral del hipotálamo (Knobil, 1990), y es secretada pulsátilmente en la eminencia media de la vasculatura portal hipofisaria, esta hormona llega a la adenohipófisis y estimula la síntesis de gonadotropinas: la hormona luteinizante y la hormona folículo estimulante (Sarkar et al., 1976).

Las gonadotropinas viajan por el torrente sanguíneo hasta los ovarios, activando la gametogénesis y la síntesis de esteroides, las hormonas esteroideas forman circuitos de retroalimentación tanto positivas como negativas regulando los pulsos de la hormona liberadora de gonadotropina (Christian y Moenter, 2010).

Los cambios en la frecuencia de pulso de la hormona liberadora de gonadotropina estimulan preferentemente la liberación de la hormona luteinizante

o la hormona folículo estimulante en momentos específicos, creando así el ambiente hormonal adecuado para el desarrollo folicular ovárico. Pulsos de frecuencia alta de la hormona liberadora de gonadotropina estimulan la síntesis y liberación de la hormona luteinizante, mientras que pulsos de frecuencia baja favorecen la síntesis y liberación de la hormona folículo estimulante (Levine et al., 1990; Christian y Moenter, 2010).

La palabra *estro* proviene de una adaptación latina del vocablo griego "oistros" que significa "frenesí", dicho término es empleado para definir el periodo específico de deseo sexual de la hembra, es decir, ella presenta receptividad al macho, la cópula se relaciona con la fertilidad de la hembra (Freman, 1994).

El *estro* tiene una duración entre nueve y quince horas. En esta fase los estrógenos que fueron secretados al final del proestro por los folículos ováricos maduros, da lugar a una retroalimentación positiva sobre las neuronas del núcleo periventricular anteroventral cuyas proyecciones influyen sobre las neuronas secretoras de la hormona liberadora de gonadotropina, que se localizan en el núcleo preóptico medio, induciendo un aumento en la amplitud y la frecuencia de la pulsatilidad de la hormona liberadora de gonadotropina (Levine et al., 1990), originando un pico de la hormona luteinizante que a la vez desencadena, en la mañana del *estro*, la expulsión de 10 a 20 óvulos. Seguido del pico de estradiol se da un aumento agudo de los niveles de progesterona y 20- α -hidroprogesterona que provienen de distintas estructuras ováricas (glándula intersticial, células de la teca, de los folículos inmaduros y del cuerpo lúteo de reciente formación); (Feder, 1981).

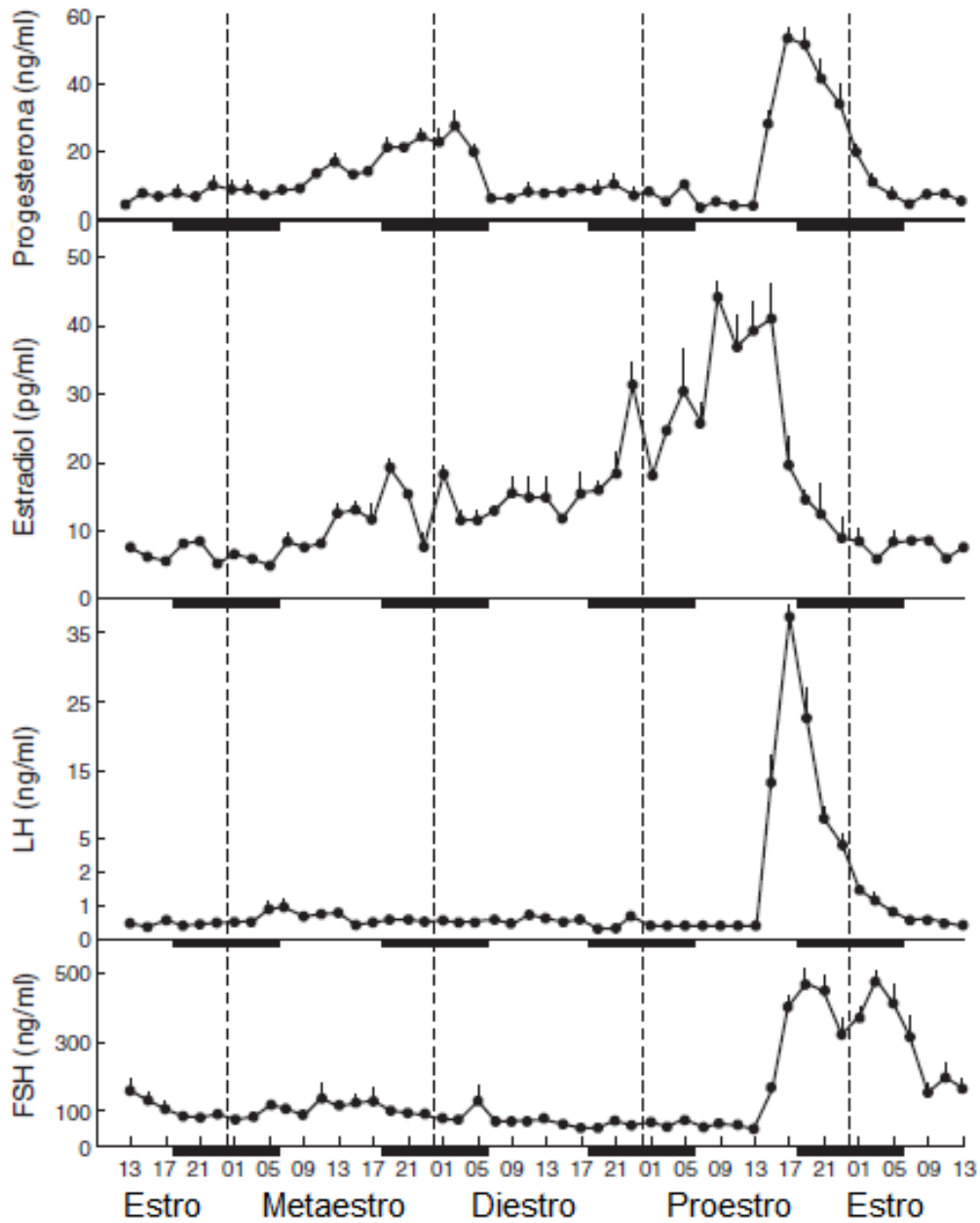


Figura 2. Concentraciones de progesterona, estradiol, hormona luteinizante (del inglés LH) y hormona foliculo estimulante (del inglés FSH) en plasma periférica obtenida en un intervalo de 2-h durante cada día del ciclo estral de cuatro días de la rata. Cada punto representa la concentración hormonal promedio de 5 a 6 ratas. Las barras negras indican el intervalo oscuro en el cuarto del animal (0600-1800) y los números debajo de la abscisa representa la hora del día, en términos de las 24 h del día (Smith et al., 1975).

Al final de la fase de estro los niveles de hormona luteinizante y estrógenos bajan a sus niveles mínimos como consecuencia las capas más externas del epitelio vaginal se queratinizan y descaman, en un frotis vaginal se observan abundantes células epiteliales queratinizadas, pocas células nucleadas y ningún leucocito. En la tarde del estro la progesterona desciende a su nivel mínimo.

El metaestro dura aproximadamente 24 horas, es una fase lútea temprana comienza a detectarse otro aumento en los niveles de progesterona producido por el cuerpo lúteo recién formado, preparando al tracto reproductivo para la recepción del óvulo fertilizado e inhibe la secreción de gonadotropinas, a través del epitelio vaginal migran leucocitos hacia el lumen, un frotis vaginal en esta fase mostrará una moderada cantidad de leucocitos y pocas células queratinizadas. Se termina el periodo de aceptación al macho (Freeman, 2005).

El diestro dura cerca de cincuenta y seis horas, es una fase luteolítica y de crecimiento folicular, los niveles hormonales permanecen bajos durante la mayor parte del ciclo, mientras ocurre un gradual incremento de estrógenos, liberados por el folículo ovárico en desarrollo, el frotis vaginal de esta fase se caracteriza por la presencia de gran cantidad de leucocitos, muy pocas células queratinizadas y algunas células nucleadas (Freeman, 2005).

Lo contrario del estro es el anestro que comprende la fase de metaestro y diestro, en este periodo hay una inhibición de la receptividad en la hembra en donde se ve un evidente rechazo al macho, esta inhibición depende de la actividad del cuerpo lúteo. El cuerpo lúteo persiste debido a que la prolactina liberada por la

glándula pituitaria lo mantiene en su función liberadora de progesterona, si hubo preñez el cuerpo lúteo se mantiene de 20 a 22 días (duración de la gestación). (Blaustein y Erskine, 2002).

1.3. CONTROL NEUROENDOCRINO DE LA CONDUCTA SEXUAL FEMENINA

La conducta sexual de la rata hembra es observada en la fase de estro de su ciclo, cuando las condiciones hormonales son las adecuadas, es decir, los niveles plasmáticos de las hormonas ováricas son altas (Beach ,1976). Las hormonas ováricas (estrógenos y progesterona) implicadas en la reproducción, cambian la probabilidad de que estímulos específicos motiven conductas concretas que facilitan al organismo la ejecución de una cópula exitosa (Nelson, 1996).

Está demostrado que la remoción de los ovarios a través de la ovariectomía, provoca una disminución inmediata y drástica de los niveles plasmáticos del estradiol y la progesterona debido a que es en el ovario donde se sintetizan y como consecuencia existe la desaparición de la conducta sexual femenina. Sin embargo, la administración de benzoato de estradiol (un estrógeno sintético con semivida biológica prolongada y 7 veces más potente que el estradiol), seguida 48 horas después por la administración de progesterona, restaura la expresión de dicha conducta (Powers, 1970; Boling y Blandau 1939; Beyer et al., 1976).

Se ha considerado que para la expresión completa de la conducta sexual – tanto los componentes proceptivos como los receptivos – se requiere en la rata hembra que además de una administración de progesterona, exista un

pretratamiento con benzoato de estradiol (Glaser et al., 1983). Este fenómeno es debido a que el estradiol al unirse a los receptores de estrógeno, en específico a los receptores de estrógenos tipo α (Mazzucco et al. 2008), durante un periodo de 18 a 24 horas inducen la síntesis de los receptores de la progesterona, facilitando la expresión de la conducta sexual.

Los receptores a estradiol y a progesterona son factores de transcripción, por lo que ejercen sus efectos directamente sobre el genoma promoviendo la síntesis de proteínas. Se han caracterizado dos tipos funcionales para cada receptor: α y β para los de estrógenos (Greene et al., 1986; Kuiper et al., 1996), A y B para los de progesterona (Mani y Oyola, 2012).

Se ha encontrado en diferentes regiones del cerebro de la rata hembra; la expresión de los receptores para los estrógenos. La expresión del gen para el receptor tipo α se encuentra más intensamente en el hipotálamo ventromedial anterolateral, el núcleo arcuato y el núcleo premamilar ventral; en contraste, el gen para el receptor tipo β se encuentra expresado más densamente en el núcleo paraventricular hipotalámico, núcleo supraóptico y el núcleo premamilar ventral. Ambas isoformas son expresadas en la amígdala (Osterlund et al., 1998).

En ratas cíclicas intactas, el receptor a progesterona está presente en el núcleo periventricular anteroventral, el área preóptica media, el núcleo arcuato y el núcleo ventromedial del hipotálamo, durante el diestro y a través del proestro-estro (Numan et al., 1999). De la misma forma, la expresión de las isoformas de los receptores a progesterona tipo A y B, está regulado por esteroides ováricos, en

una forma específica en regiones del cerebro, a través del ciclo ovárico. En ratas hembra ovariectomizadas, la administración de estradiol aumenta la expresión de ambas isoformas en el hipotálamo y el área preóptica, mientras que la administración posterior de progesterona disminuyó la expresión de ambas isoformas sólo en el hipotálamo. En ratas cíclicas intactas los receptores a progesterona A y B se expresan altamente en el área preóptica, durante el diestro, mientras que su expresión en el hipotálamo disminuye (Guerra-Araiza et al., 2003).

1.4. EL CIRCUITO NEURAL IMPLICADO EN LA EXPRESIÓN DE LA CONDUCTA SEXUAL DE LA HEMBRA

La postura de lordosis, la fase receptiva de la rata hembra, es parte de un circuito sensible a esteroides y se extiende desde el sistema límbico a la médula espinal (Pfaff, 1980).

Durante la cópula, la presión en el rango de 50-450 milibares sobre la piel de la grupa posterior, la base de la cola y el perineo, después del contacto bilateral de los flancos lleva a la activación del nervio pudendo (Kow y Pfaff, 1973; Kow et al., 1979; Pfaff, 1980). También se activan los nervios hipogástrico, pélvico y vago, debido a que las intromisiones que realiza el macho estimulan los receptores de presión en la vagina, cervix y útero (Berkley et al., 1993; Chinapen et al., 1992). Los nervios estimulados se dirigen hacia la médula espinal, sobre los ganglios de la raíz dorsal, a nivel de las lumbares 1, 2, 5, 6 y el sacro 1 (Pfaff, 1994). Aunque la respuesta de las fibras aferentes en las láminas apropiadas del asta dorsal es rápida, el tejido espinal por sí solo no es suficiente para el reflejo de la lordosis.

La lordosis requiere de un circuito supraespinal, que comprende la activación de fibras sensoriales ascendentes y la facilitación de la respuesta de neuronas descendentes, en la columna anterolateral de la médula espinal (Pfaff, 1980).

Las fibras ascendentes, en el circuito supraespinal, se dirigen al tronco encefálico, terminando en la formación reticular del bulbo raquídeo y en el núcleo vestibuloespinal lateral (Pfaff, 1980). Las áreas del tronco encefálico involucradas en el control de la lordosis son las áreas catecolaminérgicas A1 y A2, las cuales son grupos de células noradrenérgicas que forman una parte del haz ascendente ventrolateral del bulbo raquídeo y envían proyecciones que inervan al núcleo paraventricular del hipotálamo, las células A1 se localizan en el lado ventrolateral caudal del bulbo raquídeo y las células A2 se encuentra en la parte caudal del núcleo del tracto solitario (Yang y Voogt, 2001; Cameron et al., 2004). En el cerebelo las áreas involucradas en la regulación de la lordosis son la capa granular, la capa de Purkinje y el núcleo fastigial (Paredes-Ramos et al., 2011).

Las fibras ascendentes siguen su curso hacia el mesencéfalo, a la sustancia gris periacueductal (Pfaff, 1980). Esta área del tronco encefálico recibe proyecciones descendentes del núcleo ventromedial del hipotálamo (Veening et al., 1987; Daniels et al., 1999). La respuesta de lordosis desaparece después de una lesión en la sustancia gris periacueductal, pero es activada por la estimulación eléctrica (Sakuma and Pfaff, 1979 a,b). La estimulación eléctrica del núcleo ventromedial del hipotálamo facilita la lordosis, pero este efecto es anulado por la lesión de la sustancia gris periacueductal (Sakuma and Pfaff, 1979b). Aparentemente hay una estrecha pero compleja cooperación entre la sustancia

gris periacueductal y el núcleo ventromedial del hipotalámico, especialmente su parte ventrolateral.

Otras áreas del hipotálamo también están involucradas en la conducta receptiva de la hembra (Figura 3). La parte dorsomedial del núcleo ventromedial puede llegar a ser activada después de la estimulación del clítoris (Parada et al., 2010). También se ha observado que después de la actividad copulatoria existe una activación del núcleo arcuato, el núcleo dorsomedial del hipotálamo y la región premamilar (Erskine, 1993; Pfaus et al., 1996).

La activación neural también es observada en el núcleo paraventricular del hipotálamo, tanto en la parte parvo- como magnocelular (Yang y Voogt, 2002). La amígdala medial y el núcleo del lecho de la estría terminal también están implicados en el control mediado por hormonas de la conducta sexual de la hembra. La activación del bulbo olfatorio, el área preóptica media, y el septum lateral antagonizan la conducta receptiva (Pfaus y Heeb, 1997).

