

11261

7  
2ij  
7



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

CENTRO DE NEUROBIOLOGIA  
CAMPUS UNAM-UAQ, JURIQUILLA, QRO.

F.M.

"PREFERENCIA OLFATORIA Y SEXUAL EN RATAS MACHO NO  
COPULADORAS Y CONDUCTA SEXUAL HETEROTIPICA EN RATAS  
HEMERA CON KINDLING EN EL AREA PREOPTICA MEDIA O  
AMIGDALA".

T E S I S:

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE:  
M A E S T R O E N C I E N C I A S *Biomedicas*  
(NEUROBIOLOGIA)

P R E S E N T A :

275543

BIOL. WENDY PORTILLO MARTINEZ

DIRECTOR DE TESIS: DR. RAUL G. PAREDES GUERRERO

2000



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

ESTAS TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA

1970

Biología

## AGRADECIMIENTOS :

AL DR. RAUL G. PAREDES GUERRERO. POR TODO SU TIEMPO, DEDICACION Y PACIENCIA EN MI FORMACION ACADEMICA. POR HACER QUE EL TRABAJO DE INVESTIGACION SIEMPRE FUERA UNA ACTIVIDAD GRATA Y SATISFACTORIA. POR TODO SU APOYO GRACIAS.

A LOS MIEMBROS DE MI COMITE TUTORIAL : DRA. MARIA MAGDALENA GIORDANO, DR. PASCAL POINDRON, DRA. ESTHER TALAVERA Y DR. MARCO ANTONIO SANCHEZ POR SUS VALIOSOS COMENTARIOS EN EL TRABAJO ESCRITO DE LA TESIS.

AGRADEZCO ESPECIALMENTE AL DR. PASCAL POR TODO SU ENTUSIASMO Y DEDICACION EN LA REALIZACION DE ESTE PROYECTO. Y POR SER UNA DE LAS PERSONAS QUE ME MOTIVO A SEGUIR POR EL SENDERO DE LA INVESTIGACION.

AL M. en BE. EMILIO DOMINGUEZ, POR SU DIRECTA PARTICIPACION EN LOS EXPERIMENTOS DE KINDLING.

AL M.V.Z. FRANCISCO CAMACHO, POR SU ASISTENCIA TECNICA.

---

DEDICATORIA

A MIS PADRES:

GRACIAS POR SU AMOR, POR APOYARME EN TODOS MIS PROYECTOS,  
POR CREER SIEMPRE EN MI.

A OSCAR:

PORQUE ERES EL REGALO MAS MARAVILLOSO QUE ME DIO DIOS. POR  
SER MI ETERNO AMIGO, EJEMPLO DE SUPERACION, BONDAD Y OPTIMISMO.  
Y SOBRE TODO PORQUE ERES MI HERMANO.

A FABIAN

GRACIAS POR ACOMPAÑARME EN LOS DIA NO LABORABLES A  
REALIZAR MIS EXPERIMENTOS, HACIENDO QUE ESTOS FUERAN MENOS  
PESADOS. POR SACARME DE DUDAS MEDICAS, TECNICAS, ETC. Y POR  
AYUDARME A SUPERAR LOS TROPIEZOS.

A GUILLERMO, RAUL, NEPHTALI, ARTURO, FRANCISCO Y EMILIO.

GRACIAS POR SER MIS AMIGOS, POR COMPARTIR TANTOS MOMENTOS  
AGRADABLES JUNTOS.

---

RESUMEN .....	4
ABREVIATURAS .....	6
INTRODUCCION .....	8
CAPÍTULO 1. CONDUCTA SEXUAL DE LA RATA.	
1.1. - Descripción de la conducta sexual homotípica.....	11
1.2. - Hormonas y conducta sexual homotípica .....	16
Machos .....	18
Hembras .....	20
1.3. - Hormonas y conducta sexual heterotípica .....	23
CAPÍTULO 2. CONTROL NEURONAL DE LA CONDUCTA SEXUAL.	
2.1. - Descripción del sistema de proyección vomeronasal.....	26
2.2. - Sistema de proyección vomeronasal y Fos .....	37
CAPÍTULO 3. ENCENDIMIENTO ELECTRICO.	
3.1. - Descripción del encendido eléctrico (kindling) .....	39
3.2. - Kindling y efectos en la conducta .....	41
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	42
HIPOTESIS .....	43
OBJETIVOS .....	43
CAPÍTULO 4. METODOLOGÍA	
Sujetos .....	44
Estudios de preferencia olfatoria y sexual en ratas macho NC	
Grupos y diseño experimental .....	44

Pruebas de conducta sexual .....	46
Pruebas de preferencia olfatoria.....	46
Pruebas de preferencia sexual .....	47

Estudios de la conducta sexual heterotípica en ratas hembras ovariectomizadas con kindling en el APM o en la AMG.

Grupos y diseño experimental .....	48
Pruebas de conducta sexual .....	50
Establecimiento del kindling .....	51
Tinción con violeta de cresilo .....	53
Inmunohistoquímica contra Fos .....	54
Análisis estadístico .....	55

## CAPÍTULO 5. RESULTADOS

Estudios de preferencia olfatoria y sexual en ratas macho NC

Pruebas de conducta sexual .....	56
Pruebas de preferencia olfatoria .....	59
Pruebas de preferencia sexual .....	60

Estudios de la conducta sexual heterotípica en ratas hembras ovariectomizadas con kindling en el APM o en la AMG

Pruebas de conducta sexual (sin esteroides sexuales) .....	62
Pruebas de conducta sexual (tratamiento con PT) .....	63
Fos en el sistema de proyección vomeronasal .....	70

## CAPÍTULO 6. DISCUSIÓN

Estudios de preferencia olfatoria y sexual en ratas macho NC .....	72
Estudios de la conducta sexual heterotípica en ratas hembras ovariectomizadas con kindling en el APM o AMG. ....	76

## CAPÍTULO 7. CONCLUSIÓN

Estudios de preferencia olfatoria y sexual en ratas macho NC .....	79
Estudios del a conducta sexual heterotípica en ratas hembras ovariectomizadas con kindling en el APM o en la AMG. ....	80
REFERENCIAS .....	81

## RESUMEN

Existen ratas macho que no muestran conducta sexual (Anderson, 1936; Beach, 1942). La causa de esta característica se desconoce. Sin embargo, se sabe que no se debe a alteraciones peneanas, de umbral a la estimulación sexual (Stefanick y Davidson, 1987) ni a bajos niveles de la hormona testosterona (T) (Beach y Levinson, 1950; Whalen cols., 1961). Una posibilidad es que estos animales (machos no copuladores; NC) presenten deficiencias en el procesamiento olfativo de las claves quimiosensoriales sexualmente relevantes (feromonas). Esta hipótesis se evaluó empleando pruebas de preferencia olfatoria y sexual y cuantificando la actividad neuronal de las áreas involucradas en el procesamiento feromonal. En las pruebas de preferencia olfatoria se cuantificó si los machos NC prefieren el olor de una hembra sexualmente receptiva (estro) sobre el olor de una hembra no receptiva (anestro). En las pruebas de preferencia sexual, se valoró si los NC prefieren interactuar con hembras sexualmente receptivas o con machos expertos.

En las pruebas de preferencia olfatoria encontramos que tanto los animales capaces de presentar la conducta sexual, machos copuladores (C), ya sea intactos, gonadectomizados y gonadectomizados tratados con propionato de testosterona (PT) como los machos NC gonadectomizados y gonadectomizados tratados con PT prefieren el olor de las hembras sexualmente receptivas sobre el olor de las hembras no receptivas. Sin embargo, esta preferencia por el olor de las hembras sexualmente receptivas en los machos NC es menor que en los animales C, lo que sugiere posibles diferencias en la detección y/o procesamiento de olores sexualmente relevantes. Estas diferencias pueden ser muy importantes y reflejarse en la capacidad de los machos para ejecutar la conducta sexual. En las pruebas de preferencia sexual encontramos que mientras los machos C prefieren interactuar con las hembras receptivas, los animales NC sólo muestran esta preferencia después de un tratamiento con PT. Lo anterior indica que las deficiencias en los NC pueden deberse también a que no muestran una preferencia por las hembras sexualmente receptivas y al no tener esta preferencia no desarrollan la conducta sexual.

Las áreas neuronales involucradas en el procesamiento feromonal constituyen el sistema de proyección vomeronasal (SPVN). En el SPVN se encuentra el área preóptica

media (APM). Esta es una estructura muy importante en el control neuronal de la conducta sexual masculina. Nuestro grupo de trabajo demostró que la estimulación eléctrica (kindling) del APM de machos NC induce la conducta sexual (Paredes y col., 1990). Los mecanismos de activación de la conducta sexual inducidos por el kindling se desconocen hasta el momento. Un mecanismo propuesto es la modificación del umbral de la activación neuronal. Por lo anterior resulta interesante cuantificar mediante la técnica inmunohistoquímica de Fos la actividad neuronal del SPVN durante el procesamiento de las claves feromonales, comparar si es similar entre machos NC y C. Desgraciadamente no contamos con un número suficiente de machos NC. Por lo tanto, se usó un modelo alternativo que es la rata hembra ovariectomizada. Usando este modelo, evaluamos si el kindling en el APM o la amígdala (AMG) puede inducir la expresión de conducta sexual masculina al igual que en los machos NC o facilitarla mediante un tratamiento conjunto con PT. Nuestros resultados demuestran que el kindling en el APM o AMG de ratas ovariectomizadas no facilita la expresión de la conducta sexual masculina, pero sí se obtiene una facilitación en el patrón de monta cuando las ratas son tratadas adicionalmente con PT a una dosis baja de 2.5mg/kg y en el patrón de intromisión con la dosis de 5 mg/kg. Al igual que en los experimentos con machos NC, los efectos facilitatorios del kindling son específicos del área neuronal estimulada ya que se obtuvo una mayor facilitación en el grupo con kindling en el APM en comparación con el grupo con kindling en la AMG. Así mismo, encontramos que el kindling tanto en NC como en hembras ovariectomizadas facilita primordialmente los patrones de monta, los cuales se han considerado como aspectos motivacionales. Por lo tanto, consideramos que el modelo de la rata hembra ovariectomizada es útil en el estudio de los cambios que induce el kindling para que una conducta tan compleja como la sexual se pueda presentar. En el presente trabajo observamos que el kindling en el APM o en la AMG no modifica la actividad neuronal del SPVN.