El área preóptica media es un sitio clave para la integración de la información sensorial y la regulación de la función sexual ya que recibe proyecciones del bulbo olfatorio accesorio y del sistema límbico (Pfaff et al., 1994; Blaustein y Erskine, 2002).

La información hipotalámica integrada es modificada en la sustancia gris periacueductal y envía numerosas proyecciones descendentes hacia áreas del tronco encefálico como el complejo vestibular y a las neuronas reticuloespinal del bulbo olfatorio (Pfaff, 1980).

Las proyecciones descendentes que están implicadas en la inducción de la postura de lordosis, no surgen directamente de la sustancia gris periacueductal. En la rata, se ha definido a el núcleo retro ambiguo como una columna orientada rostrocaudalmente distinta a la localización de las interneuronas premotoras en el tegmento ventrolateral en la parte caudal del bulbo raquídeo, entre los niveles 1.0 a 2.0 mm caudal al obex (Ellenberger y Feldman, 1990a,b; Holstege et al., 1997).

El núcleo retro ambiguo envía proyecciones descendentes principalmente a la médula espinal contralateral (Holstege et al., 1997) y funciona como una estación de relevo excitatoria para la activación de los grupos celulares de las motoneuronales implicados en el despliegue de la postura de lordosis (Holstege et al., 1997; Gerrits et al., 2004).

La respuesta final para inducir la conducta receptiva de la lordosis se da por la activación de las motoneuronas lumbares que se acuestan sobre el lado medial de la asta ventral y son responsables de controlar los músculos dorsales: longinismo lateral y transversoespinalis, véase la Figura 4 (Pfaff, 1980).

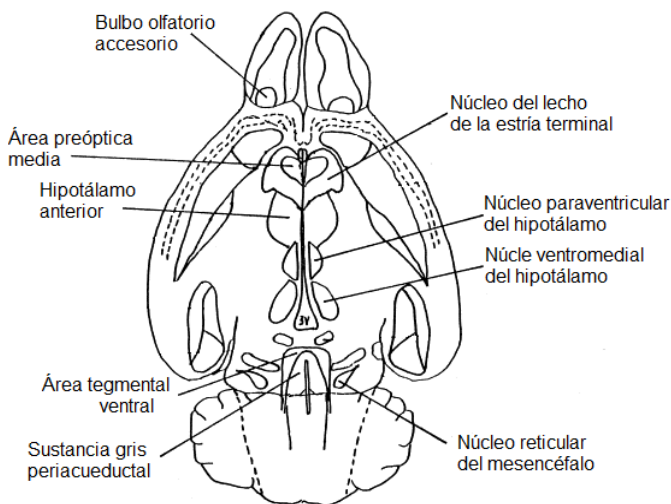


Figura 3. Áreas cerebrales involucradas en la conducta sexual de la rata hembra. Sección horizontal que muestra las regiones del cerebro de la rata hembra en el que se observó la inducción de Fos después de la estimulación sexual (Pfaus y Heeb, 1997).

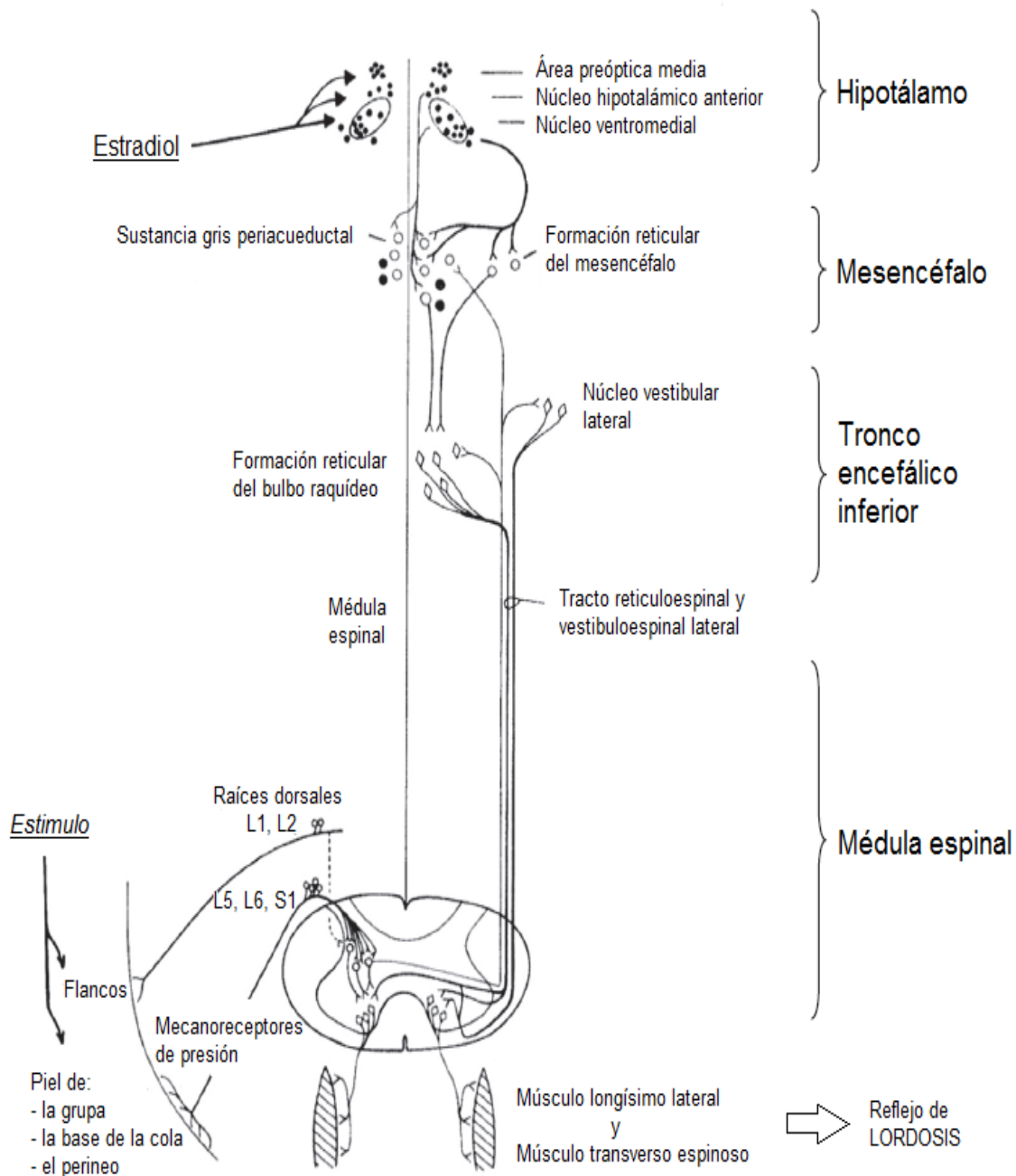


Figura 4. El circuito neural para la conducta de la lordosis en la rata hembra. El estrógeno que circula en la sangre llega al cerebro para unirse a neuronas que se localizan en el hipotálamo: en el núcleo ventromedial, el núcleo anterior y el área preóptica media, aumentando la capacidad biosintética y la excitabilidad eléctrica de estas células nerviosas. A través de sus conexiones con el mesencéfalo, estas neuronas preparan los circuitos del tronco encefálico para que la lordosis se produzca, dada la entrada somatosensorial adecuada (Pfaff, 1980).

1.5. DESCRIPCIÓN DE LA CONDUCTA SEXUAL DE LA RATA HEMBRA

La actividad sexual que la hembra presenta es caracterizada por tres patrones: atractividad, proceptividad y receptividad (Beach, 1976). Cabe recalcar que estas conductas sólo son observadas en la tarde del proestro e inicios del estro y también pueden ser inducidas en ratas ovariectomizadas, con la administración secuencial de benzoato de estradiol más la progesterona, 48 y 4 horas respectivamente, antes de las interacciones sexuales.

La atractividad se caracteriza por eventos no conductuales como la liberación de señales odoríferas provenientes del tracto genital llamadas feromonas y la emisión de vocalizaciones ultrasónicas de 50 kHz, para atraer y excitar al macho para copular (Erskine, 1989). También, las hembras reciben estimulación olfatorios a partir de olores masculinos y feromonas que hacen más fuerte el incentivo de copular (Pfaus et al., 2016).

Los procedimientos experimentales que permiten investigar la incitación sexual motivada (comportamiento apetitivo) independientemente de la cópula (mecanismo consumatorio) han demostrado que la rata hembra es un estímulo sexual incondicionado para el macho. En otras palabras, las señales emitidas por la rata receptiva evocan y mantienen el comportamiento de acercamiento por parte del macho, y la posibilidad de copular con la hembra no tiene ningún efecto durable sobre el valor del incentivo de ella (Ågmo, 2003).

El componente proceptivo de la hembra, típico de la especie, incluye una serie de eventos motores que indican su iniciativa para establecer o mantener la interacción

sexual, las conductas pueden ser saltos sobre sus cuatro patas que finalizan con una postura de inmovilidad, carreras cortas en forma de zigzag que terminan abruptamente con inmovilidad, o bien, movimientos de alta frecuencia de la cabeza que provoca la vibración de las orejas y las vibrisas. Las conductas se originan sin contacto físico, pero son importantes ya que si no existe una adecuada estimulación no se consume la cópula (Beach, 1976; Erskine, 1989). La frecuencia y la velocidad con que estas conductas son expresadas son dependientes de las hormonas ováricas, del ritmo que el macho lleva en la cópula y por las condiciones experimentales específicas en las que se observa el apareamiento (Erskine, 1989).

Los componentes proceptivos de la hembra han tenido varios términos, como conductas proceptivas (Beach, 1976), conductas pre- y paracopulatorias (Madlafousek y Hlinak, 1977), o solicitudes (Erskine, 1989), sin embargo, cumplen la función de índice de la motivación sexual de la hembra.

El patrón conductual más representativo de una rata hembra en estro y el componente relacionado con el mecanismo consumatorio de la interacción sexual es la receptividad, la cual consiste en una conducta refleja llamada lordosis que es provocada por la estimulación somatosensorial de los flancos donde los machos palpan, estimulación del clítoris en los envites pélvicos del mismo macho y estimulación vagino-cervical debido a las intromisiones peneanas, véase la Figura 5 (Pfaff, 1980).

La lordosis consiste en la dorsiflexión de la región lumbar de la columna vertebral y la depresión del tórax, seguida por la elevación de la región perianal y un movimiento lateral de la cola para mostrar el orificio vaginal que le permite al macho en la monta y

con envites pélvicos más vigorosos intrometer el pene hacia la vagina. Si la penetración vaginal ha ocurrido, el macho desmonta bruscamente y prepara su pene erecto en detumescencia, la hembra normalmente se escapa una distancia corta y realiza nuevas conductas proceptivas (Erskine, 1989; Coopersmith et al., 1996; Pfaff et al., 1999).

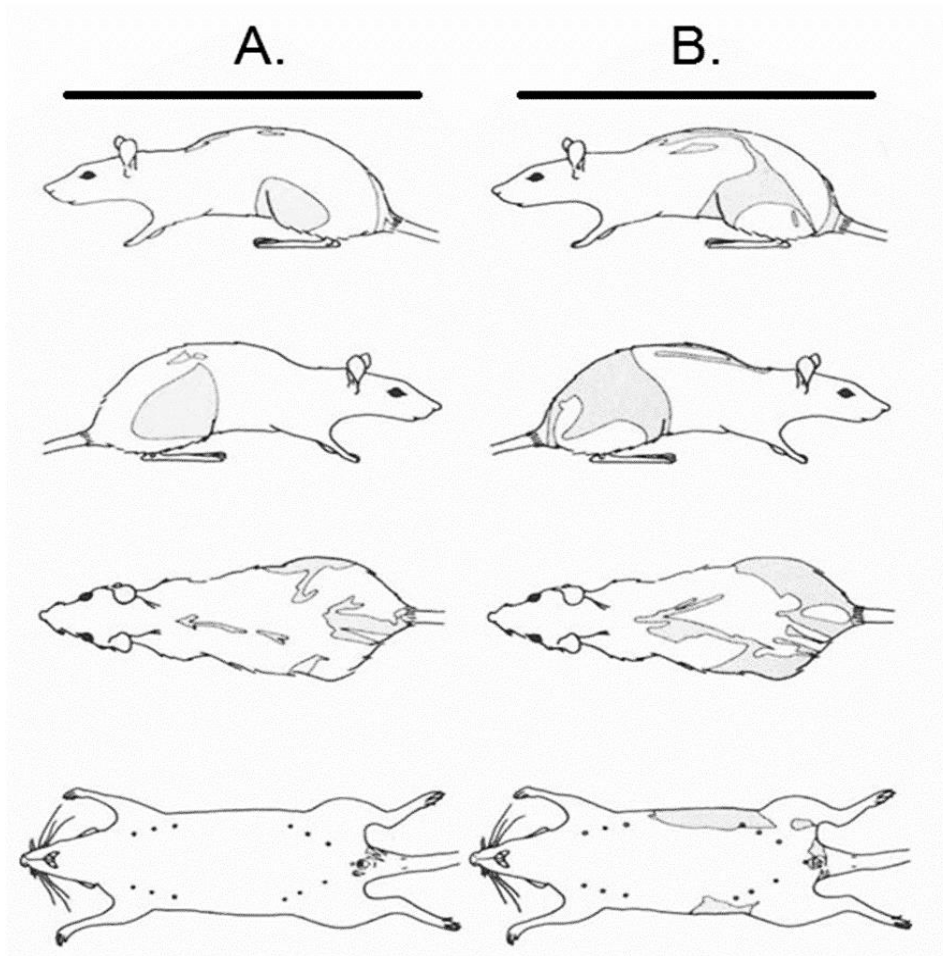


Figura 5. Áreas cutáneas marcadas por el macho al montar a la hembra. Se representa de color grisáceo las zonas de la ratona hembra que son estimuladas por el macho para generar la postura de lordosis. Estas áreas son necesarias y suficientes para el reflejo de lordosis, la denervación elimina totalmente el reflejo de lordosis por la hembra y la denervación parcial disminuye severamente este reflejo. (A) Zona coloreada después de una sola intromisión; (B) la zona aumenta después de tres montas adicionales, una con envite pélvico y dos con intromisiones (Pfaff, 1980).

Se considera a un macho sexualmente experto, a aquel que después de cuatro series copulatorias alcanza la eyaculación durante un tiempo aproximado de 8 a 11 minutos, después de una serie de montas y de intromisiones. Seguida de una eyaculación se inicia un intervalo post-eyaculatorio de alrededor de 5 minutos y en el cual existe una inactividad sexual por parte de la pareja (Figura 6); (Snoeren et al., 2014).

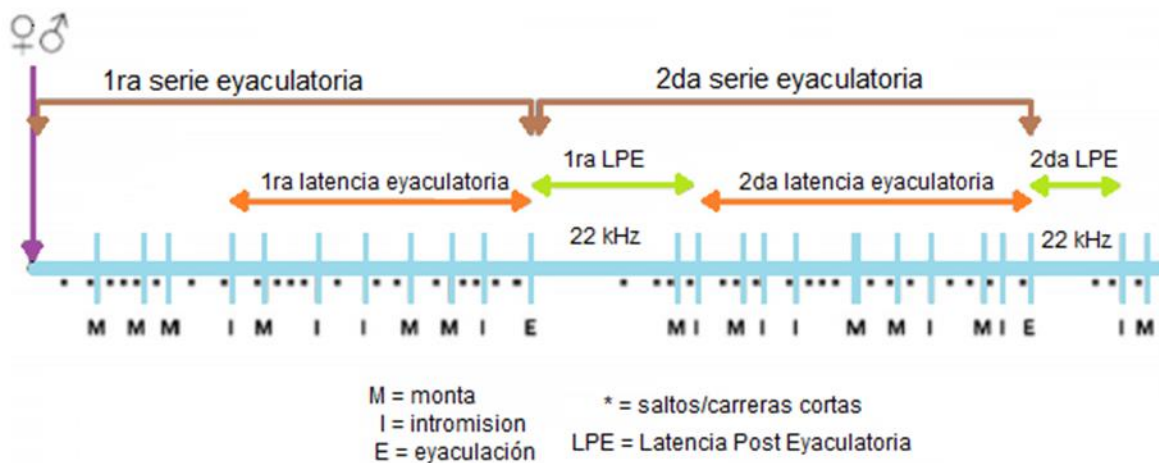


Figura 6. Ciclo de respuesta sexual en base a los comportamientos sexuales masculino y femenino. Existen varias series eyaculatorias en un tiempo de 30 minutos. La latencia de eyaculación es el tiempo entre la primera intromisión que realiza el macho hacia la hembra hasta que alcance la eyaculación. La LPE = latencia post-eyaculatoria es el tiempo continuo a una eyaculación hasta que se ejecuta una primera intromisión de la siguiente serie copulatoria. En este periodo refractario el macho emite vocalizaciones de 22 kHz. La hembra realiza conductas proceptivas entre cada intervalo conductual del macho. Modificado de Snoeren et al., 2014.

Finalmente, la estimulación del cuello uterino da como resultado un estado inhibitor (Hardy y DeBold, 1972). De hecho, las hembras suelen comenzar a rechazar a los machos después de recibir aproximadamente cuatro series eyaculatorias y muestran disminución de las solicitudes sexuales, saltos y carreras cortas. Este comportamiento

de rechazo hace más y más largos los intervalos entre intromisiones y se refleja en una "terminación estral" que depende de la cantidad de estimulación vagino-cervical recibida y la correspondiente activación del nervio pélvico que a su vez activa a el sistema glutamatérgico en el hipotálamo ventromedial, lo que de manera consecuente inhibe el comportamiento sexual apetitivo (Pfaus et al., 2016).

En algunos casos, incluso cuando existe una aparente saciedad sexual, un cambio de pareja a menudo puede conducir a un restablecimiento de la conducta sexual, este fenómeno es llamado 'el efecto Coolidge' (Tlachi-López et al., 2012; Ventura-Aquino et al., 2016).

1.6. ESTUDIO DE LA MOTIVACIÓN SEXUAL FEMENINA EN RATAS

En ambientes naturales y seminaturales la hembra tiene un rol activo durante el apareamiento, ya que ella regula la frecuencia de los contactos sexuales, espaciándolos en función de la intensidad del estímulo del clítoris y los estímulos vagino-cervicales que recibe del macho, este patrón conductual es conocido como 'cópula regulada por la hembra' (McClintock, 1984; Erskine, 1989; Blaustein y Erskine, 2002).

La cópula regulada por la hembra activa el componente apetitivo y neuroendocrino para facilitar el desarrollo de la recompensa sexual. La recompensa sexual es si misma puede definirse como un estado de placer en la cual las conductas sexuales que lo procedan se refuerzan positivamente (Erskine, 1989; Parada et al., 2010). La cópula regulada por la hembra también aumenta el éxito reproductivo (Coopersmith y Erskine, 1994).

En condiciones experimentales la cópula regulada por la hembra puede observarse en una arena de campo abierto grande, una arena con dos niveles (donde ella puede pasar de un nivel a otro), o en una arena dividida a la mitad por una pared de Plexiglas en cuya base hay un orificio del tamaño adecuado que permite el paso solo de la hembra, pero no del macho (Pfaus et al., 2016).

En la cópula regulada la hembra muestra diferentes latencias de regreso al compartimento del macho y esta latencia depende de la estimulación copulatoria recibida (monta<intromisión<eyaculación); (Erkine, 1985). La cópula regulada induce montas e intromisiones más vigorosas por parte del macho que resultan en estímulos del clítoris y de estímulos vagino-cervicales más intensos (Erskine et al., 1989).

Existe un paradigma que puede evaluar específicamente la motivación sexual de la rata hembra con más de un macho simultáneamente. Este es el paradigma de preferencia de pareja, que se utiliza comúnmente para evaluar los aspectos apetitivos de la conducta sexual (Paredes y Alonso, 1997; Paredes y Vázquez, 1999).

Las pruebas de preferencia de pareja permiten a la hembra elegir entre dos ratas estímulo; una pareja sexual viable (por ejemplo, un macho sexualmente experto) y una que no lo es (por ejemplo, una hembra), en general, las ratas en estro natural o inducido con estradiol seguido de progesterona, se aproximarán más a la pareja sexual viable, es decir, al macho experto (Clark et al., 2004). Además, la cópula regulada por la hembra con múltiples machos se asemeja más a las condiciones de apareamiento en su hábitat natural.

En el paradigma de la elección de pareja, la preferencia por un macho sobre otro se determina típicamente por cuánto tiempo una hembra pasa con un macho en particular. En general, una rata hembra pasará más del doble de tiempo con su pareja preferida que con su pareja no preferida, así como regresará más rápido a su pareja preferida que a su pareja no preferida después la estimulación sexual. Las ratas reciben más estimulaciones sexuales, realizan más visitas y presentan comportamientos más proceptivos a su pareja preferida que su pareja no preferida (Lovell et al., 2007, Zewail-Foote et al., 2009)

La preferencia hacia un macho puede evaluarse en una arena de tres compartimentos con machos estímulos colocados en los compartimentos laterales (Paredes y Vázquez, 1999), o bien se le permite elegir entre cuatro machos estímulo que están distribuidos en cuatro redondeles, la posición de los redondeles forma un compartimento común en el centro donde la hembra es colocada al inicio de la prueba y se le permite visitar a cada macho a través de un orificio en la base de cada redondel (Ferreira et al., 2005). Estos aparatos son usados para medir los mecanismos motivaciones y consumatorio de la conducta sexual (Ventura y Paredes, 2016).

Si las hembras son probadas en cámaras pequeñas que no permiten un ritmo eficiente, es más probable que muestren respuestas defensivas como patadas o peleas para hacer cumplir intervalos más largos entre cada interacción sexual. También tienen menos probabilidades de quedar preñadas (Frye y Erskine, 1990).

1.7. IMPACTO DEL CUIDADO MATERNO Y EL ESTRÉS SOBRE LA CONDUCTA SEXUAL EN HEMBRAS

Los mecanismos reproductivos de la rata hembra pueden sufrir alteraciones desde el desarrollo del sistema neuroendocrino, que puede ser afectado por el desempeño de la madre en la gestación, el parto y la lactancia. La calidad del cuidado materno determina algunas características fenotípicas de su descendencia (Meaney, 2001; Cameron et al., 2005 y 2008).

El contacto social temprano entre la madre y su descendencia participa en el desarrollo neuroendocrino y el comportamiento reproductivo en la edad adulta (Hofer, 1978).

Se ha observado que la frecuencia de lamidos y de aseo ano-genital que realiza la madre hacia la cría en la primera semana de vida altera las funciones reproductivas de la rata hembra adulta. Este fenómeno se ha estudiado en la cepa Long-Evans (Cameron et al. 2008) y en la cepa Wistar (Uriarte et al. 2007), distinguiéndose dos tipos de ratas que recibieron frecuencia de lamidos y aseo ano-genitales diferentes llamadas de altos lamidos y aseo, y bajos lamidos y aseo.

En la cepa Wistar se ha observado que si se manipula experimentalmente a través de la separación de las crías de su madre se puede lograr que ella incremente los lamidos a estas crías, en consecuencia, las hembras al llegar a la edad adulta presentan frecuentes ciclos estrales anovulatorios y una disminución de la receptividad sexual (Gomes et al., 2005 y 2006).

En ratas hembras Sprague-Dawley, la separación materna prolongada en el periodo postnatal temprano de baja respuesta al estrés no produce cambios morfológicos en los genitales, en el inicio de la pubertad que es determinado por la apertura vaginal, ni en su ciclo estral, pero si causa alteraciones en el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal, ya que se ha visto que los niveles séricos de corticosterona, un tipo de glucocorticoide liberado por la glándula adrenal, no regresa a sus niveles basales dos horas después de un proceso estresante (Rhees et al., 2001).

La activación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal por diferentes tipos de estresores como cambios inmunes e inflamatorios, estrés psicogénico, hipoglucemia inducido por insulina, desencadena cambios conductuales y fisiológicos que mejoran la adaptabilidad del organismo e incrementan sus oportunidades de supervivencia (Ferin, 2007). Sin embargo, dicha activación y sus hormonas, en lo individual afecta el funcionamiento reproductivo de la hembra a través de mecanismos directos que bloquean la expresión conductual del estro, o bien indirectamente alterando la secreción de la hormona liberadora de gonadotropina, la secreción de gonadotropinas (hormona luteinizante y hormona folículo estimulante) y funcionamiento gonadal (liberación de esteroides sexuales ováricos); (Magariños y Pfaff, 2016).

En respuesta a eventos estresantes la hormona liberadora de corticotropina, es liberada en la región parvocelular del núcleo paraventricular hipotalámico, el núcleo medial y central de la amígdala y el núcleo del lecho de la estría terminal (Swanson et al. 1983), teniendo efecto sobre el eje hipotálamo-hipófisis-ovarios, antagonizando no solo el inicio de la pubertad, sino retardando la liberación de hormona luteinizante debido a la inhibición que ejerce sobre las neuronas que sintetizan a la hormona

liberadora de gonadotropina. Y si no se da el pico de la hormona luteinizante no es posible la ovulación y la subsecuente secreción de progesterona, hormona importante para la expresión de la conducta sexual (Magariños y Pfaff, 2016).

El aislamiento social es un tipo de estresor que reduce la expresión génica de receptores a oxitocina y como consecuencia una disminución de la intensidad de la lordosis (Pournajafi-Nazarloo et al., 2013), ya que se ha demostrado que la oxitocina aumenta la tasa de disparo de las neuronas hipotalámicas ventromediales reguladoras de la conducta de lordosis (Kow et al., 1991).

2. Antecedentes

A partir de la cepa Sprague-Dawley (SD) se obtuvieron por cruzamientos endogámicos (hermanos con hermanas) dos sublíneas de ratas las cuales difieren en su frecuencia de bostezo espontáneo, la primera con una media de 20 bostezos por hora, las cuales fueron llamadas de alto bostezo (HY, de sus siglas en inglés High Yawning), y las ratas de bajo bostezo (LY, de sus siglas en inglés Low-Yawning) con una media de tan sólo 2 bostezos por hora (Urbá-Holmgren et al. 1990).

El bostezo es una conducta estereotipada ya que es una pauta de acción fija y se caracteriza por la apertura amplia de la boca que es acompañado por una larga inspiración seguida de una expiración corta (Hoizet, 1958; Provine, 1986). Todas las hipótesis que explican el posible papel fisiológico del bostezo, tienen en común que el bostezo regula una determinada función corporal, por lo cual se le considera como un sistema homeostático (Guggisberg et al., 2010).

Los picos de bostezo espontaneo ocurren en la transición luz-oscuridad (Anías et al. 1984). Cuando las ratas son adaptadas a vivir bajo luz constante y alimentadas *ad libitum*, la conducta de bostezo presenta varios picos durante las 24 horas (Holmgren et al., 1991).

Varios ritmos circadianos tienden a desaparecer bajo una tenue luz constante prolongada por más de un mes. En las ratas HY, la presentación de comida o disponibilidad de agua muestra una mejor sincronización del ciclo circadiano en comparación al ciclo luz-oscuridad (Holmgren et al., 1991). Los estresores impredecibles como los choques eléctricos en las patas de las ratas que no inducen

vocalizaciones audibles acoplados a una chicharra incrementa la frecuencia de bostezo (Moyaho y Valencia, 2010).

En estudios realizados en el laboratorio se ha mostrado que las ratas HY presentan una desorganización en el despliegue de conductas altamente estereotipadas como son: el aseo, la conducta materna, y la conducta sexual masculina. En términos generales las ratas HY pueden calificarse de individuos muy activos, que continuamente interrumpen lo que hacen; y las ratas LY como menos activas y que comúnmente completan sus conductas (Moyaho et al., 1995; Ugarte et al., 2011; Eguibar et al., 2016).

De entre las conductas asociadas fisiológicamente al bostezo, las erecciones del pene se correlacionan con la frecuencia de bostezo, de tal forma que los machos que bostezan más despliegan un mayor número de erecciones del pene. De manera importante más de la mitad de los bostezos se asocian a una erección del pene espontáneo, esto en una ventana temporal de ± 3 minutos (Holmgren et al. 1985).

La asociación entre bostezo y erecciones del pene se ha obtenido también cuando se inducen por la administración sistemática de drogas dopaminérgicas de la familia D2 como la apomorfina, el (-)3PPP o el quimpirole (Urbá-Holmgren et al., 1992; Eguibar et al., 2004) o de la oxitocina (Eguibar et al., 2015). Este efecto se ha podido observar y documentar gracias a la alta frecuencia de ambas conductas en las ratas HY (Collins y Eguibar, 2010).

El estudio de la correlación de la alta incidencia de erecciones del pene en las ratas HY llevó a la investigación del despliegue de la conducta sexual del macho, las cuales

muestran un déficit en el despliegue de esta conducta, pues, presentan largos intervalos inter-intromisorios y alcanzan la eyaculación en mayor tiempo, cuando son probadas con hembras SD ovariectomizadas y con estro inducido (Eguibar et al., 2016).

En otros estudios, se ha podido mostrar que los machos HY, a diferencia de los machos de las cepas Wistar y Sprague-Dawley, presentan una proporción más alta que no copulan (Portillo et al., 2010), a pesar de ser probados en repetidas ocasiones con hembras receptivas, a estos machos se les ha denominado 'no copuladores' (Anderson, 1936). Los machos no copuladores HY muestran alteraciones principalmente en los aspectos motivacionales (Portillo et al., 2010).

Con base a esto y sabiendo que la rata hembra es el iniciador más importante en el despliegue de la conducta sexual, el objetivo del presente trabajo fue el de caracterizar el desempeño sexual de las ratas hembras HY, LY y SD cuando son confrontadas con un macho sexualmente experto de las diferentes sublínea o con un macho SD. Así como determinar la expresión de la preferencia hacia un macho de acuerdo a su perfil genético.

3. JUSTIFICACIÓN

Debido a que los machos HY sexualmente expertos muestran un déficit en el despliegue de la conducta sexual con respecto a los machos LY y SD cuando son probados con ratas hembras SD ovariectomizadas con estro inducido, surge la pregunta si el rol que tiene la hembra en base a su perfil genético tiene un efecto sobre el desempeño sexual de dichos machos. Esto hace necesario evaluar el desempeño sexual de las ratas hembras de ambas sublíneas y SD bajo dos paradigmas de despliegue conductual sexual: una cópula *ad libitum* en una arena circular y una cópula regulada por la hembra en un sistema de elección del macho.

4. HIPÓTESIS

1. El desempeño sexual de las ratas hembras difiere de acuerdo al genotipo al que pertenece.
2. El desempeño sexual de la rata hembra y su intensidad de lordosis dependerá del tipo de macho con el que se esté apareando.
3. En pruebas de elección de la pareja, las hembras preferirán al macho de su propio grupo.

5. OBJETIVOS

5.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el desempeño sexual de las ratas hembras en estro inducido, con benzoato de estradiol seguido de progesterona, puestas con un macho sexualmente experto en dos condiciones diferentes: cópula *ad libitum* y prueba de elección de pareja.