## ABREVIATURAS

ABC	complejo avidin-biotina
ADN	ácido desoxirribonucleico
AMG	amígdala
AMGcm	amígdala cortico medial
AMGbl	amígdala basolateral
ANOVA	análisis de varianza
APM	área preóptica media
APV	área preóptica ventricular
AP-1	proteína-1
ARNm	ácido ribonucleico mensajero
AVT	área ventral tegmental
ATD	1,4,6-androstatriene-3,17-dione
BOA	bulbo olfatorio accesorio
C	ratas macho copuladoras
CL	coeficiente de lordosis
DAB	3'3-diaminobenzidina
DHT	dihydrotestosterona
EEG	electro encefalograma
E	estradiol
FE	falso estimulado
GABA	ácido gamaaminobutírico
HL	hormona luteinizante
IML	intensidad media de lordosis
IR-FOS	inmunoreactividad a Fos
NC	ratas macho no copuladoras
NCST	núcleo de la cama de la estria terminal
NVH	núcleo ventro medial del hipotálamo
OVN	órgano vomeronasal

---

P	progesterona
PD	post-descarga
PBS	solución amortiguadora de fosfatos
PT	propionato de testosterona
SNC	sistema nervioso central
SPVN	sistema de proyección vomeronasal
T	testosterona
TDL	tegmento dorsolateral

## INTRODUCCION

La expresión de la conducta sexual resulta de la interacción de factores fisiológicos, morfológicos, psicológicos, hormonales y neuronales. Cada uno de ellos ejerce un papel importante en el control de esta conducta; si alguno de ellos es alterado se puede generar una facilitación, déficit o impedimento de la conducta sexual tanto masculina como femenina.

Existen ratas macho las cuales no son capaces de presentar la conducta sexual (machos no copuladores, NC), estos animales resultan de sumo interés ya que representan un modelo natural para el estudio de los factores determinantes en el control de la conducta sexual masculina. Se han realizado pocos estudios en estos animales en lo referente a los mecanismos fisiológicos y endocrinos de la conducta sexual. Lo reportado en la literatura indica que las ratas NC no tienen deficiencias en sus mecanismos de erección peneana (Stefanick y Davidson, 1987) y aparentemente sus niveles hormonales de testosterona (T) son similares a los de los machos capaces de ejecutar la conducta sexual masculina (C) (Beach, 1942). Ya que al parecer la causa del déficit conductual del los machos NC no se debe a alteraciones fisiológicas ni hormonales, una posibilidad es que el sustrato neuronal involucrado en el control de la conducta sexual esté alterado. La estructura neuronal más importante en el control de la conducta sexual masculina es el área preóptica media (APM). Lesiones bilaterales del APM eliminan por completo la conducta sexual en la rata macho y otras especies de animales (revisión en Meisel y Sachs, 1994). Las ratas macho lesionadas en el APM no tienen deficiencias en sus mecanismos de eyacuación o erección (Heimer y Larson, 1966/1967; Lisk, 1968; Stefanick y Davidson, 1987), sus niveles plasmáticos de T permanecen sin cambios y aún más tratamientos con T no inducen la conducta sexual en estos animales (Stefanick y Davidson, 1987). Por otro lado, la estimulación eléctrica del APM en ratas machos facilita la expresión de la conducta sexual masculina, generando una reducción en el número de montas e intromisiones precedentes a la eyacuación, así como también una disminución en la latencia de eyacuación y el intervalo posteyaculatorio. Estos efectos facilitatorios se observan durante la estimulación eléctrica, por lo que se le ha denominado copulación asociada a la estimulación (Malsbury, 1971; Merari y Ginton, 1975). Otro tipo de estimulación eléctrica y que induce cambios

permanentes en el funcionamiento cerebral es el encendido eléctrico (kindling). El kindling consiste en la administración repetida de estímulos eléctricos subconvulsivos en ciertas estructuras cerebrales que dan como resultado una intensificación progresiva de la actividad focal culminando con crisis generalizadas (Goddard y col., 1969; McNamara, 1986; Racine, 1972). En nuestro grupo de investigación, se demostró que el kindling en el APM induce la conducta sexual en ratas macho previamente no copuladoras (Paredes y col., 1990). Puesto que la conducta de los animales NC es similar a la observada en los machos con lesiones en el APM y el kindling en el APM de machos NC induce la conducta sexual masculina, podría suponerse que las ratas NC tienen una lesión funcional en el APM. El APM además forma parte del sistema de proyección vomeronasal (SPVN) este sistema está involucrado en el procesamiento de claves quimiosensoriales sexualmente relevantes, por lo que participa en el control de la conducta sexual masculina y femenina (Commins y Yahr, 1984; Emery y Sachs, 1976) y en otras conductas como la materna (Fleming y col., 1979). Ya que los machos NC probablemente tienen una lesión funcional en el APM y esta área forma parte del SPVN, es posible que estos animales sean deficientes en la detección y/o interpretación de las señales quimiosensoriales sexualmente relevantes provenientes de una hembra receptiva y al no ser capaces de detectarlas no puedan ejecutar la conducta sexual. Para probar esta hipótesis se realizaron pruebas de preferencia olfatoria y sexual. En las de preferencia olfatoria se evalúa si las ratas son capaces de detectar y preferir el olor de una hembra sexualmente receptiva de una no receptiva, mientras que en las pruebas de preferencia sexual se valora si los animales prefieren interactuar con una hembra sexualmente receptiva o con un macho sexualmente experto.

Otros aspectos que nos interesan son los mecanismos mediante los cuales el kindling en el APM de machos NC induce la conducta sexual masculina. Una posibilidad es que el kindling genere cambios en la actividad neuronal, en la región estimulada y en las áreas con las que establece conexiones sinápticas. Ya que el APM forma parte del SPVN es posible que el kindling modifique la actividad neuronal de este sistema durante el procesamiento de las claves quimiosensoriales sexualmente relevantes que permiten a los machos detectar y preferir a las hembras sexualmente receptivas. Para evaluar esta posibilidad los animales con kindling en el APM se ponen a oler aserrín expuesto a secreciones vaginales de hembras en

estro o aserrín limpio y se cuantifica la actividad neuronal del SPVN durante el procesamiento de dichos olores. Para detectar cambios en la activación del SPVN ante claves quimiosensoriales sexualmente relevantes se cuantifica la activación de la proteína del gen de respuesta temprana, c-fos. La proteína Fos se ha utilizado como un marcador de actividad neuronal que ocurre en respuesta a una gran variedad de estímulos homeostáticos o sensoriales. Por ejemplo se han descrito incrementos altamente significativos en la inmunoreactividad de la proteína Fos (IR-FOS) en neuronas de la AMG, el núcleo de la cama de la estria terminal (NCST), el APM y el tegmento dorsolateral (TDL) de ratas macho con intromisiones con o sin eyaculación (Baum y Everitt, 1992). En nuestro grupo de trabajo se ha utilizado la inducción de la proteína Fos como un método para evaluar la respuesta del SPVN, en ratas macho y hembra a varios tipos de estímulos sexualmente relevantes (Revisión en Paredes y Baum, 1997).

Los estudios aquí propuestos nos permitirán evaluar si los machos NC son capaces de detectar y preferir a las hembras sexualmente receptivas (experimentos conductuales) y nos darán un primer acercamiento para tratar de explicar los cambios en la conducta sexual producidos por el kindling (experimentos de la cuantificación de Fos en el SPVN). En conjunto estos trabajos contribuyen al estudio del papel que desempeñan diferentes estructuras cerebrales y circuitos neuronales involucrados en el control y regulación de la conducta sexual.

## CAPÍTULO I. CONDUCTA SEXUAL DE LA RATA

### 1.1. - DESCRIPCION DE LA CONDUCTA SEXUAL HOMOTÍPICA

La conducta sexual de machos y hembras de cualquier especie es sexualmente dimórfica. Esto es que ciertas conductas están asociadas con un sexo y no con el otro (conductas copulatorias típicas). Cuando un animal despliega las conductas sexuales típicas de su sexo se dice que su conducta es homotípica, mientras que la conducta sexual heterotípica se refiere a la realización de conductas típicas del sexo contrario (Thornton, 1986). A nivel conductual, la expresión de la conducta sexual homotípica en los mamíferos tiene dos componentes: un componente precopulatorio o motivacional que lleva al sujeto a la búsqueda y al inicio de la interacción con la pareja sexual y un componente consumatorio o de ejecución el cual le permite llevar a cabo dicha interacción. Sobre estos dos componentes actúa un mecanismo modulador que puede inhibir la expresión de la conducta sexual en condiciones inapropiadas como aquellas que puedan poner en peligro a la pareja, como es la presencia de depredadores.

Las conductas sexuales precopulatorias pueden durar desde unos cuantos segundos hasta minutos u horas dependiendo de la especie y de la experiencia sexual previa. En las ratas estas conductas consisten básicamente en olfateo de la región perineal, exploración genital y aseo del compañero (Hlinák, 1986; Hlinák y col., 1987. Figura 1). Durante este período la hembra además despliega conductas de atracción como son el brincoteo, desplazamiento en zig-zag y movimientos repetidos de las orejas, para llamar la atención del macho. Durante este período los roedores tanto machos como hembras pueden emitir vocalizaciones ultrasónicas (Floody y Pfaff, 1967; Floody y col., 1977; Geyer y col., 1978; McIntosh y Barfield, 1980; Nyvy, 1983; Pomerantz y Clemens, 1981; Whitney y col., 1973). Dichos sonidos tienden a aumentar la excitación de la pareja y la propia excitación del animal emisor. Se ha observado que si la estimulación producida por el compañero durante la conducta precopulatoria no es la adecuada es muy probable que la copulación no se lleve a cabo (Sachs y Meisel, 1988). Por ejemplo se ha demostrado que los tratamientos farmacológicos que reducen la conducta precopulatoria, inhiben la conducta sexual (Paredes

y Agmo, 1989). Así mismo los trabajos de Hlinak y colaboradores (1986 y 1987) demuestran que la transición de la fase precopulatoria a la copulatoria es un aspecto importante no sólo de la potencia sexual temporal del macho sino también de su potencia sexual permanente; esta transición parece ser el momento clave en la interacción sexual.