5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar el desempeño sexual de la hembra HY, LY y Sprague-Dawley con machos sexualmente expertos de los tres grupos de animales.
2. Determinar la preferencia sexual de las hembras HY, LY y Sprague-Dawley cuando son confrontadas con machos de ambas sublíneas y Sprague-Dawley en un paradigma de selección socio-sexual.
3. Evaluar si el desempeño sexual de las hembras HY, LY y Sprague-Dawley es dependiente del genotipo del macho.

6. METODOLOGÍA

6.1. SUJETOS EXPERIMENTALES

Se emplearon 96 ratas hembra (32 SD, 32 HY y 32 LY) y 144 ratas macho sexualmente expertos (48 SD, 48 HY y 48 LY). En el momento de las pruebas experimentales las hembras tenían una edad de 100 ± 5 días con un peso de 232 ± 10 g, y los machos tenían una edad de 110 ± 10 días con un peso de 455 ± 15 g.

Las ratas fueron colocadas en un cuarto con un ciclo luz/oscuridad invertido 14:10, las luces se apagaban a las 1200 h, debido a que las pruebas se realizaron en el periodo de oscuridad, tiempo en que se da la mayor receptividad de la hembra. Las ratas hembra eran puestas al cuarto con ciclo luz/oscuridad invertido veinticinco días antes de las pruebas, tiempo necesario para la adaptación al ciclo invertido y la recuperación de la intervención quirúrgica realizada; y los machos diez días antes de las pruebas para la adaptación al ciclo invertido. El cuarto se mantuvo a una temperatura control ($22 \pm 1^\circ\text{C}$) y humedad relativa (40-60%).

Las ratas fueron colocadas en cajas de acrílico transparente con aserrín estéril (Beta chip, USA) en el piso, y colocadas en grupos del mismo genotipo y mismo sexo, con un máximo de 4 y mínimo de 2 ratas por caja, con libre acceso al agua y al alimento balanceado para roedores (Purina Mills 5001. EUA). Se realizó el cambio de aserrín, agua y comida, así como el lavado de las cajas de acrílico los días lunes, miércoles y viernes de 900 a 1100 h.

Todos los procedimientos descritos en este estudio estuvieron de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana 062 (NOM-062-200-ZOO-1999) para el cuidado y uso de

animales de laboratorio, que están de acuerdo con la Guía de Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos de América (de sus siglas en inglés NIH) para el cuidado y uso de animales de laboratorio (85-23); (Clarck, 2002), y fueron aprobados por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL).

6.2. CIRUGÍA

Las ratas hembra fueron bilateralmente ovariectomizadas 15 días antes de las pruebas conductuales. El procedimiento quirúrgico tuvo una duración de 25 minutos por rata, y se realizó entre las 1200 h y 1600 h.

Se anestesiaron a los sujetos por vía intraperitoneal con una solución de Ketamina (70mg/kg) más Xilacina (5mg/kg), la anestesia profunda se confirmó por la ausencia del reflejo corneal y la nula respuesta del reflejo a la punzada de la cola. Una vez anestesiados los animales se les rasuró el pelo del área media dorsal entre la última costilla paraventral y la rodilla, con una rasuradora veterinaria (Oster® Mod. 078005-140-013), después fueron colocados sobre la mesa de cirugía en posición decúbito ventral, véase la Figura 7A; el área rasurada se limpió con una solución de yodopovidona (Isodinde™) y se les hizo un abordaje unilateral por ambos flancos empleando tijeras de Mayo rectas para cortar por planos el tejido celular subcutáneo y el músculo, véase la Figura 7.

Los ovarios fueron localizados inmediatamente debajo de la incisión del músculo, embebidos en una masa de tejido adiposo, se retiró el tejido adiposo de la cavidad y se ligó con seda “000” a la altura del oviducto, se cortaron y extrajeron ovarios y la porción

distal de los oviductos. Las incisiones fueron cerradas por planos con puntos separados empleando catgut "0000" para el músculo y seda "000" para la piel.

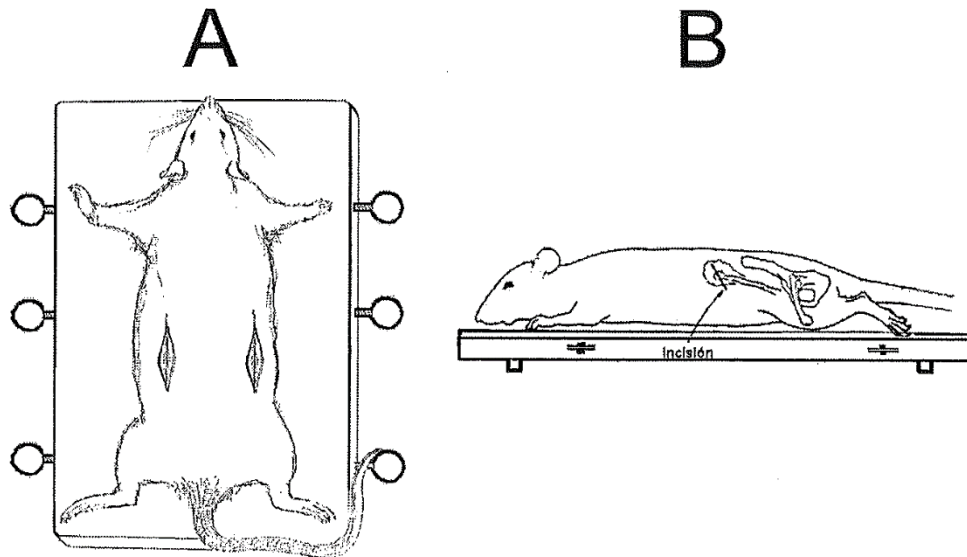


Figura 7. Incisión dorso-lateral. En A se ilustra la posición decúbito ventral de la rata previamente anestesiada, para realizar dos cortes paralelos a la línea media correspondiente a la ubicación interna de los ovarios. En B se ilustra la vista lateral del lugar de la incisión y la ubicación de los ovarios dentro de la cavidad peritoneal con respecto de la cadera.

6.3. CUIDADO POSTOPERATORIO

Después de la cirugía los animales fueron colocados en jaulas individuales hasta que adoptaban un estado completamente ambulatorio. Las jaulas individuales permanecieron sobre una almohadilla de calor eléctrica con potencia de 30 Watts (UL® Mod. 7788-W). Los sujetos se mantuvieron bajo observación directa cada 5 o 10 minutos hasta que tuvieran la habilidad para incorporarse sobre sus cuatro patas después de haber sido colocados en decúbito ventral.

Inmediatamente después de la cirugía, los sujetos recibieron vía subcutánea solución salina (1mL) y solución glucosada (1mL), con la finalidad de hidratarlos. También se administró por vía intramuscular, para aliviar el dolor postoperatorio, un analgésico no esteroideo con actividad antiinflamatorio y antipirética, Flunixin Meglumine (2.5 mg/Kg), una vez terminada la cirugía y después cada 24 horas por dos días. Tres días seguidos, después de la cirugía, se les administró antibiótico por vía subcutánea, Lincomicina HCl (250 mg/Kg) más Espectinomicina Sulfato (500 mg/Kg); (Cheminova®), cada 24 horas.

Durante los cinco días posterior a la cirugía, todos los animales fueron examinados al menos una vez por día. La revisión diaria incluyó la observación de la incisión con la finalidad de encontrar inflamación y/o formación de abscesos en las heridas.

6.4. TRATAMIENTO HORMONAL

La receptividad de las hembras fue inducida con la administración vía subcutánea de 5µg de benzoato de estradiol (Sigma®) y 44 horas después 1 mg de progesterona (Sigma®), 4 horas antes de la realización de las pruebas. Se utilizó como vehículo aceite de oliva extra virgen en un volumen de 0.1 mL/dosis.

6.5. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Las pruebas de conducta sexual se realizaron en el cuarto con el ciclo luz/oscuridad invertido, en el segundo tercio del periodo oscuro bajo una tenue luz roja, proporcionada por un foco de 60 Watts. Cada sesión de cópula se videograbó con una cámara SONY® HDR-PJ260V por 30 minutos.

6.5.1. EXPERIMENTO 1. PRUEBA DE CÓPULA AD LIBITUM

Para esta prueba se utilizó una arena circular de Plexiglás (50 cm de diámetro y 60 cm de altura) colocada sobre un triplay de madera el cual estuvo tapizado con aserrín estéril (Beta chip, USA), como se ilustra en la Figura 8.



Figura 8. Arena circular de acrílico transparente. La arena mide 50 cm de diámetro y 60 cm de alto. En este espacio se registró por 30 minutos la conducta sexual presentada por las ratas hembra de las diferentes sublíneas y la SD evaluadas con un macho sexualmente experto.

Primero se colocó a la rata macho dentro de la arena circular por un periodo de cinco minutos para su adaptación a las condiciones del experimento, después se introdujo a una hembra sexualmente receptiva. En la tabla 1 se representa la combinación hembra-macho y el número de grupos obtenidos.

Grupo	Hembra	Macho
1	High Yawning	High Yawning
2	High Yawning	Low Yawning
3	High Yawning	Sprague-Dawley
4	Low Yawning	High Yawning
5	Low Yawning	Low Yawning
6	Low Yawning	Sprague-Dawley
7	Sprague-Dawley	High Yawning
8	Sprague-Dawley	Low Yawning
9	Sprague-Dawley	Sprague-Dawley

Tabla 1. Binomio hembra-macho. Se representa los nueve grupos de combinaciones entre las hembras y los machos. Se usará el código de colores que a continuación se describe para indicar en próximas figuras el tipo de rata. De color rojo marrón (●) se representa a las High Yawning, el color amarillo (●) indica a las Low Yawning y el color azul (●) muestra a las Sprague-Dawley.

Durante la prueba se observó y registró la frecuencia de conductas proceptivas y agresivas. Se calcularon los índices de receptividad que presentaron las ratas hembra durante las diez montas que realizaron los machos.

Los índices de receptividad sexual incluyeron el coeficiente e intensidad de lordosis.

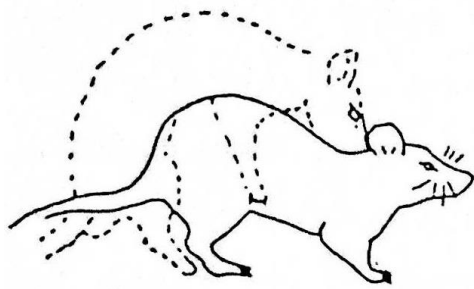
$$\text{Coeficiente de lordosis} = \frac{\text{número total de respuestas de lordosis}}{10 \text{ montas}} \times 100$$

La intensidad del reflejo de lordosis se evaluó de acuerdo a la escala propuesta por Hardy y DeBold (1971); como se ilustra en la Figura 9, que califica como:

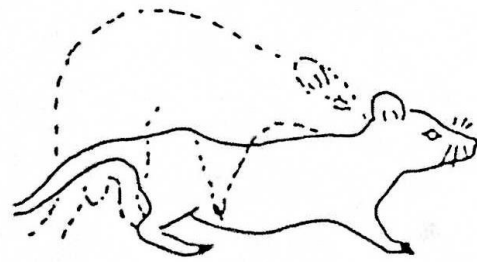
0. Sin lordosis.
1. Lordosis leve: tenue dorsiflexión de la región lumbar de la columna vertebral, cabeza y caderas levantadas ligeramente, y con la cola despegada del piso.
2. Lordosis moderada: dorso flexionado, la cabeza presenta un ángulo aproximado de 30° con la horizontal, las patas delanteras colocadas ligeramente hacia adelante y las patas traseras enderezadas rígidamente
3. Lordosis intensa: pronunciada flexión del dorso, la cabeza forma un ángulo con la horizontal de 45 ° o más,

La intensidad de la lordosis en cada prueba se representó como un promedio.

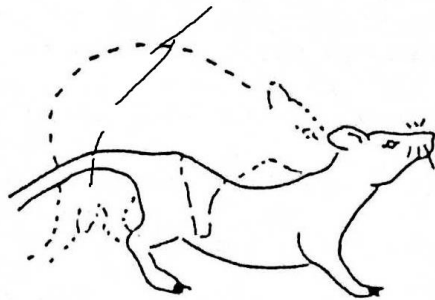
$$\textit{Intensidad de lordosis promedio} = \frac{\textit{suma de los puntos obtenidos}}{10 \textit{ montas}}$$



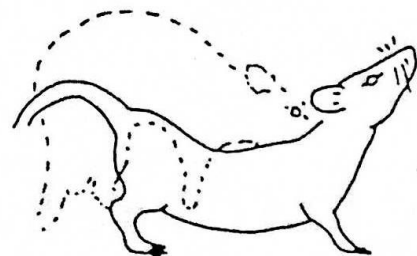
No hay lordosis



1 punto



2 puntos



3 puntos

Figura 9. Intensidad de la lordosis evaluada sobre una escala. Un punto para una lordosis leve, dos puntos para una lordosis moderada y tres puntos para una lordosis intensa. La posición de monta del macho está indicada por las líneas discontinuas, el macho presenta envites pélvicos (Hardy y DeBold, 1971).

6.5.2. EXPERIMENTO 2. PRUEBA DE ELECCIÓN DE PAREJA

La prueba de elección de pareja consistió en colocar en una arena cuatro cilindros de acrílico de 50 cm de diámetro por 60 cm de alto, dispuestos en forma circular de manera que sus paredes quedaron unidas entre sí, en la base de cada cilindro se ubicó una puerta que se comunicaba con el centro y fue del tamaño adecuado para que sólo las hembras pudieran pasar a través de ella, esta arena fue utilizada por primera vez por Ferreira-Nuño y colaboradores en 2005 (Figura 10).



Figura 10. Sistema de redondeles para evaluar la elección de pareja sexual. Se muestra la disposición de los 4 redondeles. Los tres tipos de machos fueron distribuidos aleatoriamente en cada redondel y hubo un redondel vacío para la huida de la hembra.

Un día antes de la prueba, se habituaron a las hembras en el sistema para evaluar la elección de pareja, por media hora se les permitió la exploración de los redondeles.

El día de la prueba, se ubicó de forma aleatoria a un macho por cilindro (1 SD, 1 HY y 1 LY) con las puertas cerradas por 10 minutos para la adaptación de los animales, posteriormente se abrieron las puertas y después fue introducida una hembra HY, o LY,

o bien SD, en el compartimento central. La hembra tuvo la posibilidad de elegir al macho con quien copular pasando a través de la puerta que estaba en la base de cada cilindro.

Con la ayuda del programa The Observer XT versión 12.0 (Noldus, Países Bajos) se registraron los saltos, las carreras cortas, los olfateos ano-genitales y las respuestas de lordosis, así como las conductas agresivas que presentó la hembra con cada macho, además se registró el número de visitas a cada redondel y el tiempo que permaneció con cada uno. Para determinar la preferencia por un macho en particular, se consideró como macho preferido aquel con el que la hembra permaneció más tiempo en lo que duró la observación de 15 minutos.

7. RESULTADOS

7.1. EXPERIMENTO 1. PRUEBA DE CÓPULA AD LIBITUM:

7.1.1. CONDUCTAS PROCEPTIVAS:

Para determinar las diferencias en las conductas copulatorias de las hembras hacia los tres tipos de machos HY, LY y SD se realizó un ANOVA de Kruskal-Wallis para cada genotipo de hembra. Para detectar diferencias entre las medias individuales se aplicó una prueba *post hoc* de Tukey. El nivel de significancia para todas las comparaciones fue de una $P < 0.05$. Se empleó el programa SigmaPlot versión 11.

El análisis estadístico mostró que el número de saltos que realizaron las hembras SD es mayor cuando son probadas con los machos SD respecto de los machos HY (Kruskal-Wallis, $H=6.580$, g.l.=2, $P < 0.05$; seguido de la prueba de Tukey, $P < 0.05$). Las hembras HY ejecutaron un menor número de saltos frente a los machos SD, incrementando este número con los HY y aumentando aún más al ser confrontadas con los machos LY (Kruskal-Wallis, $H=9.412$, g.l.=2, $P < 0.05$; seguido de la prueba de Tukey, $P < 0.05$). En el grupo de las hembras LY no se obtuvieron diferencias significativas en el número de saltos ejecutados al confrontarlas con los machos SD, HY y LY (Kruskal-Wallis, $H=5.434$, g.l.=2, $P > 0.05$; véase la Figura 11A).

En las hembras SD no se obtuvieron diferencias significativas en la conducta proceptiva de carreras cortas, frente a los tres grupos de machos (Kruskal-Wallis, $H=3.511$, g.l.=2, $P > 0.05$).

En las hembras HY se obtuvo una diferencia significativa en el número de carreras cortas realizadas con los machos SD respecto de los machos HY, un resultado similar se obtuvo con los machos LY respecto de los machos HY, y en los machos LY respecto de los SD (Kruskal-Wallis, $H=13.134$, g.l.=2, $P<0.05$; seguido de la prueba de Tukey, $P<0.05$).

Las hembras LY mostraron un número de carreras significativamente diferente cuando son evaluadas en presencia de machos SD respecto de machos HY (Kruskal-Wallis, $H=6.970$, g.l.=2, $P<0.05$; seguido de una prueba de Tukey, $P<0.05$; véase la Figura 11B).

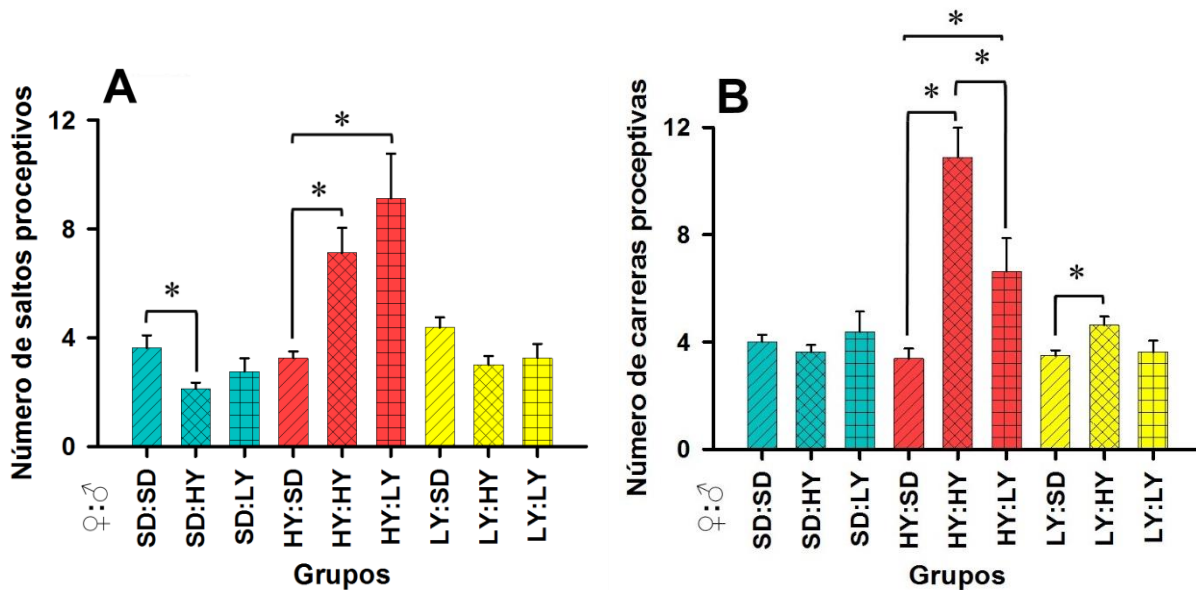


Figura 11. Conductas proceptivas de las ratas hembras ovariectomizadas con estrógeno inducido. A) Número de saltos y B) número de carreras cortas que presentan las hembras cuando son evaluadas con los diferentes machos sexualmente expertos. Los datos que se grafican son las medias \pm e.e.m. ($*P<0.05$).

7.1.2. RECEPTIVIDAD EN LOS TRES GRUPOS DE RATAS

Todas las hembras presentaron coeficientes de lordosis similares independientemente del macho con el que copularon (Kruskal-Wallis, $H=15.394$, g.l.=8, $P>0.05$; véase la Figura 12A). Las hembras SD mostraron una menor intensidad de lordosis al copular con machos HY respecto de lo obtenido con machos SD (Kruskal-Wallis, $H=12.810$, g.l.=2, $P<0.05$; seguido de la prueba de Tukey, $P<0.05$). Lo mismo se obtuvo con las hembras LY que muestran una intensidad de lordosis menor con machos HY respecto de machos SD (Kruskal-Wallis, $H=11.354$, g.l.=2, $P<0.05$; seguido de la prueba de Tukey, $P<0.05$; véase la Figura 12B). No obstante, en las hembras HY no se obtuvieron diferencias al probarse con los tres grupos de machos (Kruskal-Wallis, $H=4.772$, g.l.=2, $P>0.05$).

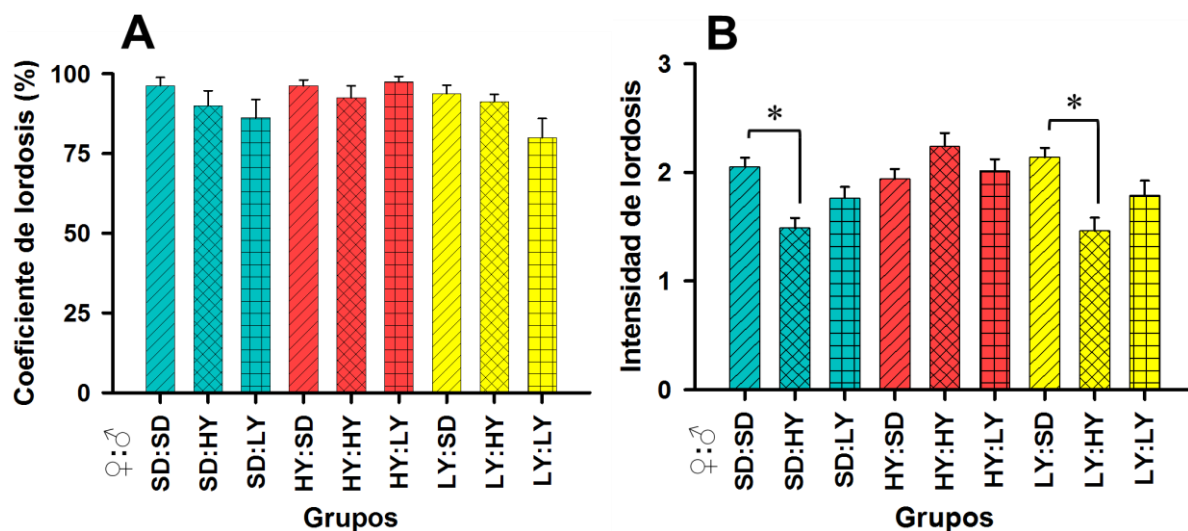


Figura 12. Conducta receptiva de las hembras ovariectomizadas en estro inducido con la administración secuencial de benzoato de estradiol más de progesterona. A) Coeficiente de lordosis y B) Intensidad de lordosis en ambas sublíneas y en la cepa Sprague-Dawley al ser evaluadas con un macho sexualmente experto. La gráfica representa las medias \pm e.e.m. (* $P<0.05$).

Para determinar el efecto del macho en la intensidad de lordosis de las hembras HY, LY y SD se realizó un ANOVA de Kruskal-Wallis para cada genotipo del macho seguido de una prueba de Tukey, se estableció el valor de significancia de $P < 0.05$. La intensidad de lordosis fue similar entre las hembras HY, LY y SD confrontadas con los machos SD (Kruskal-Wallis, $H=2.073$, g.l.=2, $P > 0.05$). Las intensidades de lordosis no difieren entre los tres grupos de hembras evaluadas con los machos LY (Kruskal-Wallis, $H=2.073$, g.l.=2, $P > 0.05$). Las hembras HY tienen una intensidad de lordosis mayor en comparación con las hembras de los otros dos grupos, al ser evaluadas con un macho HY (Kruskal-Wallis, $H=11.480$, g.l.=2, $P < 0.05$; seguido de la prueba de Tukey, $P < 0.05$; véase la Figura 13).

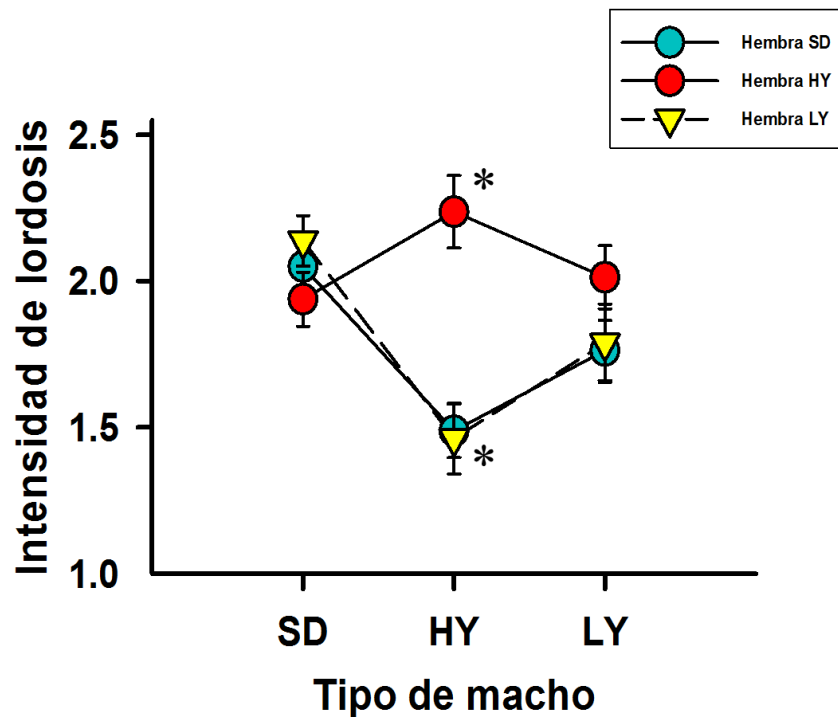


Figura 13. Intensidades de lordosis de las diferentes hembras frente a los machos sexualmente expertos SD, HY y LY. Las hembras HY muestran una intensidad de lordosis mayor en comparación con las hembras SD y LY cuando son confrontadas con los machos HY sexualmente expertos. Los datos son la media \pm e.e.m. (* $P < 0.05$).

7.1.3. DISCUSIÓN. EXPERIMENTO 1

Los resultados obtenidos en condiciones de cópula *ad libitum* mostraron que las hembras evaluadas respondieron a los estímulos del macho con un coeficiente de lordosis promedio de 85%, con estos datos comprobamos que las hembras, previamente tratadas con benzoato de estradiol y progesterona, respondían adecuadamente, con la postura de lordosis, a las montas y las intromisiones que realizaron los machos, ya que coeficientes de lordosis de 80% o mayores comprende a hembras muy receptivas (Hardy y DeBold, 1971; Pfau et al., 2015). Al no obtener diferencias significativas de los coeficientes de lordosis entre los grupos de hembras, concluimos que la receptividad es independiente del macho (véase la Figura 12A). Este es un hallazgo importante ya que los distintos patrones encontrados en el desempeño sexual de los machos de ambas sublíneas, y en particular en los HY no dependen de la hembra (Eguibar et al., 2016).

La intensidad de la lordosis es otro índice usado comúnmente para medir la receptividad, nos permite determinar la magnitud de la lordosis como leve, moderada o intensa (Hardy y DeBold, 1971). Las intensidades de lordosis de las hembras SD y LY son dependientes del macho estímulo, pues ante un macho que presenta un déficit en el despliegue de su conducta sexual como es el caso de los machos HY, las intensidades de las lordosis obtenidas siempre fueron menores (véase la Figura 12B). Las hembras HY no son capaces de discriminar entre los distintos tipos de machos, ya que no existió diferencia significativa entre las intensidades de lordosis, probablemente debido a que su circuito neural del despliegue de la conducta sexual ha cambiado debido a que sus madres HY muestran un despliegue de su conducta materna diferente

con calidades de nido menores, presencia de reacarreos y acarreos atípicos y con tiempos menores de cuidado hacia sus crías (Ugarte et al., 2011).

Cameron y cols. (2008) han mostrado que los cuidados maternos en los primeros días de vida de las crías afectan sus sistemas neuroendocrinos, en particular la que regulan la conducta sexual femenina. Las hembras que recibieron, en la etapa neonatal, bajo lamido y aseo ano-genital de sus madres, presentaron en la edad adulta una alta intensidad de lordosis, con niveles séricos mayores de la hormona luteinizante y de la progesterona debido a que tienen un incremento en la retroalimentación positiva del estradiol sobre los niveles de la hormona liberadora de gonadotropinas, en el área preóptica media. También muestran un aumento del receptor a estrógenos tipo α , en el núcleo periventricular anteroventral, el cual regula a las neuronas que sintetizan a la hormona liberadora de gonadotropinas (Herbison, 2015). Por otra parte, las hembras que recibieron alto lamido y aseo ano-genital mostraron lo opuesto, bajas intensidades de lordosis. Pero si las hembras adultas de madres de bajos lamidos y aseo ano-genital son criadas por madres de altos lamidos y aseo ano-genital, estas crías mostraran en la edad adulta una receptividad sexual significativamente menor respecto de las crías cuidadas por madres de bajos lamidos y aseo ano-genital (Cameron et al., 2008).

De manera importante en nuestro estudio se obtuvo que las hembras HY, al ser evaluadas con los machos de ambas sublíneas, presentan variaciones significativas, en la proporción de conductas proceptivas que incluyen a los saltos y a las carreras cortas, en comparación con los otros dos grupos de hembras. Estos resultados implican que existen diferencias en el área preóptica que son las responsables de mediar las conductas proceptivas (Graham y Pfau; 2012), pero que las neuronas del núcleo

ventromedial del hipotálamo que median la lordosis (Pfaff, 1980), no varían entre ambas sublíneas y en las hembras SD. Es importante destacar que las conductas de solicitud, se expresan como un mecanismo para motivar a los machos a copular y se presentan en mayor frecuencia en la tarde del proestro.

7.2. EXPERIMENTO 2. PRUEBA DE ELECCIÓN DE PAREJA

7.2.1. CONDUCTAS PROCEPTIVAS

Cuando las hembras HY se exponen a un macho SD, éstas no realizan muchos olfateos del área ano-genital de su pareja a diferencia de cuando se encuentran con los otros machos (Kruskal-Wallis, $H=5.665$, g.l.=2, $P<0.05$; seguido de la prueba de Tukey, $P<0.05$). Las hembras SD no discriminaron entre los diferentes tipos de machos (Kruskal-Wallis, $H=0.380$, g.l.=2, $P>0.05$); tampoco lo hicieron las hembras LY (Kruskal-Wallis, $H=0.508$, g.l.=2, $P>0.05$; véase la Figura 14A).

Las hembras HY realizaron más saltos cuando se encontraban en el redondel del macho LY y menos en presencia de un macho SD (Kruskal-Wallis, $H=5.665$, g.l.=2, $P<0.05$; seguido de la prueba de Tukey, $P<0.05$). El número de saltos de las hembras SD no es diferente ante los diferentes tipos de machos evaluados (Kruskal-Wallis, $H=3.846$, g.l.=2, $P>0.05$). Lo mismo se obtuvo con las hembras LY que no difirieron en el número de saltos ante los diferentes tipos de machos (Kruskal-Wallis, $H=3.846$, g.l.=2, $P>0.05$; véase la Figura 14B).