La conducta copulatoria de la rata macho consiste en tres patrones conductuales altamente estereotipados (Figura 1), estos son :

- a) Montas.- En la monta el macho se posa sobre la parte posterior de la hembra y realiza una serie de movimientos pélvicos, no se presenta inserción peneana y su patrón de desmonta no es estereotipado. En ocasiones esta conducta puede ir seguida por acicalamiento genital.
- b) Intromisión.- La intromisión ocurre cuando durante una monta el pene se inserta en la vagina de la hembra. Además de exhibir inicialmente los movimientos propios de la monta, la desmonta difiere por tratarse de un movimiento pélvico intenso seguido por una brusca retirada, después de la cual el macho puede lamerse el pene.
- c) Eyaculación.- Se presenta después de un cierto número de intromisiones y se caracterizan por ser montas que terminan en movimientos repetidos de los miembros anteriores. La penetración es de una duración más larga y la desmonta del macho es muy lenta. La eyaculación es una fuerte expulsión de líquido seminal y espermatozoides desde el cuerpo del macho. La expulsión del esperma generalmente se acompaña por contracciones espasmódicas de la musculatura esquelética principalmente de los miembros anteriores y posteriores, así como de los músculos estriados de la región perineal, que incluyen al isquiocavernoso, bulbo esponjoso y esfínter anal. Después de la eyaculación el patrón de desmonta no es estereotipado y por lo general es seguido de acicalamiento genital.

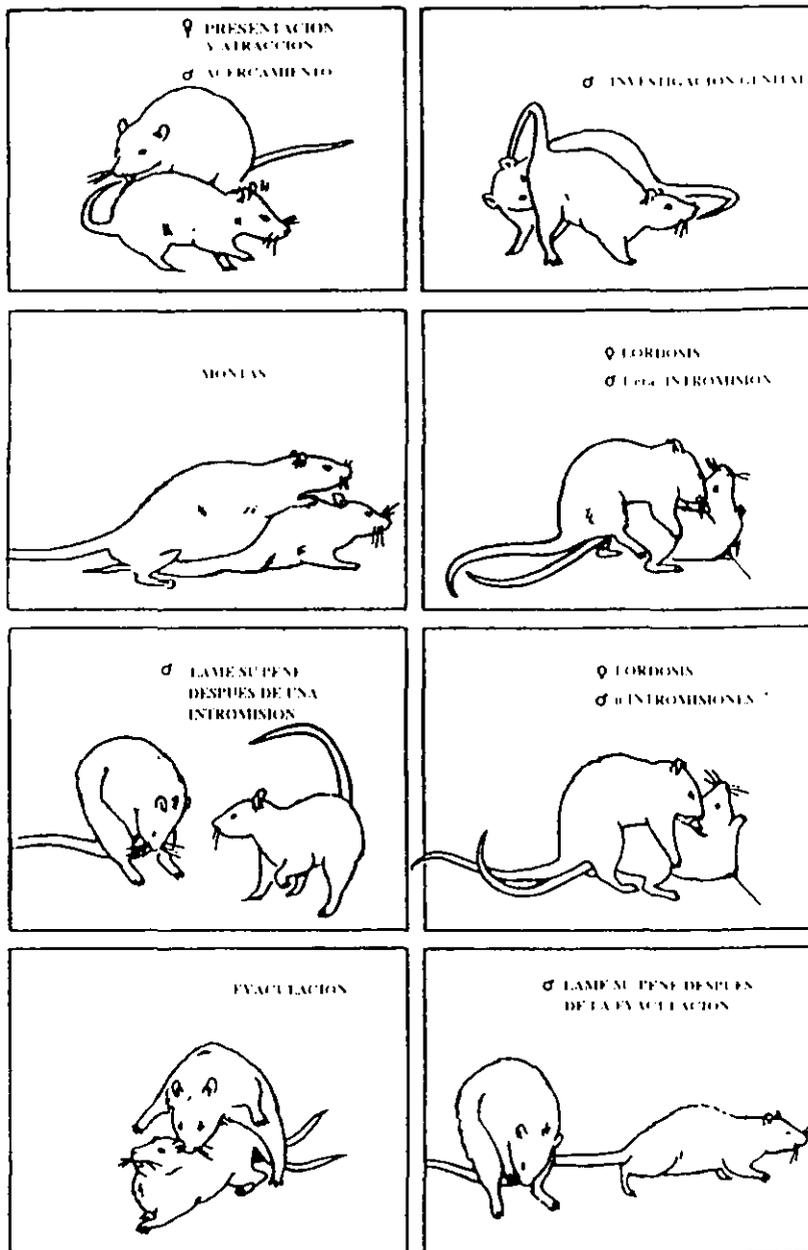


Figura 1 - Patrones conductuales de la conducta sexual de la rata (tomado de Slob y Van der Werff, 1997).

Los patrones de monta se han relacionado principalmente con aspectos motivacionales, ya que los machos aumentan este patrón cuando su pene es anestesiado o cuando la vagina de la hembra es obstruida (Gray y col., 1976; Hardy y Debold, 1971) disminuyendo los patrones de intromisión y eyaculación, que se han considerado aspectos más relacionados con la ejecución de la conducta sexual.

Durante la conducta copulatoria el macho puede o no mostrar montas y el número de intromisiones antes de eyacular puede variar entre 8 y 15. Se considera que un macho experto puede eyacular después de 5 a 10 minutos de estar en contacto con una hembra sexualmente receptiva. Al conjunto de patrones sexuales que presenta un macho desde que entra en contacto con la hembra estímulo hasta que eyacula se le denomina serie copulatoria. Después de terminar una serie copulatoria se presenta un intervalo de 4 a 5 minutos en el que el macho no responde a una nueva estimulación sexual, a este periodo se le ha denominado intervalo posteyaculatorio (Larson, 1956). Beach y Holtz-Tucker sugirieron en 1949 que el intervalo posteyaculatorio comprende dos fases: una fase larga en la que el periodo refractario es absoluto, abarca el primer 75% de la duración del intervalo posteyaculatorio, no hay actividad sexual y se acompaña de vocalizaciones ultrasónicas a 22kHz (Barfield y col., 1975). La segunda fase es más corta siendo esta el periodo refractario relativo, en esta es posible que se presenten montas si la estimulación que ofrece la hembra al macho es la adecuada (Beach y Hultz-Tucker, 1949).

Conforme se incrementan el número de series copulatorias se observan cambios en los diferentes patrones conductuales. Por ejemplo, durante la segunda y tercera serie copulatoria el promedio de intromisiones para poder eyacular tiende a disminuir y posteriormente comienza a aumentar gradualmente. El mismo patrón se puede observar en la monta. Las latencias de monta e intromisión (tiempo transcurrido desde que el macho entra en contacto con la hembra sexualmente receptiva, hasta la primera monta o intromisión respectivamente) suelen ser largas en la primera serie copulatoria, luego disminuyen y a partir de la cuarta eyaculación van incrementando. El intervalo posteyaculatorio, el cual inicialmente tiene una duración de 4 a 5 minutos, se va alargando en 1 ó 2 minutos, lo cual puede reflejar cansancio del macho. Se considera que un macho experto puede alcanzar de 8

a 12 eyaculaciones antes de quedar sexualmente exhausto (Hard y Larson, 1968; Larson, 1979).

Para que la cópula se pueda llevar a cabo es necesario, como ya se mencionó anteriormente, que la hembra se encuentre sexualmente receptiva. La receptividad se manifiesta de distintas formas según la especie, pero en todos los casos implica la adopción de una postura que facilita la inserción y permanencia del pene dentro de la vagina y, por lo tanto, la eyaculación dentro de ella (Moralí y Beyer, 1979). En las ratas se presenta la llamada respuesta de lordosis (Figura 4, pág 51) la cual consiste en arquear el lomo de forma que la cabeza y el peritoneo se encuentren elevados y la cola desviada hacia un lado (Beach, 1976; Clemens y Christensen, 1975; Moralí y Beyer, 1979).

La conducta sexual puede ser ejecutada por la mayoría de los individuos de todas las especies de mamíferos, sin embargo algunos sujetos no tienen la capacidad de presentarla. Existen ratas macho aparentemente normales que no muestran la conducta sexual a pesar de ser estimulados en repetidas ocasiones con hembras sexualmente receptivas (Anderson, 1936; Beach, 1942). Estas ratas consideradas no copuladoras (NC), no muestran alteraciones en los niveles plasmáticos de testosterona (T), aún más, tratamientos crónicos con propionato de testosterona (PT) no inducen la conducta sexual en estos animales (Beach y Levinson 1950; Whalen y col., 1961). Los mecanismos involucrados en la erección y eyaculación tampoco están alterados (Stefanick y Davidson, 1987). Lo anterior sugiere que este déficit en los NC no se debe a alteraciones en los mecanismos que controlan al pene ni a alteraciones en la T.

En el control hormonal de la conducta sexual también están involucradas la androstenediona, la dihidrotestosterona (DHT), y el estradiol (E), por lo tanto otras hormonas podrían estar implicadas en las deficiencias conductuales de los NC. Otra posibilidad es que estos animales tengan alteraciones en el procesamiento de claves quimiosensoriales sexualmente relevantes. Así se han descrito sistemas neuronales (SPVN) involucrados en el procesamiento neuronal de las feromonas (señales químicas liberadas al medio ambiente por un individuo y que son capaces de modificar la fisiología o el comportamiento de otros miembros de la misma especie). En los roedores el olfato es muy importante para detectar una pareja sexual. Por consiguiente, si los NC tuvieran deficiencias

en el procesamiento olfativo, esa podría ser una causa por la cual permanezcan sexualmente inactivos. Los componentes hormonales y neuronales de la conducta sexual están en estrecha relación ya que las hormonas actúan principalmente a nivel neuronal para controlar la conducta sexual y el sustrato neuronal puede permitir o no la liberación de las hormonas. Por lo anterior, en los siguientes capítulos describiremos la importancia de las hormonas en el control de la conducta sexual homotípica como heterotípica así como la importancia del sustrato neuronal involucrado con el procesamiento de las señales olfativas.