Las ratas hembra HY ejecutaron más carreras cortas en presencia de un macho LY y disminuyeron su despliegue de carreras cortas en presencia de un macho SD (Kruskal-Wallis, $H=5.393$, g.l.=2, $P<0.05$; seguido de la prueba de Tukey, $P<0.05$); este

patrón no se obtuvo con las hembras SD (Kruskal-Wallis, $H=2.010$, g.l.=2, $P>0.05$), ni con las LY (Kruskal-Wallis, $H=0.730$, g.l.=2, $P>0.05$; véase la Figura 14C).

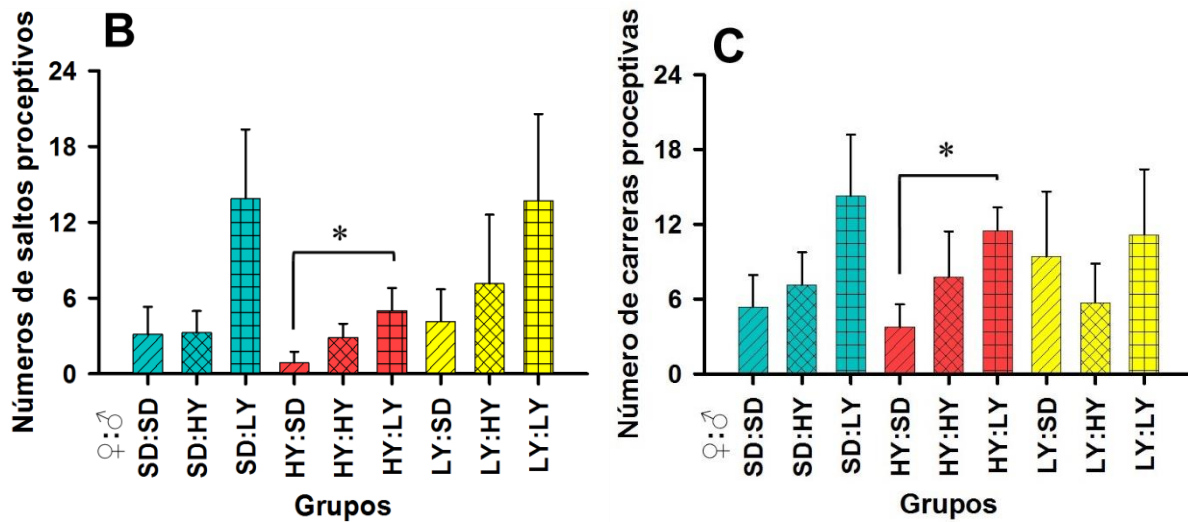


Figura 14. Conductas proceptivas de las ratas hembras cuando visitan a los diferentes tipos machos. A) Número de olfateos, B) Número de saltos y C) Número de carreras cortas que presentan las hembras en cada redondel. Los datos graficados son las medias \pm e.e.m (* $P<0.05$).

7.2.2. CONDUCTAS RECEPTIVAS

El análisis estadístico mostró que no se obtuvieron diferencias significativas en el número de respuestas de lordosis de las hembras respecto del tipo de macho (Kruskal-Wallis, $H=3.611$, g.l.=8, $P>0.05$).

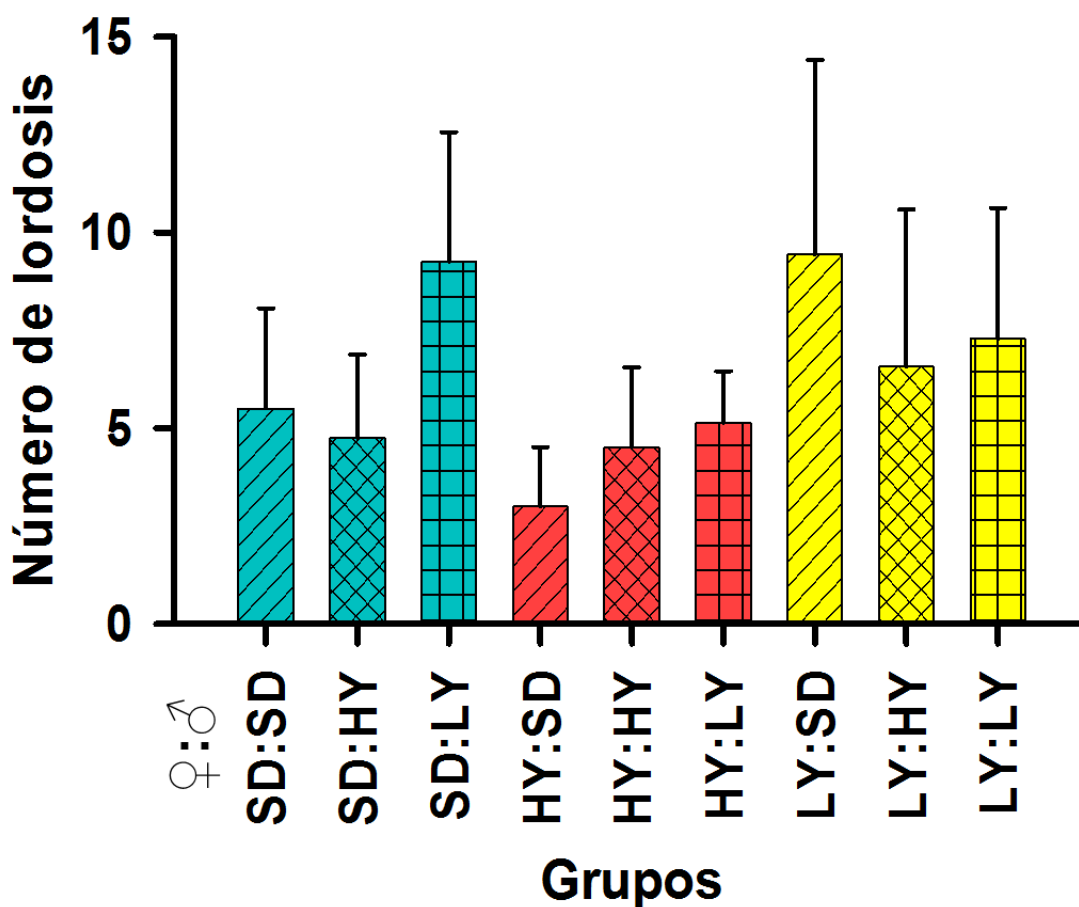


Figura 15. Conducta receptiva de las hembras ovariectomizadas con estró inducido ante los diferentes tipos de machos. El número de respuestas de lordosis ante las conductas de montas e intromisiones de los diferentes tipos de machos. Cada barra representa las medias \pm e.e.m.

7.2.3. PREFERENCIA POR ALGÚN TIPO DE MACHO

No se obtuvieron diferencias significativas en la frecuencia de entradas que realizó la hembra a los redondeles donde se encontraban los diferentes tipos de machos. El redondel vacío fue tomado como de seguridad para la hembra (Kruskal-Wallis, $H=10.433$, g.l.=11, $P>0.05$).

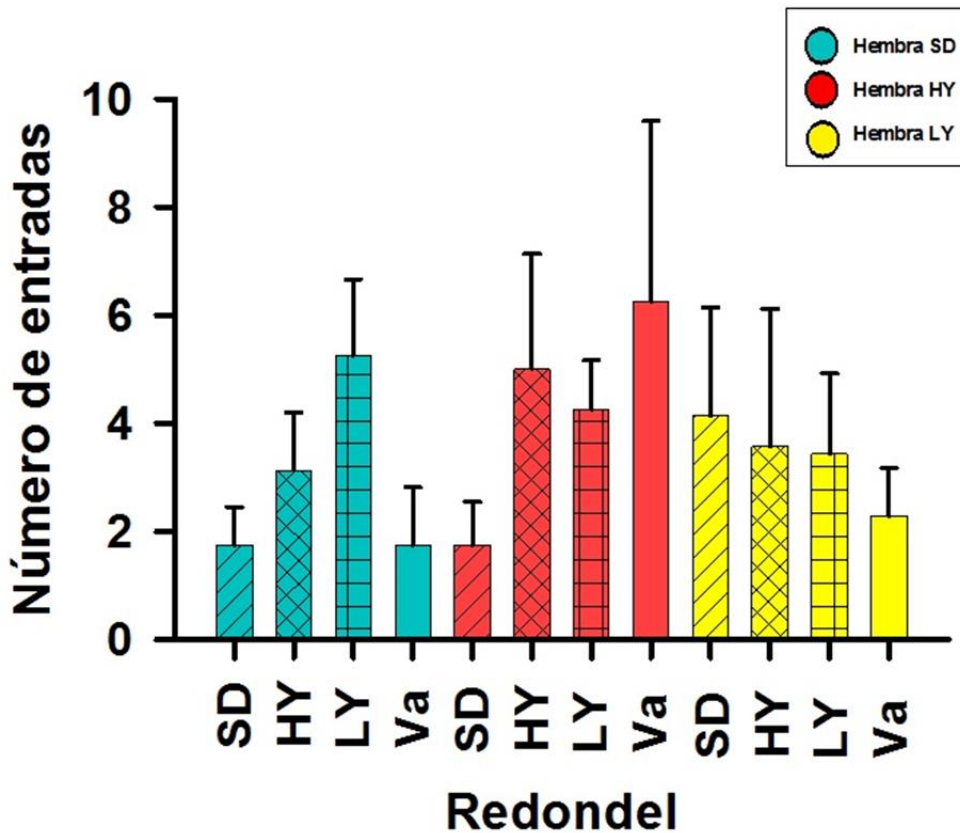


Figura 16. Frecuencia de visitas realizadas por las hembras a cada redondel. Cada barra representa las medias \pm e.e.m. (* $P<0.05$). Va: redondel de seguridad vacío.

El análisis estadístico mostró que en las hembras SD existe una diferencia significativa en el tiempo en que permanecen en el redondel donde se encontraban los machos LY respecto del redondel de seguridad vacío (Kruskal-Wallis, $H=5.343$, g.l.=3, $P<0.05$; seguido de la prueba de Tukey, $P<0.05$).

Las hembras HY permaneció más tiempo en el redondel del macho LY que en el redondel donde se encontraba el macho SD o en un redondel vacío (Kruskal-Wallis, $H=7.898$, $g.l.=3$, $P<0.05$; seguido de la prueba de Tukey, $P<0.05$). Al comparar a las hembras de las sublíneas con las SD no se obtuvo diferencia significativa (Kruskal-Wallis, $H=1.856$, $g.l.=3$, $P>0.05$).

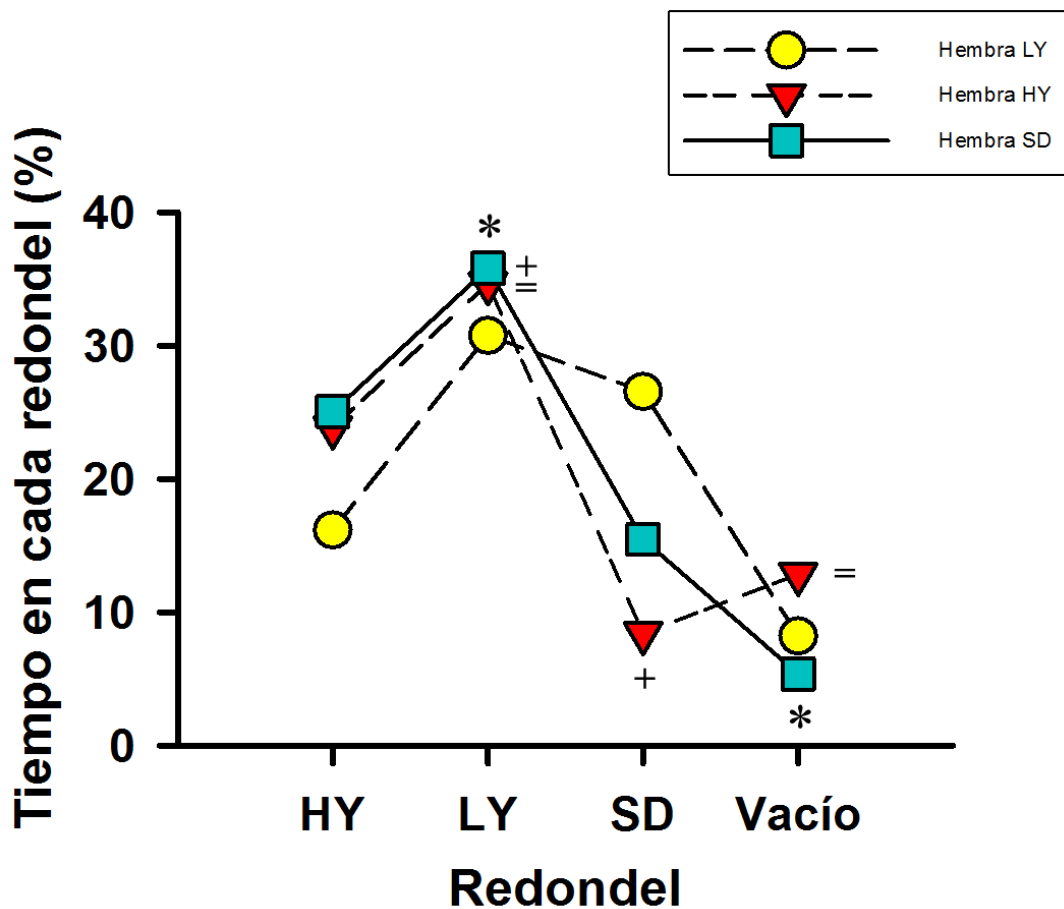


Figura 17. Porcentaje de tiempo que la hembra permaneció en cada redondel con distinto tipo de macho. Las hembras SD permanecieron más tiempo en el redondel del macho LY que en el redondel vacío ($*P<0.05$), mientras que las hembras HY persisten que las hembras SD más tiempo en el redondel del macho LY que el redondel del macho SD ($+P<0.05$), o en el redondel de seguridad vacío ($=P<0.05$).

7.2.4. DISCUSIÓN. EXPERIMENTO 2

En este experimento el paradigma de interacción sexual se basa en que el ritmo de la cópula es controlado por la hembra (Paredes y Vázquez, 1999). Este es un punto fundamental ya que los intervalos inter-intromisorios se alargan y el número de intromisiones necesarios para alcanzar la eyaculación decrecen, pero la tasa de preñez y el número de críos se incrementan (Winland et al., 2012).

En la prueba de elección de pareja se empleó un sistema diseñado por Ferreira-Nuño y cols. (2005). Este sistema usa cuatro arenas circulares de acrílico transparente, permite evaluar la competencia entre machos respecto de una hembra, la cual posee en todo momento un comportamiento seguro, lo que le permite regular la cópula.

Los resultados obtenidos muestran que los machos LY fueron elegidos en un promedio de 33% respecto de los otros machos e independientemente del genotipo de la hembra. Si consideramos los resultados de la cópula *ad libitum* en los cuales los machos LY mostraron una latencia de eyaculación intermedia respecto los machos HY y los SD (Eguibar et al., 2016), cuando se consideraron el número de episodios copulatorios, los intervalos inter-intromisorios y la latencia de eyaculación, mostradas en cópula *ad libitum* con hembras SD.

McLean y cols. (1972) evaluaron el efecto de la cepa de las hembras sobre la conducta sexual masculina de las ratas Sprague-Dawley, Long-Evans y Wistar. En este estudio obtuvieron nueve combinaciones, y se demostró que las ratas machos muestran una diferencia en la frecuencia de montas, intromisiones y eyaculaciones ante las distintas hembras. Las hembras Wistar eran menos efectivas como estímulo, ya que

provocaban a los machos significativamente menos respuestas sexuales, lo que no ocurría con las hembras Sprague-Dawley y Long-Evans. Concluyendo que la cepa de la hembra, como estímulo en el apareamiento, tenía un efecto sobre la capacidad de respuesta masculina.