## 1.2. - HORMONAS Y CONDUCTA SEXUAL HOMOTÍPICA

Al final de la década de los años 50 y durante la de los 60, se estableció la importancia de los esteroides gonadales durante la vida perinatal para que las conductas reproductoras se presenten en la edad adulta. Los esteroides sexuales actúan fundamentalmente de dos formas: La primera es organizacional, esto es, organizan en un período temprano del desarrollo las vías neuronales involucradas en las conductas reproductoras, siendo sus efectos irreversibles. La segunda forma de acción es de tipo activadora, esto es, cuando el organismo es adulto estas hormonas activan las vías neuronales ya organizadas para que se lleven a cabo las conductas que dichas vías controlan (Phoenix y col., 1959). El efecto activador es facilitador o permisivo ya que los esteroides gonadales incrementan la probabilidad de que las conductas reproductivas ocurran ante el estímulo apropiado (McEwen y col., 1970). La función activadora puede ser reversible, ya que la gonadectomía en ambos sexos genera una disminución de la conducta sexual, la cual se puede recuperar administrando las hormonas adecuadas (Thorton, 1986).

El papel organizacional de los esteroides gonadales durante la diferenciación cerebral se lleva a cabo durante un período restringido del desarrollo (McCarthy, 1994). En las ratas este período abarca aproximadamente desde el día 14 prenatal al día 10 postnatal (Baum, 1979). El papel organizacional depende del esteroide gonadal T. Si durante el período crítico el cerebro es expuesto a grandes cantidades de T liberadas en la circulación, se masculiniza y el animal en la vida adulta es capaz de presentar conductas sexuales masculinas. Si al contrario, no es expuesto a T el animal cuando adulto puede

presentar conductas típicas femeninas. Podría suponerse entonces que el cerebro es potencialmente femenino y la presencia de T en el período crítico conlleva a que el cerebro se masculinice.

Se ha propuesto que esta diferenciación sexual del cerebro se da por la aromatización de la T a E (Baum, 1979; MacLusky y Naftolin, 1981; MacLusky y col., 1985; McEwen y col., 1977). Esta idea ha generado la hipótesis de aromatización que propone que la T, al ser secretada por los testículos y transformada a E por la enzima aromatasa, durante la vida fetal y al nacimiento, actúa para masculinizar y defeminizar el cerebro en desarrollo. En varios estudios se demostró que los andrógenos aromatizables como  $\Delta^4$ -androstenediona, imitan los efectos de la masculinización en el SNC de ratas hembras tratadas prenatalmente (Edwards y col., 1990; Luttge y Whalen, 1970; McDonald y Doughty, 1974). Cuando se administra neonatalmente un inhibidor de la aromatasa (enzima responsable de la aromatización) como la 1,4,6-androstratriene-3,17-dione (ATD) en ratas macho, se incrementa la capacidad de los machos para ejecutar conductas sexuales femeninas (Davis y col., 1979; McEwen y col., 1977; Vreeburg y col., 1977; Brand y col., 1991). Además, las ratas macho tratadas neonatalmente con ATD presentan una secreción cíclica de gonadotropinas, muestran una baja preferencia por una hembra en estro en comparación con los machos controles y su conducta de eyaculación se muestra alterada (Brand y col., 1991; Vreeburg y col., 1983).

La actividad de la aromatasa se ha detectado en las principales áreas neuronales involucradas en el control de la conducta sexual como son: el área preóptica periventricular (APV), el APM, el núcleo de la cama de la estría terminal (NCST), el núcleo ventromedial del hipotálamo (NVH) y la amígdala corticomedia (AMGcm) (Roselli y col., 1985). Los niveles de actividad de la enzima difieren en ambos sexos (Tobet y col., 1985; Tsuruo y col., 1994) se encuentran más elevados en los machos durante estadios pre y post natal (estadios que como se describe más adelante, se caracterizan por los altos niveles de T en machos). En conjunto estos estudios demuestran que la conversión por medio de la enzima aromatasa de la T a E es de suma importancia en la diferenciación sexual cerebral y que esta diferenciación hace posible que las conductas sexuales típicas de cada sexo se puedan presentar normalmente en la edad adulta.

Durante el desarrollo, la T en la rata aparece prenatalmente en los días 18 y 19 (Baum y col., 1991; Weisz y Ward, 1980). En el período posnatal en los machos hay un incremento en los niveles de T durante las dos primeras horas de vida, dicho aumento declina a las 6 horas (Baum y col., 1988; Corbier y col., 1978; Slob y col., 1981). Después del nacimiento y hasta el día 10 de vida los niveles de T permanecen más altos en los machos que en las hembras (Selmanoff y col., 1977; Olster y Blaustein, 1988), posteriormente disminuyen y permanecen igual de bajos en ambos sexos hasta la pubertad, cuando nuevamente encontramos mayores niveles de T en machos que en hembras.

La función activadora de los esteroides gonadales se inicia en la pubertad. En los machos se requiere T y sus metabolitos para que se active la maduración de los espermatozoides y expresión de la conducta sexual masculina, mientras que en las hembras se necesita un incremento en la liberación cíclica de gonadotropinas, para inducir la ovulación y la secreción de E y P para activar la conducta sexual femenina.

## MACHOS

La expresión de la conducta sexual masculina en los mamíferos es controlada por la acción de los esteroides gonadales testiculares, de modo que se modifica al variar los niveles circulantes de las hormonas. Así la gonadectomía genera una reducción dramática de la conducta sexual tanto en su componente motivacional como consumatorio. El resultado global de la gonadectomía es una disminución de la respuesta sexual. En general la secuencia de disminución de la conducta sexual es primeramente una pérdida en la capacidad para eyacular, seguida de una reducción en el número de montas con intromisión, hasta que el animal ya no es capaz de montar a una hembra sexualmente receptiva (Michael y Willson, 1974; Davidson, 1966).

Los efectos de la gonadectomía sobre la conducta sexual pueden ser revertidos por el tratamiento con T; las montas son las primeras en ser restablecidas, seguidas por la intromisión y finalmente la eyaculación. La gonadectomía no sólo disminuye la conducta del coito, también afecta los aspectos motivacionales de la conducta sexual. En experimentos donde se tiene libre acceso a un macho sexualmente activo o a una hembra

sexualmente receptiva (pruebas de preferencia sexual), una rata macho intacta pasa significativamente más tiempo con una hembra en estro. En cambio, después de la gonadectomía esta preferencia declina rápidamente, pero puede ser restaurada con el tratamiento de T (Hetta y Meyerson, 1978).

Se han realizado una gran variedad de estudios para determinar si la T u otros esteroides generados por su metabolismo, están involucrados en la activación de la conducta copulatoria después de la gonadectomía. La T se puede biotransformar a través de dos vías metabólicas: la  $5\alpha$ -reducción y la aromatización. La  $5\alpha$ -reducción genera a la  $5\alpha$ -dihidrotestosterona (DHT), que se considera el metabolito activo de la T en la mayor parte de los tejidos periféricos sensibles a andrógenos. Así se ha demostrado que la diferenciación de los genitales externos en el macho depende de la DHT, en el tejido genital no diferenciado. La conversión de T a DHT se lleva a cabo durante todas las fases del desarrollo y en prácticamente todas las estructuras cerebrales de una gran variedad de especies de vertebrados (revisión en Celotti y col., 1992). En estudios realizados para comparar los efectos de la DHT en ratas macho castradas se observó que ésta no es capaz de estimular la conducta sexual, e induce sólo una ligera preferencia por la hembra (Vega y Larsson, 1994).

El estradiol (metabolizado a partir de la T) tiene la capacidad de restablecer la conducta copulatoria en ratas macho gonadectomizadas, induce la expresión de patrones de monta e intromisión y un número reducido de patrones de eyaculación. Por lo tanto se ha sugerido que los estrógenos estimulan principalmente la motivación más que la ejecución copulatoria (Davidson, 1969; Jhonson y Tiefer, 1974; Meisel y col., 1984). Sin embargo, el tratamiento con E en machos gonadectomizados no es capaz de inducir una preferencia de orientación hacia la hembra sexualmente receptiva (Vega y Larsson, 1994). El tratamiento combinado de E y DHT restaura la conducta sexual al mismo nivel que en las ratas macho gonadalmente intactas (Feder y col., 1974) o tratadas con T (Baum y Vreeburg, 1973).

En general se piensa que el E afecta al sistema nervioso central (SNC) para promover la conducta sexual, mientras que la DHT es importante para restablecer la sensibilidad táctil del pene en los niveles de precastración (Meisel y Sachs, 1994). La DHT también actúa en el SNC, Lodder y Baum (1977) reportaron que la DHT estimula la

conducta de monta en ratas macho castradas por un largo período y tratadas con benzoato de estradiol después de la transección bilateral del nervio pudendo. Lo que sugiere que la DHT y el E actúan sinérgicamente en el cerebro de la rata para activar la conducta de monta.

## HEMBRAS

Las hembras de casi todas las especies de mamíferos presentan períodos de actividad sexual (estro) que se alternan con períodos de quietud sexual (diestro). Estas variaciones del comportamiento son cíclicas y se dan a partir de cambios en la función ovárica (Adler y Allen, 1983; Morali y Beyer, 1979). La rata hembra presenta un ciclo estral de 4 días aproximadamente. Durante los primeros dos días del ciclo, período que recibe el nombre de diestro, no hay grandes variaciones hormonales, pero el E empieza a incrementarse (Figura 2). Al tercer día, es decir por la mañana del proestro, el E llega a su pico máximo, lo que propicia que la eminencia media libere la hormona liberadora de gonadotropinas (GNRH). Esta hormona llega por vía sanguínea hasta la pituitaria. Subsecuentemente, la pituitaria comienza a incrementar la secreción de hormona luteinizante (HL) que genera un incremento en la progesterona (P). En la noche de proestro, la P llega a su máxima elevación. Cuando la concentración de E en el plasma sanguíneo empieza a descender y la P ha alcanzado su nivel máximo, el ciclo ha llegado a la fase del estro conductual, lo cual coincide con la ovulación (Adler y Allen, 1983; Morali y Beyer, 1979). En la rata hembra ovariectomizada, el estro conductual puede inducirse mediante la inyección en los tiempos apropiados de E y P.