De manera importante se han reportado cambios en el desempeño copulatorio en otros grupos de ratas seleccionadas en base a sus características conductuales como son las ratas Flinders sensibles y resistentes a drogas colinérgicas; las Roman de alta y baja evitación, o de distintos genotipos como las Lewis, las Fisher 344, las Wistar-Kyoto y las hipertensas (Hubierna-Cordero et al., 2015).

La información disponible en los diversos grupos de ratas mencionados anteriormente se basa en su desempeño sexual en condiciones de cópula *ad libitum*, donde es el macho el que regula y controla el ritmo copulatorio, pero se carece de datos donde la hembra sea la que determina el ritmo copulatorio. Es importante destacar que el número de intromisiones, los intervalos inter-intromisorios y la llegada al umbral eyaculatorio es dependiente del tipo de cópula, como se muestra en la Figura 18 (Sachs, 1976).

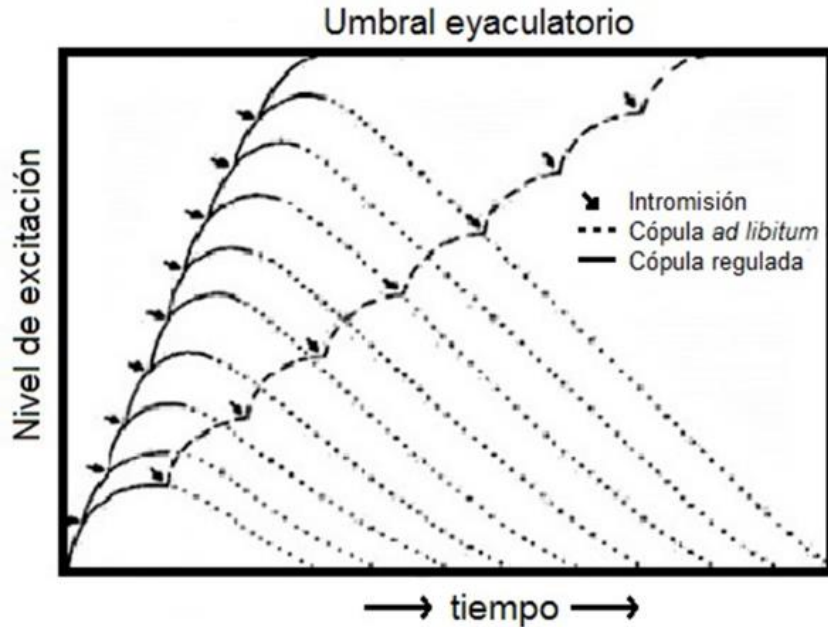


Figura 18. Representación del potencial de acumulación eyaculatorio. La línea continua representa el crecimiento de la excitación en condiciones de cópula *ad libitum*. Diez intromisiones fueron necesarias para que el macho alcanzara el umbral eyaculatorio. La línea discontinua representa el incremento de la excitación inter-copulatorio hasta alcanzar el umbral eyaculatorio en la cópula regulada por la hembra. Bajo estas circunstancias el umbral eyaculatorio se retrasó, con un menor número de intromisiones, de tan solo ocho (Sachs, 1976).

En la prueba de elección de pareja, se ha considerado como macho preferido aquel con el que la hembra permaneció más tiempo (Ferreira-Nuño et al., 2005; Lovell et al., 2007; Zewail-Foote et al., 2009; Winland et al., 2012), en nuestro estudio las hembras SD, HY y LY permanecieron más tiempo en el redondel del macho LY, por lo que fue considerado como el macho preferido.

Se ha demostrado que los machos que son preferidos por las hembras ejecutan más montas e intromisiones en comparación con los no preferidos (Lovell et al., 2007; Zewail-Foote et al., 2009; Winland et al., 2012). También se ha reportado que la rata macho de primera elección, además de ejecutar más interacciones sexuales, muerden

a la hembra intentando meterla al redondel, y con frecuencia alcanza la eyaculación (Ferreira-Nuño, 2005).

Al ser los machos LY los preferidos por las hembras podemos especular que es debido a que señales odoríferas o auditivas al emitir vocalizaciones ultrasónicas, este punto deberá abordado a futuro. El macho HY se encuentra en desventaja debido a que se ha reportado necesitan de más intromisiones para alcanzar la eyaculación cuando son probados con una hembra SD con estro inducido en una arena circular (Eguibar et al., 2016).

Para dar una conclusión asertiva sería necesario evaluar el patrón copulatorio del macho en la prueba de elección de pareja, así como medir las vocalizaciones ultrasónicas de 50 kHz que emiten los machos en estas condiciones, que puede ser clave en la elección tomada por la hembra (Snoeren y Ågmo, 2014).

8. DISCUSIÓN GENERAL

Al tratar de explicar el déficit copulatorio de las ratas HY y la alta proporción de machos no copuladores nos condujo a estudiar la conducta sexual de las ratas hembra HY, LY y SD, debido a que se ha demostrado que la rata hembra es un estímulo sexual incondicionado para el macho (Ágmo, 2003). Esta es la primera caracterización de la conducta sexual de las ratas hembra de ambas sublíneas.

Los resultados experimentales de esta tesis muestran claramente que el desempeño sexual del binomio hembra-macho es dependiente del contexto en que son probados. Se ha observado que en condiciones seminaturales o naturales las ratas muestran una conducta sexual poliándrica, dado que los roedores son competidores espermáticos (McClintock, 1984). Bajo condiciones seminaturales con tres machos y cuatro hembras con ciclos estrales naturales se ha mostrado que la actividad copulatoria se organiza en periodos de actividad sexual con duración de alrededor de dos horas, cuando solo una hembra entra en estro, seguido de periodos quiescentes también con duración de un par de horas (Chu y Ágmo, 2015). Un hallazgo importante de este estadio es que la conducta copulatoria se organiza en episodios copulatorios y que los intervalos intercopulatorios varían si la cópula se lleva a cabo con el mismo o con un macho diferente los cuales se alargan significativamente cuando el macho es diferente. Estas diferencias se pierden cuando dos o más hembras entran en estro de manera simultánea (Chu y Ágmo, 2016). En base a lo antes expuesto es claro que el contexto tiene un impacto en el desempeño copulatorio y en la organización del patrón copulatorio durante una serie eyaculatoria.

Las conductas paracopulatorias son fundamentales para promover una interacción sexual exitosa, esto es, motivar al macho a copular. Estas conductas son reguladas por el área preóptica media del hipotálamo (Graham y Pfaus; 2012), la cual ha sido mucho menos estudiada que el reflejo de lordosis que es mediada por el núcleo ventromedial del hipotálamo (Pfaff, 1980).

Es claro entonces que ambas sublíneas nos aportan ventajas para un ulterior análisis del rol de los distintos sistemas sensoriales como el olfatorio, considerando que la olfacción del área ano-genital es una parte fundamental de las conductas socio-sexuales (Ågmo y Chu, 2016), o de la audición a través de la emisión de vocalizaciones ultrasónicas de 50 KHz, que se han asociado con el despliegue de conductas proceptivas (Erskine, 1989). Debemos destacar que este es un aporte que sería abordado en investigaciones ulteriores de nuestro grupo con el sistema de registro Ultravox 3.0 (Noldus, Países Bajos) que nos permitirá correlacionar el despliegue conductual y registrar las emisiones de vocalizaciones durante la cópula regulada.

Debido a que todas las hembras prefirieron a los machos LY en el sistema de cuatro redondeles, proponemos que su latencia de eyaculación sea menor, ya que estudios anteriores demostraron que este sistema es un promotor para que los machos tengan latencias de eyaculación cortas y se ha propuesto como un modelo de eyaculación precoz, lo que ha permitido probar fármacos que retardan la eyaculación (Olayo-Lortia et al., 2014).

Cabe la pena destacar que no se había mostrado preferencia de distinto genotipo y/o fenotipo en este sistema de cuatro redondeles lo que lo hace original, como se

mostró las ratas de la sublínea LY son las más preferidas, lo que deberá ser analizado en una etapa ulterior, ya que tiene implicaciones desde el punto de vista de los mecanismos neurobiológicos de la selección sexual de la pareja para la cópula, de los efectos del cuidado materno y sobre todo de la regulación hipotalámica de la proceptividad.

9. CONCLUSIONES

1. Las hembras HY, en la cópula *ad libitum*, son más proceptivas que las SD y LY.
2. La intensidad de la lordosis de la hembra HY es independiente del macho con el que copula.
3. Las hembras SD y LY tienen menor intensidad de lordosis, cuando son expuestas a un macho HY.
4. En pruebas de elección de pareja las hembras eligen por igual a los tres tipos de machos.
5. En pruebas de elección de pareja, los tres tipos de hembras pasan más tiempo con el macho LY, por lo tanto, es considerado el macho preferido.
6. Las hembras realizan más conductas proceptivas con el macho preferido.

10. BIBLIOGRAFÍA

- Ågmo, A. (1999). Sexual motivation—an inquiry into events determining the occurrence of sexual behavior. *Behavioural Brain Research*, 105, 129-50.
- Ågmo, A. (2003). Unconditioned sexual incentive motivation in the male Norway rat (*Rattus norvegicus*). *Journal of Comparative Psychology*, 117, 3-14.
- Ågmo, A & Ellingsen, E. (2003). Relevance of non-human animal studies to the understanding of human sexuality. *Scandinavian Journal of Psychology*, 44, 293-301.
- Anderson, E. E. (1936). Consistency of tests of copulatory frequency in the male albino rat. *Journal of Comparative Psychology*, 21, 447.
- Andrews, W. W. & Ojeda, S. R. (1977) On the feedback actions of estrogen on gonadotropin and prolactin release in infantile female rats. *Endocrinology*, 101, 1517–1523.
- Baum, M. J. (2006). Mammalian animal models of psychosexual differentiation: When it ‘translation’ to the human situation possible? *Hormones and Behavior*, 50, 579-588.
- Beach, F. A. (1942). Analysis of the stimuli adequate to elicit mating behavior in the sexually inexperienced rat. *Journal of Comparative Psychology*, 33, 163-207.
- Beach, F. A. (1976). Sexual attractivity, proceptivity and receptivity in female mammals. *Hormones and Behavior*, 7, 105-138.
- Berkley, K. J., Robbins, A. & Sato, Y. (1993). Functional differences between afferent fibers in the hypogastric and pelvic nerves innervating female reproductive organs in the rat. *Journal of Neurophysiology*, 69, 533-544.
- Beyer, C., Morali, G., Larsson, K., Södersten, P. (1976). Steroid regulation of sexual behavior. *Journal of Steroid Biochemistry*, 7, 1171-1176.

- Bianco, S. D. (2012) A potential mechanism for the sexual dimorphism in the onset of puberty and incidence of idiopathic central precocious puberty in children: sex-specific kisspeptin as an integrator of puberty signals. *Frontiers in Endocrinology*, 40-54.
- Boling, J. L. & Blandau, R. J. (1939). The estrogen-progesterone induction of mating responses in the spayed female rats 1. *Endocrinology*, 25, 359-364.
- Bouret, S. G., Draper, S. J., Simerly, R. B. (2004). Formation of projection pathways from the arcuate nucleus of the hypothalamus to hypothalamic regions implicated in the neural control of feeding behavior in mice. *Journal of Neuroscience*, 24, 2797-27805.
- Blaustein, J. D. & Erskine, M. S. (2002). Feminine sexual behavior: cellular integration of hormonal and afferent information in the rodent forebrain. In *Hormones, Brain and Behavior* (pp. 139-213) Orlando: Academic Press.
- Cameron, N. M., Champagne, F. A., Parent, C., Fish, E. W., Ozaki-Kuroda, K., Meaney, M. J. (2005). The programming of individual differences in defensive responses and reproductive strategies in the rat through variations in maternal care. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 29, 843-865.
- Cameron, N. M., Fish, E. W., Meaney, M. J. (2008). Maternal influences on the sexual behavior and reproductive success of the female rat. *Hormones and Behavior*, 54, 178-184.
- Clark, D. (2002). National Academy of Sciences. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, *National Academy Press*, Washington DC.
- Coopersmith, C., Candurra, C., Erskine, M. S. (1996). Effects of paced mating and intromissive stimulation on feminine sexual behavior and estrus termination in the cycling rat. *Journal of Comparative Psychology*, 110, 176-186.

- Chinapen, S., Swann, J. M., Steinman, J. L., Komisaruk, B.R. (1992) Expression of c-fos protein in lumbosacral spinal cord in response to vaginocervical stimulation in rats. *Neuroscience Letters*, 145, 93-96.
- Christian, C. A., & Moenter, S. M. (2010). The neurobiology of preovulatory and estradiol-induced gonadotropin-releasing hormone surges. *Endocrine Reviews*, 31, 544-577.
- Daniels, D., Miselis, R. R., & Flanagan-Cato, L. M. (1999). Central neuronal circuit innervating the lordosis-producing muscles defined by transneuronal transport of pseudorabies virus. *Journal of Neuroscience*, 19, 2823-2833.
- Eguibar, J. R., Cortes, C., Toriz, C. G., Romero-Carbente, J. C., González-Flores, O., Fernández-Guasti, A. (2016). Differential organization of male copulatory patterns in high-and low-yawning-frequency sublimes versus outbred Sprague–Dawley rats. *Physiology & Behavior*, 153, 84-90.
- Erskine, M. S. (1985). Effects of paced coital stimulation on estrus duration in intact cycling rats and ovariectomized and ovariectomized-adrenalectomized hormone-primed rats. *Behavioral Neuroscience*, 99, 151-161.
- Erskine, M. S. (1989). Solicitation behavior in the estrous female rat: a review. *Hormones and Behavior*, 23, 473-502.
- Erskine, M. S. (1993). Mating-induced increases in FOS protein in preoptic area and medial amygdala of cycling female rats. *Brain Research Bulletin*, 32, 447-451.
- Feder, H. H. (1981) Estrous cyclicity in mammals. In *Neuroendocrinology of Reproduction: Physiology and Behavior* (pp. 279-348) USA: Springer.
- Feder, H. H. (1984). Hormones and sexual behavior. *Annual Review of Psychology*, 35, 165-200.
- Feng, T., Chu, M.X., & Zhang, Y. J. (2008). KISS-1/GPR54 genes and their role in reproduction. *Yi Chuan*, 30, 419-425.

- Ferin, M. (2007). Effects of stress on gonadotropin secretion. In G. Fink (ed) *Encyclopedia of Stress* (pp 283–288) Amsterdam: Elsevier.
- Ferreira-Nuño, A., Morales-Otal, A., Paredes, R. G., Velazquez-Moctezuma, J. (2005). Sexual behavior of female rats in a multiple-partner preference test. *Hormones and Behavior*, *47*, 290-296.
- Freeman, M. E. (1994). The Neuroendocrine Control of the ovarian cycle of the rat. In *The Physiology of Reproduction* (2nd edition, pp. 613-658). New York: Raven Press.
- French, D., Fitzpatrick, D., & Law, O. T. (1972). Operant investigation of mating preference in female rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, *81*, 226-232.
- Frye, C. A. & Erskine, M. S. (1990). Influence of time of mating and paced copulation on induction of pseudopregnancy in cyclic female rats. *Journals of Reproduction & Fertility*, *90*, 375-385.
- Glaser, J.H., Rubin, B.S., Barfield, R.J. (1983). Onset of the receptive and proceptive components of feminine sexual behavior in rats following the intravenous administration of progesterone. *Hormones and Behavior*. *17*, 18-27.
- Goldman, J. M., Murr, A. S., Cooper, R. L. (2007). The rodent estrous cycle: characterization of vaginal cytology and its utility in toxicological studies. *Birth Defects Research*, *80*, 84-97.
- Gomes, C. M., Donadio, M. V. F., Anselmo-Franci, J. A., Franci, C. R., Lucion, A. B., Sanvitto, G. L. (2006). Neonatal handling induces alteration in progesterone secretion after sexual behavior but not in angiotensin II receptor density in the medial amygdala: implications for reproductive success. *Life Sciences*, *78*, 2867-2871.
- Gomes, C. M., Raineki, C., De Paula, P. R., Severino, G. S., Helena, C. V. V., Anselmo-Franci, J. A., Lucion, A. B. (2005). Neonatal handling and reproductive function in female rats. *Journal of Endocrinology*, *184*, 435-445.

- Graham, M. D. & Pfaus, J. G. (2012). Differential effects of dopamine antagonists infused to the medial preoptic area on the sexual behavior of female rats primed with estrogens and progesterone. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 102, 532-539.
- Greene, G.L., Gilna, P., Waterfield, M., Baker, A., Hort, Y., Shine, J., (1986). Sequence and expression of human estrogen receptor complementary DNA. *Science*, 231, 1150–1154.
- Guarraci, F. A. & Clark, A. S. (2006). Ibotenic acid lesions of the medial preoptic area disrupt the expression of partner preference in sexually receptive female rats. *Brain Research*, 1076, 163–170.
- Guerra-Araiza, C., Villamar-Cruz, O., González-Arenas, A., Chavira, R., Camacho-Arroyo, I. (2003). Changes in progesterone receptor isoforms content in the rat brain during the oestrous cycle and after oestradiol and progesterone treatments. *Journal of Neuroendocrinology*. 15, 984-990.
- Hardy, D. F. & DeBold, J. F. (1971). Effects of mounts without intromission upon the behavior of female rats during the onset of estrogen-induced heat. *Physiology & Behavior*, 7, 643-645.
- Hardy, D.F. & DeBold, J.F. (1972). Effects of coital stimulation upon behavior of the female rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 78, 400-408.
- Herbison, A. E., (2015). Physiology of the Adult Gonadotropin-Releasing Hormone Neuronal Network. In: Plant, T. M., Zeleznik, A. J., editors. *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*. (pp. 399-467). Elsevier Inc; San Diego, CA, USA.
- Holmgren, B., Urbá-Holmgren, R., Trucios, N., Zermaño, M., Eguibar, J. (1985). Association of spontaneous and dopaminergic-induced yawning and penile erection in the rat. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 22, 31-35.
- Hofer, M. A. (1978). Hidden regulatory processes in early social relationships. In *Social Behavior* (pp. 135-166). US: Springer.

- Knobil, E. (1990). The GnRH pulse generator. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 163, 1721-1727
- Kow, L. M. & Pfaff, D.W. (1973). Effects of estrogen treatment on the size of receptive field and response threshold of pudendal nerve in the female rat. *Neuroendocrinology*, 13, 299-313
- Kow, L. M., Montgomery, M. O., Pfaff, D.W. (1979). Triggering of lordosis reflex in female rats with somatosensory stimulation: quantitative determination of stimulus parameters. *Journal of Neurophysiology*, 42, 195-202.
- Kow, L. M., Johnson, A. E., Ogawa, S., Pfaff, D. W. (1991). Electrophysiological actions of oxytocin on hypothalamic neurons, in vitro: neuropharmacological characterization and effects of ovarian steroids. *Neuroendocrinology*, 54, 526-535.
- Kuiper, G. G., Enmark, E., Peltö-Huikko, M., Nilsson, S., Gustafsson, J. A. (1996). Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93, 5925-5930.
- Lovell, J. L., Diehl, A., Joyce, E., Cohn, J., Lopez, J., & Guarraci, F. A. (2007). "Some guys have all the luck": Mate preference influences paced-mating behavior in female rats. *Physiology & Behavior*, 90, 537-544.
- Levine, J. E., Bauer-Dantoin, A. C., Besecke, L. M., Conaghan, L. A., Legan, S. J., Meredith, J. M., Strobl, F. J., Urban, J. H., Vogelsong, K. M., Wolfe, A. M. (1991). Neuroendocrine regulation of the luteinizing hormone-releasing hormone pulse generator in the rat. *Recent Progress in Hormone Research*, 47, 97-151.
- Magariños, A. M. & Pfaff, D. (2015). Sexual Motivation in the Female and Its Opposition by Stress. In *Behavioral Neuroscience of Motivation* (pp. 35-49) Springer International Publishing.
- Mani, S. K. & Oyola, M. G. (2012). Progesterone signaling mechanisms in brain and behavior. *Frontiers in Endocrinology*. 149-156.

- Mazucco, C. A., Walker, H. A., Pawluski, J. L., Lieblich, S. E., Galea, L. A. (2008). ER α , but not ER β , mediates the expression of sexual behavior in the female rat. *Behavioural Brain Research*, 191, 111-117.
- McClintock, M. K. (1984). Group mating in the domestic rat as a context for sexual selection: Consequences for the analysis of sexual behavior and neuroendocrine responses. *Advances in the Study of Behavior*, 14, 1-50.
- McLean, J. H., Dupeire III, W. A., & Elder, S. T. (1972). Strain differences in the mating behavior of Sprague-Dawley, Long-Evans, and Wistar male rats. *Psychonomic Science*, 29, 175-176.
- Meaney, M. J. (2001). The development of individual differences in behavioral and endocrine responses to stress. *Annual Reviews of Neuroscience*, 24, 1161-1192.
- Micevych, P. E., May Wong, A., Mittelman-Smith, M. A. (2015). Estradiol membrane-initiated signaling and female reproduction. *Comprehensive Physiology*, 5, 1211-1222.
- Micevych, P. & Christensen, A. (2012). Membrane-initiated estradiol actions mediate structural plasticity and reproduction. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 33, 331-341.
- Navarro, V. M., Castellano, J. M., Fernandez-Fernandez, R., Barreiro, M. L., Roa, J., Sanchez-Criado, J. E., Aguilar, E., Dieguez, C., Pinilla, L., Tena-Sempere, M. (2004a). Developmental and hormonally regulated messenger ribonucleic acid expression of KiSS-1 and its putative receptor, GPR54, in rat hypothalamus and potent luteinizing hormone-releasing activity of KiSS-1 peptide. *Endocrinology*, 145, 4565-4574.
- Navarro, V. M., Fernández-Fernández, R., Castellano, J. M., Roa, J., Mayen, A., Barreiro, M. L., Gaytan, F., Aguilar, E., Pinilla, L., Dieguez, M., Tena-Sempere, M. (2004b). Advanced vaginal opening and precocious activation of the reproductive axis by KiSS-1 peptide, the endogenous ligand of GPR54. *The Journal of Physiology (London)*, 561, 379-386.

Nelson, R. J. (1996). *Psicoendocrinología: las bases hormonales de la conducta*. Ariel.

Numan, M., Roach, J. K., del Cerro, M. C., Guillamon, A., Segovia, S., Sheehan, T. P., Numan, M. J. (1999). Expression of intracellular progesterone receptors in rat brain during different reproductive states, and involvement in maternal behavior. *Brain Research*, 830, 358-371.

Ojeda, S. R., Wheaton, J. E., Jameson, H. E., McCann, S. M. (1973). The onset of puberty in the female rat: changes in plasma prolactin, gonadotropins, luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH), and hypothalamic LHRH content. *Endocrinology*, 98, 630-638.

Ojeda, S. R., Andrews, W. W., Advis, J. P., White, S. S. (1980). Recent advances in the endocrinology of puberty. *Endocrine Reviews*, 1, 228-257.

Osterlund, M., Kuiper, G. G., Gustafsson, J. A., Hurd, Y. L. (1998). Differential distribution and regulation of estrogen receptor-alpha and -beta mRNA within the female rat brain. *Molecular Brain Research*, 54, 175-180.

Parada, M., Chamas, L., Censi, S., Coria-Avila, G., Pfaus, J. G. (2010). Clitoral stimulation induces conditioned place preference and Fos activation in the rat. *Hormones and Behavior*, 57, 112-118.

Paredes, R. G. & Vázquez, B. (1999). What do female rats like about sex? Paced mating. *Behavioural Brain Research*, 105, 117-127.

Paredes-Ramos, P., Pfaus, J. G., Miquel, M., Manzo, J., & Coria-Avila, G. A. (2011). Sexual reward induces Fos in the cerebellum of female rats. *Physiology & Behavior*, 102, 143-148.

Pfaff, D. W., (1980). Estrogens and brain function: neural analysis of a hormone controlled mammalian reproductive behavior. New York: Springer Verlag.

- Pfaff, D. W., Schwartz-Giblin, S., McCarthy, M. M., Kow, L. M. (1994). Cellular and molecular mechanisms of female reproductive behaviors. In *The Physiology of Reproduction* (pp. 107–220). New York: Raven Press.
- Pfaus, J. G., Jones, S. L., Flanagan-Cato, L. M., Blaustein, J. D. (2015). Female sexual behavior. In Plant, T. M., Zeleznik, A. J., editors. *Knobil and Neill's Physiology of reproduction* (4th edition, pp. 2287-2370). New York: Elsevier.
- Pfaus, J. G. & Heeb, M. M. (1997). Implications of immediate-early gene induction in the brain following sexual stimulation of female and male rodents. *Brain Research Bulletin*, 44, 397-407.
- Pfaus, J. G., Marcangione, C., Smith, W. J., Manitt, C., Abillamaa, H. (1996). Differential induction of Fos in the female rat brain following different amounts of vaginocervical stimulation: modulation by steroid hormones. *Brain Research* 741, 314-330.
- Pfaus, J. G., Scardiochio, T., Parada, M., Gerson, C., Quintana, G. R., Coria-Ávila, G. A. (2016). Do rats have orgasms? *Socioaffective Neuroscience & Psychology*, 6.
- Pfaus, J. G., Smith, W. J., Coopersmith, C. B. (1999). Appetitive and consummatory sexual behaviors of female rats in bilevel chambers: A correlational and factor analysis and the effects of ovarian hormones. *Hormones and Behavior*, 35, 224-240.
- Portillo, W., Camacho, F., Eguibar, J. R., Paredes, R. G. (2010). Behavioral characterization of non-copulating male rats with high spontaneous yawning frequency rate. *Behavioural Brain Research*, 214, 225-230.
- Powers, J. B. (1970). Hormonal control of sexual receptivity during the estrous cycle of rat. *Physiology & Behavior*, 5, 831-835.
- Prevot, V. (2015). Puberty in Mice and Rats. In Plant, T. M., Zeleznik, A. J., editors. *Knobil and Neill's Physiology of reproduction* (4th edition, pp. 1395-1439). New York: Elsevier.

- Rhees, R. W., Lephart, E. D., Eliason, D. (2001). Effects of maternal separation during early postnatal development on male sexual behavior and female reproductive function. *Behavioural Brain Research*, 123, 1-10.
- Sakuma, Y., & Pfaff, D.W. (1979a). Facilitation of female reproductive behavior from mesencephalic central gray in the rat. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 237, 278-284.
- Sakuma, Y., & Pfaff, D. W. (1979b). Mesencephalic mechanisms for integration of female reproductive behavior in the rat. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 237, 285-290.
- Sarkar, D. K., Chiappa, S. A., Fink, G., Sherwood, N. M. (1976). Gonadotropin-releasing hormone surge in pro-oestrous rats. *Nature*, 264, 461-463.
- Schwanzel-Fukuda, M., Bick, D., Pfaff, D. W. (1989). Luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH)-expressing cells do not migrate normally in an inherited hypogonadal (Kallmann) syndrome. *Molecular Brain Research*, 6, 311-326.
- Smith, M. S., Freeman, M. E., Neill, J. D. (1975). The control of progesterone secretion during the estrous cycle and early pseudopregnancy in the rat: prolactin, gonadotropin and steroid levels associated with rescue of the corpus luteum of pseudopregnancy. *Endocrinology*, 96, 219-226.
- Snoeren, E. M. & Ågmo, A. (2014). The role of odors and ultrasonic vocalizations in female rat (*Rattus norvegicus*) partner choice. *Journal of Comparative Psychology*, 128, 367-377.
- Snoeren, E. M., Veening, J. G., Olivier, B., Oosting, R. S. (2014). Serotonin 1A receptors and sexual behavior in female rats: A review. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 121, 43–52.
- Swanson, L. W., Sawchenko, P. E., Rivier, J., Vale, W. W. (1983). Organization of ovine corticotropin-releasing factor immunoreactive cells and fibers in the rat brain: an immunohistochemical study. *Neuroendocrinology*, 36, 165–186.

- Tlachi-López, J.L., Eguibar, J.R., Fernández-Guasti, A., Lucio, R.A. (2012). Copulation and ejaculation in male rats under sexual satiety and the Coolidge effect. *Physiology & Behavior*, 106, 626-630.
- Ugarte, A., Eguibar, J. R., Cortés, M. C., León-Chávez, B. A., Melo, A. I. (2011). Comparative analysis of maternal care in the high-yawning (HY) and low-yawning (LY) sublimes from Sprague-Dawley rats. *Developmental Psychobiology*, 53, 105-117.
- Urbá-Holmgren, R., Trucios, N., Holmgren, B., Eguibar, J. R., Gavito, A., Cruz, G., Santos, A. (1990). Genotypic dependency of spontaneous yawning frequency in the rat. *Behavioural Brain Research*, 40, 29-35.
- Uriarte, N., Breigeiron, M. K., Benetti, F., Rosa, X. F., Lucion, A. B. (2007). Effects of maternal care on the development, emotionality, and reproductive functions in male and female rats. *Developmental Psychobiology*, 49, 451-462.
- Veening, J. G., Te Lie, S., Posthuma, P., Geeraedts, L.M., Nieuwenhuys, R. A. (1987). Topographical analysis of the origin of some efferent projections from the lateral hypothalamic area in the rat. *Neuroscience*, 22, 537-551
- Ventura-Aquino, E., Baños-Araujo, J., Fernández-Guasti, A., Paredes, R.G. (2016). An unknown male increases sexual incentive motivation and partner preference: Further evidence for the Coolidge effect in female rats. *Physiology & Behavior*, 158, 54-59.
- Ventura-Aquino, E. & Paredes, R. G. (2017). Animal models in sexual medicine: the need and importance of studying sexual motivation. *Sexual Medicine Reviews*, 5, 5-19.
- Winland, C., Bolton, J. L., Ford, B., Jampana, S., Tinker, J., Frohardt, R. J., Guarraci, F.A., & Zewail-Foote, M. (2012). "Nice guys finish last": Influence of mate choice on reproductive success in Long-Evans rats. *Physiology & Behavior*, 105, 868-876.

- Xu, Z., Kaga, S., Mochiduki, A, Tsubomizu, J., Adachi, S., Sakai, T., Inoue, K., Adachi, A. A. (2012). Immunocytochemical localization of kisspeptin neurons in the rat forebrain with special reference to sexual dimorphism and interaction with GnRH neurons. *Endocrine Journal*, 59, 161-171.
- Yang, S. P. & Voogt, J. L. (2001). Mating-activated brainstem catecholaminergic neurons in the female rat. *Brain Research*, 894, 159-166.
- Yang, S. P. & Voogt J. L. (2002). Mating-activated nitric oxide-producing neurons in specific brain regions in the female rat. *Brain Research*, 950, 79–87.
- Zewail-Foote, M., Diehl, A., Benson, A., Lee, K. H., & Guarraci, F. A. (2009). Reproductive success and mate choice in Long-Evans rats. *Physiology & Behavior*, 96, 98-103.