Los esteroides gonadales también tienen un papel muy importante en el control de los aspectos apetitivos de la conducta sexual. Las hembras gonadalmente intactas durante su período de ovulación prefieren a los machos sobre las hembras (Meyerson y Lindström, 1973), pero dicha preferencia desaparece después de la ovariectomía y es restablecida mediante el tratamiento con estrógenos (Meyerson y Lindström, 1973; Slob y col., 1987). El ambiente hormonal durante la vida adulta parece interactuar con la experiencia sexual para determinar el patrón de preferencia de la rata hembra. Cuando éstas son

ovariectomizadas a la edad adulta y tratadas con PT, muestran una preferencia por los machos sexualmente activos, pero después de interactuar sexualmente con estos, cambian su preferencia por las hembras receptivas (Slob y col., 1987). Los andrógenos también tienen un efecto sobre la conducta sexual de la hembra. Los andrógenos en la hembra son secretados por los ovarios y las glándulas adrenales y estimulan la lordosis en ratas ovariectomizadas. Los andrógenos con mayores efectos sobre la estimulación de la lordosis son la T y androstenediona. Es importante mencionar que el comportamiento estral inducido por andrógenos es similar a aquél producido por estrógenos. Sin embargo, para obtener un nivel similar de receptividad se requiere una dosis mayor de andrógenos que de estrógenos (Moralí y Beyer, 1979).



### 1.3. - HORMONAS Y CONDUCTA SEXUAL HETEROTÍPICA

La conducta sexual heterotípica se refiere a las conductas sexuales realizadas por los individuos que son típicas del sexo contrario. Por ejemplo, machos que realizan conductas copulatorias típicas de las hembras y hembras que realizan conductas sexuales típicas de los machos. Debido a que los machos tienen hormonas testiculares desde el periodo perinatal y hasta la vida adulta y las hembras hormonas ováricas, se propone que únicamente los machos normales montan, mientras que hembras muestran conductas de solicitud y lordosis. Sin embargo, el dimorfismo sexual completo generalmente no existe. De acuerdo a Beach (1968), la monta en las hembras ocurre por lo menos en trece especies de cinco diferentes órdenes. A pesar de que la lordosis en los machos puede ser menos común que la monta en las hembras, esta ocurre espontáneamente en algunas especies como: ratas, gatos, hurones y monos (revisión en Meisel y Sachs, 1994). El papel de la monta entre hembras aún se desconoce. Se sabe que en las vacas, las hembras en estro montan o incitan a otras a montarlas, con la finalidad de llamar la atención del macho (Hawk y Bellows, 1984). La monta en hembras también se ha interpretado en un contexto social, las dominantes montan más que las subordinadas aparentemente con la finalidad de establecer dominancia social o establecer una organización social hembra-hembra (Fang y Clemens, 1999). Lo anterior se ha reportado en una gran variedad de hembras de diferentes especies como: rata, babuino, mono ardilla, mono rhesus y conejos (Anthoney, 1968; Talmage-Riggs y Ansel, 1973; Albonetti y col., 1988; Goldfoot y col., 1984; Fang y Clemens, 1999). En los machos esta demostrado que estos permiten ser montados dependiendo de su rango social. Monos con un rango social alto montan a machos y hembras de bajo rango. Aparentemente el macho subordinado se deja montar como una manera de apaciguar la agresión del dominante (Morris, 1955; Zuckerman, 1932).

Se ha propuesto que la conducta sexual heterotípica se genera por anomalías en la estimulación endocrina durante las etapas tempranas del desarrollo. Más específicamente se ha sugerido que la lordosis en algunos machos se debe a una deficiencia en la estimulación perinatal hormonal ya que se ha comprobado que ratas macho gonadectomizadas después de nacer y tratadas durante su vida adulta con estrógenos y progesterona generan

conductas típicas de la hembra (Feder y Whalen 1965; Grady y Phoenix 1963; Grady y col., 1965; Harris, 1964; Whalen y Edwards, 1966). Por otro lado, ratas macho gonadectomizados al primer día de vida y tratadas al tercer día posnatal con PT, presentan en estado adulto conductas tanto masculinas como femeninas (Dörner y Hinz, 1967) confirmando así la importancia de las hormonas perinatales.

El patrón de monta en las hembras gonadalmente intactas de muchas especies parece deberse, al menos parcialmente, a una exposición prenatal a andrógenos testiculares (y/o estrógenos) generados por sus hermanos machos, ya que las hembras situadas más cercanamente a los machos dentro del útero, presentan un mayor número de montas cuando son adultas que aquellas situadas más lejos. Más aún, los tratamientos antiandrogénicos en el útero, disminuyen la frecuencia de montas mostradas por ratas hembras adultas (Thornton, 1986). También es posible inducir el patrón de monta en la hembra adulta con un desarrollo normal. En la rata hembra adulta la monta parece no depender de hormonas ováricas ya que ellas montan a niveles bajos independientemente de la presencia de ovarios; además esta conducta no es facilitada por la administración secuencial de estrógenos y progesterona. La monta en hembras normales es común, pero el patrón de eyaculación es muy raro. El patrón de eyaculación sólo se presenta en hembras que reciben tratamiento con estrógeno por un período largo (Emery y Sachs, 1975) o tratamiento crónico con andrógenos y que durante la prueba de conducta sexual la hembra reciba estimulación eléctrica en los flancos (Krieger y Barfield, 1976).

En resumen podemos concluir que los esteroides gonadales son muy importantes para la expresión de la conducta sexual homotípica y heterotípica. Los esteroides gonadales ejercen este papel actuando principalmente sobre el sistema nervioso ya sea durante el desarrollo organizando las vías neuronales o en la vida adulta activando dichas vías en respuesta a estímulos adecuados para que la conducta sexual se exprese. En el sistema nervioso existen estructuras neuronales que tienen una función preponderante en el control de la conducta sexual, procesando claves quimiosensoriales sexualmente relevantes. Dichas estructuras son los blancos principales de los esteroides gonadales ya que se ha demostrado que expresan una gran número de sus receptores. Por lo anterior, en el

---

siguiente capítulo describiremos la importancia las áreas neuronales involucradas en el control de la conducta sexual.

## CAPÍTULO 2. CONTROL NEURONAL DE LA CONDUCTA SEXUAL.

Las diversas especies de mamíferos emplean preferentemente algunos de sus sentidos para poder detectar y elegir a su pareja sexual. Los roedores utilizan principalmente su olfato para detectar las feromonas de las hembras. Mediante las feromonas determinan si las hembras se encuentran sexualmente receptivas, y dependiendo de esta información copulan o no con ellas. En la mayoría de los mamíferos, el SPVN media la acción feromonal que esta involucrada en diferentes funciones reproductivas que incluyen el mantenimiento de la conducta sexual femenina y masculina (Commins y Yahr, 1984; Emery y Sachs, 1976), los mecanismos feromonales primarios que afectan a la gestación (Halpern, 1987; Bellringer y col., 1980) el ciclo estral (Ingersoll, 1981) y la conducta materna (Fleming y col., 1979).

Las feromonas relevantes en la conducta reproductiva de roedores son detectadas por receptores del órgano vomeronasal (OVN), que a su vez transmiten esta información hacia el bulbo olfatorio accesorio (BOA). El BOA proyecta a los núcleos anteromedial y posterocortical de la amígdala, y a el NCST (De Olmos y col., 1978; Scalia y Winans, 1975; Shipley y Adamek, 1984). Los núcleos anteromedial y posterocortical de la amígdala tienen proyecciones a otros núcleos, de las cuales las más importantes son las establecidas con el núcleo amigdaloides posterior y el APM (Shiosaka y col., 1983) Figura 3.

### 2.1. - DESCRIPCION DEL SISTEMA DE PROYECCIÓN VOMERONASAL

El SPVN es sexualmente dimórfico (Segovia y col., 1993; Segovia y col., 1996). Varias líneas de investigación demuestran la importancia de las diferentes estructuras que componen este sistema en el control neural de la conducta sexual. Estas evidencias se describen a continuación, poniendo un mayor énfasis en el papel del APM. Este énfasis se deriva de diferentes descripciones en la literatura, en las que varios autores coinciden en que el APM es la región cerebral más importante en el control de la conducta sexual masculina.

## ORGANO VOMERONASAL

El OVN es una estructura quimiorreceptora fusiforme que se encuentra bilateralmente localizado en la parte más ventral del septum nasal. La interacción de las feromonas con el epitelio neurosensorial vomeronasal modifica la secreción de hormonas esteroides, las cuales influyen en la pubertad, el ciclo estral, la gestación, conducta materna y la conducta sexual masculina y femenina (Fleming y col., 1979; Saito y Moltz, 1986). También está involucrado en la mediación de la atractividad sexual (Halpern, 1987; Romero y col., 1990) y parece estar fuertemente relacionado con la inhibición del cuidado paterno en ratas macho (Menella y Moltz, 1988).

Cuando se remueve el OVN a ratas macho sexualmente expertas se observa un incremento en la latencia de la primera intromisión, así como un decremento en la tasa de intromisiones. Fuera de estas alteraciones, todos los machos que han copulado son capaces de eyacular (Saito y Moltz, 1986). Los efectos de las lesiones del OVN son más drásticos en ratones macho, ya que estas lesiones generan un decremento en la proporción de machos que intrometen y eyaculan.

## BULBO OLFATORIO ACCESORIO

El BOA es una estructura que descansa en la porción dorsocaudal del bulbo olfatorio principal. El nervio vomeronasal transmite información desde el OVN al glomérulo del BOA (Paxinos, 1995). El BOA tiene proyecciones directas a la amígdala media, específicamente a los núcleos corticales medial y posterior, al NCST y al núcleo del tracto olfatorio accesorio. Las neuronas blanco del BOA expresan receptores a esteroides, los cuales pueden ser modulados directamente por hormonas circulantes. El desarrollo del BOA es influido por esteroides gonadales (Roos y col., 1988) ya que aunque es significativamente más grande en la rata macho que en la hembra, si el macho es gonadectomizado tempranamente durante el desarrollo, desarrolla un BOA de tamaño similar al de la hembra.

El BOA esta involucrado en diferentes funciones como son la habituación, agresión, regulación de la temperatura, conductas de evitación activa y pasiva. Esta involucrado además en funciones endocrinas ya que en la rata macho parece estar relacionado con la inhibición de la conducta sexual femenina (Edwards, 1974; Wenzel, 1974). En los primeros trabajos en los cuales se lesionaron los bulbos olfatorios se observaron déficits conductuales, que fueron atribuidos únicamente a la anosmia. Se encuentra bien documentado que los bulbos olfatorios tienen importantes funciones integrativas, además de su rol olfativo (Cain, 1974).

La remoción de los bulbos olfatorios en la rata macho genera una reducción en el porcentaje de machos que eyaculan (Larsson, 1975; Meisel y col., 1982). Este déficit en la eyaculación es generado por una incapacidad de algunos machos para iniciar la cópula (Larsson 1969; Meisel y col., 1980) así como también una inhabilidad para mantenerla una vez iniciada (Meisel y col., 1980). La administración de gonadotropinas exógenas o T no altera los efectos de la bulbectomía, sugiriendo que el daño en la cópula no es una consecuencia secundaria de la disminución de estímulos gonadales (Meisel y col., 1980). En otras especies como, perros (Hart y Haugen, 1972), mono rhesus (Gooldfoot y col., 1978) gatos (Aronson y Cooper, 1974) y borregos (Fletcher y Lindsay, 1968) la bulbectomía no altera la conducta sexual.

Por otro lado, ratas macho control y bulbectomizadas bilateralmente fueron probadas en una arena en donde el macho podía escoger entre interactuar con una hembra sexualmente receptiva (en estro), con una hembra no receptiva (en anestro) o estar en un compartimento neutro. Mientras que los macho control copulan y muestran una mayor preferencia por hembras sexualmente receptivas, los animales con bulbectomía no presentan la conducta sexual y no tienen preferencia por las hembra en estro, ya que pasan el mismo tiempo con hembras receptivas, no receptivas y en el compartimento neutral (Edwards, 1990). Los efectos de la bulbectomía en la preferencia de pareja y en la conducta copulatoria pueden deberse a un deterioro severo para oler, lo cual se refleja en un déficit en la capacidad del macho para hacer clasificaciones dependientes del olor de sus coespecíficos como posibles parejas sexuales. Otra posibilidad es que los efectos conductuales de la bulbectomía pueden indicar una supresión en la entrada de información

neuronal hacia el cerebro anterior y que por lo tanto los efectos conductuales no dependen del deterioro sensorial que se presenta, sino de un déficit en la integración de la información a nivel central (Edwards, 1990). Resultados más consistentes y dramáticos en la pérdida de la conducta sexual se observan con lesiones bilaterales conjuntas del bulbo olfatorio principal y accesorio, ya que estas lesiones eliminan por completo la cópula (Winans y Powers, 1977). Los estudios antes mencionados demuestran que las lesiones o extracciones de los bulbos olfatorios producen alteraciones importantes en la expresión de la conducta sexual masculina al interferir con el procesamiento de las feromonas sexualmente relevantes, ya sea alterando la capacidad olfativa del animal o impidiendo su procesamiento neuronal a otros niveles de integración en el SNC.

### NÚCLEO DE LA CAMA DE LA ESTRÍA TERMINAL

Johnston (1923) describe al NCST como una estructura del cerebro anterior que es una masa prominente de materia gris rostral al núcleo olfatorio y caudal a ciertos componentes del complejo amigdaloides. Algunos autores consideran que el NCST es una extensión de la amígdala (Allinson, 1953).

EL NCST está involucrado en la regulación de aspectos fisiológicos y conductuales de la reproducción. Lesiones del NCST y la estría terminal generan déficits copulatorios en las ratas, incrementando el número de intromisiones necesarias para eyacular, el intervalo entre intromisiones y consecuentemente la latencia de eyaculación (Giantonio y col., 1970). Los efectos de las lesiones en el NCST son muy similares a los generados por lesiones en la amígdala cortico medial (AMGcm), lo cual sugiere que el NCST sirve principalmente para el relevo de información desde la amígdala a otras áreas como son el APM (Benjamin y col., 1982).

El NCST y la AMGcm están principalmente involucrados en el mantenimiento de la conducta copulatoria y en la ejecución de la eyaculación. Aparentemente también integran las vías neuronales que controlan parcialmente la iniciación de la conducta de cópula y su reinicio después de una eyaculación (Emery y Sachs, 1976).

## AMÍGDALA

La amígdala es un complejo nuclear que se continúa con la cola del núcleo caudado, se localiza en la porción medial del lóbulo temporal. En primates esta en estrecha relación con el asta de Ammon y el uncus de la circunvolución parahipocámpica. La amígdala está involucrada en una gran variedad de conductas y funciones regulatorias. Éstas incluyen las emociones, memoria, modulación de los sistemas autónomos y neuroendocrinos y en conductas como la reproducción y la agresión (Paxinos, 1995).

El papel de la amígdala en el control de la copulación en roedores ha sido estudiado lesionando dos regiones: AMGcm circundando los núcleos corticales y mediales, y la amígdala basolateral (AMGbl) que incluye la región de los núcleos basales y laterales. Las lesiones en la AMGbl no tienen efectos en la conducta copulatoria en ratas macho (Harris y Sachs, 1975) ni en el hámster (Lehman y Winans, 1982). Por el contrario las lesiones en la AMGcm sí tienen efectos en la conducta sexual tanto de ratas como hámsteres. Giantonio, Lund y Gerall (1970) fueron los primeros en demostrar que la lesión de la AMGcm puede alterar la cópula en las ratas macho. Los machos lesionados tienen latencias de eyaculación largas y pocas eyaculaciones, se fatigan sexualmente más rápido que los machos controles. Los efectos en la conducta copulatoria de los machos con lesiones en la AMGcm dependen de las condiciones hormonales de las ratas hembras, ya que si se emplean en el experimento hembras tratadas únicamente con E se observan efectos claros en las latencias de eyaculación, frecuencias e intervalos de intromisión (Peirce y Nuttall, 1961). Cuando se usan hembras tratadas con E más P no se observan diferencias en la conducta sexual de ratas lesionadas con respecto a los controles. Los resultados de estos experimentos aún no se explican completamente. Pero se propone que ya que la amígdala recibe información de los nervios sensoriales de la región genital (Carrer, 1978), se propone que una sensibilidad genital inadecuada puede influir en la inhibición de la conducta.

## ÁREA PREÓPTICA MEDIA

El APM se localiza entre la porción caudal del quiasma óptico y la comisura anterior, tiene como borde rostral y caudal a la lámina terminal y la división media del núcleo de la cama de la estria terminal respectivamente. El APM forma conexiones con varias regiones cerebrales. Se han identificado conexiones recíprocas (tanto aferentes como eferentes) entre el APM y el septum lateral, el NCST, la amígdala medial, varios núcleos hipotalámicos (incluidos el lateral, paraventricular, ventromedial y arcuato), el giro central, núcleo del raphe (dorsal y medio), el AVT y el núcleo del tracto solitario (Chiba y Murata, 1985; Conrad y Pfaff, 1976; Simerly y col., 1986; Simerly y Swanson, 1988). Otras eferentes importantes del APM llegan a todas las regiones de la zona periventricular del hipotálamo, núcleo acumbens, caudado putamen, pálido ventral y el núcleo tegmental dorsolateral.

Dado que el APM forma diversas conexiones neuronales con una gran cantidad de regiones del cerebro, se ha implicado en diversas funciones como son: la regulación endócrina de la gonadotropina pituitaria, la liberación de prolactina, termoregulación, sed hipovolémica así como en el control de la conducta materna y sexual (Chiba y Murata, 1985; Conrad y Pfaff, 1976; Simerly y col., 1986; Simerly y col., 1988). En el control de la conducta sexual masculina se encuentran involucradas vías aferentes al APM desde el OVN, las cuales transportan información quimiosensorial vial el BOA, la AMGm y la porción encapsulada del NCST (Scalia y Winans, 1975). Varias líneas de investigación han aclarado la importancia que tienen el APM en el control de la conducta sexual. Estas investigaciones incluyen estudios de lesión, estimulación eléctrica e implante ya sea de hormonas, neurotransmisores o tejido fetal. A continuación se describen los estudios que demuestran por qué se considera al APM como la estructura más importante en el control de la conducta sexual masculina.

## ESTUDIOS DE LESIONES

Como se ha descrito previamente, lesiones de diferentes regiones del cerebro pueden alterar en diverso grado la conducta sexual masculina. Los efectos más consistentes y dramáticos se observan cuando se destruye el APM. Los primeros estudios de lesiones en el APM se iniciaron con los trabajos de Brookhart y Dey (1941), Hillarp y colaboradores (1954) y Soulairac y Soulairac (1956). En estos trabajos fue evidente que la conducta sexual masculina se elimina por completo cuando se realizan lesiones grandes en el APM. Cuando las lesiones son pequeñas, la conducta sexual sólo se elimina temporalmente (Heimer y Larsson, 1966/1967). Además, es necesario que las lesiones sean bilaterales, ya que la destrucción preóptica unilateral sólo produce alteraciones transitorias en la conducta sexual (Lisk, 1968).

Esta inhibición de la conducta sexual después de lesionar el APM se observa en todas las especies de animales hasta la fecha estudiadas: pollos, ranas, ratones, hámster, rata, cabra, gato, perro, hurón, lagartijas, víboras, peces, marmotas y mono rhesus (para revisión Meisel y Sachs, 1994). La inhibición de la conducta copulatoria después de lesionar el APM, no produce alteraciones del eje hipófisis-gónada ya que no se han detectado cambios en los niveles plasmáticos de T ni en los pesos de los testículos y vesículas seminales (Stefanick y Davidson, 1987). Tampoco se han encontrado alteraciones en los mecanismos de erección o eyaculación (Heimer y Larsson, 1966/1967; Lisk, 1968; Lupo y col., 1983; Stefanick y Davidson, 1987). Se han realizado varios trabajos con la finalidad de reactivar la copulación en los machos lesionados en el APM. Sin embargo, ni los tratamientos crónicos con PT ni los procedimientos que inducen conducta sexual en ratas macho sexualmente poco activas (manipulación del macho, reemplazo de la hembra, choques eléctricos al macho) son capaces de restablecer la conducta sexual en los animales lesionados en esta región (Caggiula y col., 1974; Heimer y Larsson, 1966/1967; Lupo y col., 1983; Stefanick y Davidson, 1987). Más aún, machos lesionados en APM no recuperan la conducta después de ocho meses posteriores a la lesión (Ginton y Merari, 1977). Estas observaciones indican que los déficits en la conducta sexual producidos por lesiones del APM son permanentes.

La recuperación de la conducta sexual en los machos lesionados en el APM sólo se ha observado usando dos estrategias. Hansen, Kohler Goldstein y Steinbusch (1982) inyectaron intraperitonealmente lisuride (agonista del receptor de monoaminas). Con este tratamiento el 100% de los animales reanuda la conducta sexual y el 50% eyacula. Cuando estos mismos animales son tratados con solución salina, los animales no son capaces de copular. Es interesante mencionar que Hansen y colaboradores (1982) administran el lisuride diez días después de la lesión, mientras que en otros trabajos (Paredes y col., 1993) los animales que dejan de copular después de la lesión del APM y son tratados con lisuride a las 15 semanas posteriores a la lesión no recuperan la conducta sexual masculina. Lo anterior demuestra que los efectos del lisuride dependen del tiempo de su administración después de la lesión.

En la segunda estrategia Paredes, Piña, Fernández-Ruiz y Bermúdez-Rattoni (1990) transplantaron tejido fetal hipotalámico (transplante homotípico) a ratas macho lesionadas en el APM, esta técnica logra que todos los animales recuperaran la conducta sexual. Los machos lesionados que reciben el transplante recuperan gradual y permanentemente la conducta sexual (la conducta se sigue presentando aún después de 8 meses del transplante). En un estudio posterior (Paredes y col., 1993) inyectaron fluorogold (marcador retrograda) en el tegmento dorsolateral (TDL) para evaluar la conectividad entre el tejido huésped y el transplante. En esos experimentos encontraron proyecciones de células del transplante marcadas en la región hipotalámica, lo cual indica que el tejido huésped efectivamente establece conexiones con el transplante.

Aunque existen una gran cantidad de experimentos que indican que las neuronas del APM tienen un papel muy importante en la regulación de la conducta sexual masculina, no existe un consenso de cuales son los mecanismos por los que lesiones en el APM alteran esta conducta. En la actualidad se postula que el APM controla tanto los mecanismos consumatorios como los motivacionales de la conducta sexual masculina.

## ESTUDIOS DE ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA

Teóricamente uno puede suponer que si las lesiones en el APM eliminan la conducta sexual del macho, la estimulación eléctrica de las neuronas de esta área la facilitarían. De hecho, al estimular eléctricamente el APM se reduce el número de montas e intromisiones precedentes a la eyaculación, así como también la latencia de eyaculación y el intervalo posteyaculatorio (Malsbury, 1971; Merari y Ginton, 1975). Estos efectos facilitatorios sobre la conducta sexual fueron observados durante o milisegundos después de la estimulación eléctrica, por lo que se le ha denominado copulación asociada a la estimulación. Este mismo procedimiento en animales con bajos niveles de conducta sexual tiene un efecto inhibitorio, ya que en algunos sujetos la conducta sexual se elimina (Malsbury, 1971).

Un tipo de estimulación eléctrica con efectos a largo plazo es el encendido eléctrico o kindling. El kindling consiste en la administración repetida de estímulos eléctricos subconvulsivos en determinadas estructuras cerebrales que dan como resultado una intensificación progresiva de la actividad focal culminando en crisis generalizadas (Goddard y col., 1969; McNamara, 1986; Racine, 1972). En experimentos realizados en nuestro grupo de trabajo se ha observado que animales incapaces de mostrar la conducta sexual (machos NC) presentan la conducta cuando se desarrolla kindling en el APM. Estos cambios son permanentes ya que los animales previamente no copuladores siguen mostrando la conducta sexual aún después de varios meses de desarrollado el kindling (Paredes y col., 1990).

El APM tiene también una función importante en el control de la conducta sexual femenina, siendo su papel principalmente inhibitorio. La lesión del APM de la rata hembra aumenta sus respuestas de lordosis (Nance y col., 1977). Contrariamente la activación de las neuronas de esta región inhiben la conducta sexual de la hembra, suprimiendo la lordosis (Hoshina y col., 1994; Powers y Valenstein, 1972; Pfaff y Sakuma, 1979).

Las evidencias aquí descritas demuestran claramente la importancia de diferentes estructuras cerebrales en el control de la conducta sexual. Como puede observarse en el SPVN encontramos al BOA, el NCST, la AMG y el APM. Estas estructuras son fundamentales en el procesamiento de claves quimiosensoriales sexualmente relevantes. En

la figura 3, se muestra un circuito funcional tentativo basado en los estudios ya descritos que permite suponer que en el macho las señales emitidas por una hembra en estro activan principalmente el BOA, el NCST y la AMG. La AMG y el NCST activan al APM, la cual desencadena los mecanismos motivacionales que incluyen: la orientación, la preferencia y la persecución de la hembra. El APM, por medio de sus conexiones con el TDL, traduce la motivación sexual en ejecución de la conducta lo que permite al macho desplegar los patrones de monta intromisión y eyaculación.

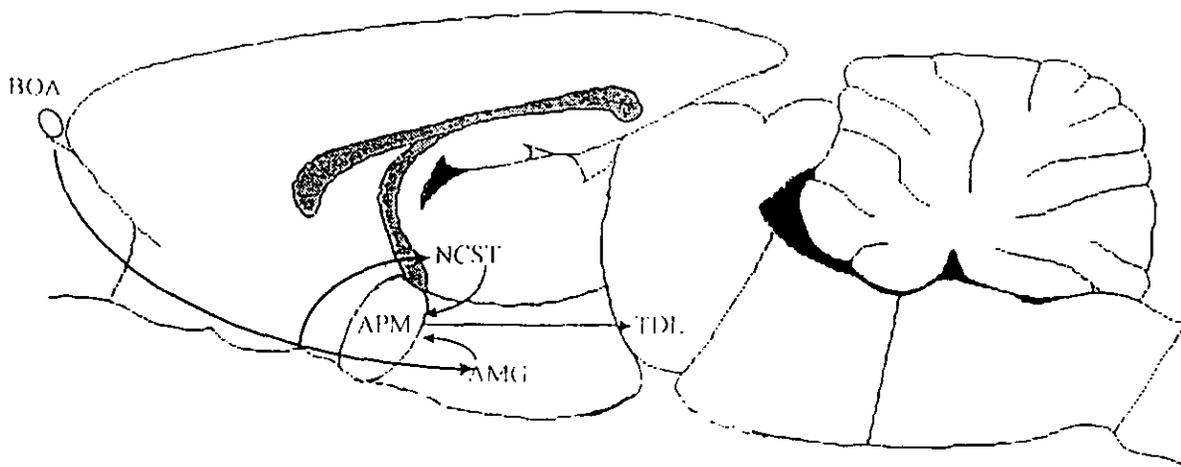


Figura 3.- El Sistema de proyección vomeronasal es un circuito neuronal que controla la conducta sexual de la rata macho. Inicia con la detección de estímulos sexualmente relevantes por el OVN, el cual transmite esta información al BOA. El BOA establece conexiones directas con la AMG y el NCST, permitiendo que el macho detecte a una hembra en estro. La AMG y el NCST establecen conexiones con el APM. En este centro neuronal se generan las conductas apetitivas de orientación, persecución a la hembra, así como de preferencia y reforzamiento sexual. El APM establece conexiones con el TDL, permitiendo que el macho despliegue los patrones motores ejecutorios de la conducta sexual.

## 2.2. - EL SISTEMA DE PROYECCIÓN VOMERONASAL Y FOS

La detección de las feromonas por el SPVN involucra cambios en la actividad neuronal de sus diferentes componentes, los cuales pueden detectarse mediante la detección del gen de respuesta temprana c-fos. La proteína Fos se utiliza como un marcador de actividad neuronal en respuesta a una gran variedad de estímulos homeostáticos o sensoriales. La proteína Fos forma un heterodímero con Jun, este heterodímero funciona como un factor de transcripción positivo o negativo, el cual se une específicamente a una secuencia del ácido desoxirribonucleico (ADN). Al unirse al ADN, activa el sitio de la proteína-1 (AP-1). AP-1 regula la expresión de varios genes relacionados con el crecimiento, la reparación y replicación del genoma. Fos y Jun son miembros de una gran familia de factores de transcripción, los cuales al sintonizar grupos y subgrupos de genes permiten que las células respondan a las demandas ambientales. El ácido ribonucleico mensajero (ARNm) de la proteína Fos se puede detectar a los 5 min posteriores a la estimulación, mientras que la expresión de la proteína después de 90 min (revisión en Smith y col., 1993).

En nuestro laboratorio y en muchos grupos de investigación se ha utilizado la detección de la proteína Fos. En estos trabajos se ha observado que el patrón de expresión de Fos es específico al tipo de estímulo aplicado. Por ejemplo en experimentos donde se inyectan ratas con una solución hipertónica y se sacrifican después de 30 min se han localizado células inmunoreactivas a Fos en el órgano subfornical (estructura circunventricular del cerebro involucrada en la regulación de los fluidos del cuerpo) (Giovannelli y Bloom, 1992). De manera similar, en estudios de hipertermia, se ha observado que después del estímulo hay una gran cantidad de neuronas inmunoractivas a Fos en regiones cerebrales implicadas con este estímulo y no en otras áreas (Scammell y col., 1993). Lo anterior nos pone de manifiesto que la actividad neuronal que se cuantifica utilizando la técnica de Fos, depende del tipo de estímulo aplicado. Por lo tanto su detección indica qué regiones neuronales están involucradas en el procesamiento neuronal de un determinado estímulo. En nuestro grupo de trabajo se ha utilizado la inducción de la proteína Fos para cuantificar la actividad de los circuitos neuronales involucrados en el

control de la conducta sexual, como es el SPVN, en ratas macho y hembra en respuesta a varios tipos de estímulos sexualmente relevantes (Revisión en Paredes y Baum, 1997). Trabajos en los que se ha utilizado la expresión de la proteína Fos, muestran que la rata hembra tiene un patrón sorprendentemente similar al de los machos en respuesta a claves feromonales derivadas de una rata hembra en estro (Bressler y Baum, 1996; Paredes y Baum, 1997). En un estudio realizado por Bressler y Baum (1996), ratas macho y hembra fueron gonadectomizadas siendo adultas. Posteriormente fueron tratadas con una dosis alta, crónica de PT para desarrollar una amplia experiencia sexual con hembras receptoras. Los machos mostraron niveles altos de conducta sexual, así como las hembras (inclusive desplegando un patrón parecido al de eyaculación, sin expulsión de semen). Subgrupos de estos animales fueron tratados con PT, al término del tratamiento los animales fueron sacrificados después de oler por 90 min ya sea aserrín expuesto a secreciones vaginales de hembras en estro, o aserrín expuesto a secreciones vaginales de hembras en anestro o aserrín limpio (control). Después del sacrificio, los cerebros se procesaron para realizarles una inmunohistoquímica contra Fos. La exposición al aserrín colectado de hembras en estro generó incrementos significativos similares (cuantitativamente y en términos de localización regional) tanto en machos como en hembras en el número de núcleos IR-FOS a lo largo del circuito de proyección vomeronasal. Por otro lado, el procesamiento neuronal de las feromonas derivadas de machos sexualmente activos es diferente en ambos sexos. En el BOA y AMG machos y hembras muestran una respuesta similar a Fos, pero a nivel del NCST y APM la células IR-Fos son significativamente más numerosas en las hembras que en los machos (Bakker y col., 1995). Estos experimentos muestran que mientras no existen diferencias significativas entre machos y hembras en el procesamiento de claves olfatorias provenientes de una hembra sexualmente receptiva, sí se presentan en el procesamiento de claves provenientes de machos activos. Por último, cabe mencionar que la disrupción quirúrgica de la aferencia vomeronasal que llega al cerebro, atenuó parcialmente los incrementos de Fos inducidos por cópula en diferentes partes del circuito de proyección vomeronasal (Dudley y col., 1992; Fernandez-Fewell y Meredith, 1994), confirmando así la importancia de este sistema en el procesamiento de claves quimiosensoriales sexualmente relevantes.

## CAPÍTULO 3. ENCENDIMIENTO ELÉCTRICO

### 3.1. - DESCRIPCION DEL ENCENDIMIENTO ELECTRICO (KINDLING)

Como se mencionó en el capítulo anterior, el kindling en el APM de machos NC es capaz de inducir en estos animales una conducta tan compleja como es la sexual. Por lo anterior resulta de interés entender qué es el kindling, sus aplicaciones y posibles mecanismos de acción.

El término kindling (Goddard y col., 1969) se refiere a la administración repetida de estímulos eléctricos subconvulsivos en ciertas estructuras cerebrales que dan como resultado una intensificación progresiva de la actividad focal terminando en crisis generalizadas. El kindling se ha utilizado como un modelo de epilepsia experimental y plasticidad neuronal (McNamara y col, 1987; Goddard y col., 1969; Racine, 1971).

Se ha postulado que el kindling se induce por la alteración de la respuesta de células sensibles, en las cuales se generan cambios en los canales o mecanismos bombeadores de iones. Dicho cambio puede desestabilizar a la célula y provocar posdescargas (PD) (Schwartzkroin y Wyler, 1980). Las PD son espigas rítmicas que consisten en una depolarización que provoca potenciales de acción que son seguidos de otra depolarización fásica de corta duración, las cuales son capaces de propagarse eventualmente a otras estructuras (McIntre y Racine, 1986). Cuando la estimulación eléctrica no produce PD, el kindling no se desarrolla. Los eventos conductuales que aparecen durante el kindling se pueden clasificar de acuerdo a la siguiente escala propuesta por Racine:

Fase 1. Clonos facial.

Fase 2. Fase 1 más inclinaciones de la cabeza (nodding).

Fase 3. Fase 2 más clonos de los miembros anteriores.

Fase 4. Fase 3 más levantamiento de los miembros superiores.

Fase 5. Fase 4 más caídas tónico clónicas.

Se dice que un animal tiene kindling después de que alcanza tres fase 5 consecutivas. El kindling es un procedimiento que induce modificaciones relativamente permanentes en la función cerebral ya que animales que permanecen sin estimulación durante 12 meses

después de haber alcanzado la fase 5 del kindling, responden al primer o segundo estímulo con una crisis característica del estadio 5 (McNamara, 1986; Goddard y col., 1969; Wada y col., 1978). También se ha demostrado que los procesos que subyacen al kindling y sus cambios a largo plazo no están restringidos al foco primario. Así una vez que se ha generado el kindling, se requiere de muy pocos estímulos en otras regiones neuronales, para generar crisis convulsivas (Goddard y col., 1969; Wada y col., 1978; Racine, 1972).

Se han propuesto muchas hipótesis para tratar de explicar los mecanismos del kindling. Entre estas destacan la participación de neurotransmisores como el ácido gamaaminobutírico (GABA). Se ha reportado que la administración de dipropylacetato (fármaco que incrementa las concentraciones de GABA en el cerebro) evita las convulsiones de las ratas y por lo tanto no se establece el kindling (Shin y col., 1986; Tanaka y Lange, 1975). La participación de las catecolaminas se ha reportado en los trabajos de Arnol y colaboradores (1973) quienes demuestran que la reserpina y la 6-hidroxydopamina (sustancias que reducen las concentraciones de catecolaminas en el cerebro) disminuyen el número de estímulos que se requieren para establecer el kindling. El papel de los péptidos opioides en el kindling se ha estudiado en los trabajos de Iadarola y colaboradores (1986), estos investigadores reportan que los niveles de encefalinas incrementan en diferentes regiones neuronales después de una estimulación eléctrica en un animal con kindling. Otras hipótesis proponen la participación de mecanismos celulares, como la potenciación a largo plazo, cambios en la síntesis de proteínas celulares y cambios en los receptores (Majkowski, 1986; McIntre y Racine, 1986). A pesar de las varias hipótesis que se han planteado, la mayor parte de los autores concuerdan en que el kindling genera cambios neuronales de larga duración que implican extensas modificaciones de la función cerebral.

### 3.2. - KINDLING Y EFECTOS EN LA CONDUCTA

El establecimiento del kindling se ha relacionado con algunos procesos de aprendizaje, puesto que provoca una deficiencia en la capacidad de retención (Boast y McNyre, 1977) y atenúa la capacidad de memorización (Stone, 1988). Sin embargo, estos efectos no son muy contundentes ya que otros grupos de trabajo han demostrado que el kindling en el hipocampo ventral no altera el aprendizaje, memoria o nivel de actividad (Holmes y col., 1993). El kindling modifica el sueño (Dahl y Dam, 1985) ya sea disminuyendo la cantidad de sueño lento o de sueño paradójico (Shouse, 1983; Tanaka, 1975). También se conoce que el kindling en la AMG provoca una disminución en la aversión a sabores y olores (Mikulka y Freeman, 1984).

El efecto del kindling en conductas complejas como la reproducción ha sido poco estudiado. Sin embargo, se sabe que el kindling en el APM de ratas hembras aumenta la conducta materna, reduciendo las latencias para reiniciar las respuestas maternas en comparación con las hembras control (Morgan y col., 1995). Además, presentan una mayor preferencia por el olor de un recién nacido en comparación con aquellas que no han recibido estimulación eléctrica. En ratas macho incapaces de presentar la conducta sexual (machos NC), se les puede inducir dicha conducta mediante el desarrollo del kindling en el APM. Esta inducción se debe a cambios producidos por el kindling específicos del APM, ya que el kindling en otras regiones como la amígdala basal no la induce (Paredes y col., 1990). Los cambios conductuales generados por el kindling son de efecto duradero puesto que los animales NC siguen mostrando la conducta sexual aún después de 10 meses de desarrollado el kindling (Paredes y col., 1990). Los mecanismos por los cuales el kindling induce estos cambios aún se desconocen. Aunque se plantea que genera cambios en la actividad neuronal de las células del APM y del SPVN. En la actualidad contamos con técnicas que nos ayudan a cuantificar la actividad neuronal. Una de ellas es, como ya se mencionó, la detección de la actividad del gen a respuestas tempranas c-fos. Con la ayuda de esta técnica podremos conocer si el mecanismo por medio del cual el kindling induce la conducta sexual es mediante la modificación de la actividad neuronal del SPVN.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las causas del déficit conductual en los machos NC aún no se determinan. Los trabajos que reportan que estos animales tienen sus niveles de T normales, no son muy convincentes, ya que presentan un número limitado de animales. Por lo que es necesario plantear nuevos experimentos. En el estudio de la conducta sexual se pueden utilizar pruebas que separen diferentes componentes de la conducta. Por ejemplo, las pruebas de preferencia olfatoria indican si los animales pueden detectar y/o preferir el olor de un animal sexualmente receptivo entre diferentes olores. Otro tipo de pruebas son las de preferencia sexual en las cuales los animales pueden elegir entre interactuar con una hembra sexualmente receptiva o un macho experto, mostrando la preferencia sexual de cada sujeto. En conjunto, estas pruebas resultan de gran utilidad, ya que si los machos no son capaces de detectar y preferir tanto olfatoria como sexualmente a una hembra sexualmente receptiva, la conducta sexual no se inicia. En los animales NC no se han llevado a cabo estas pruebas conductuales, los resultados que aporten estos experimentos nos pueden permitir entender la causa del déficit conductual de los machos NC. Así mismo, se ha reportado que el tratamiento con PT modifica tanto a la preferencia olfatoria como a la sexual; por lo tanto otro aspecto de interés es conocer si los tratamientos con PT, modifica la preferencia olfatoria y sexual de estos animales. Como ya se menciona en el capítulo 3, el kindling en el APM de machos NC induce la conducta sexual. Sin embargo, las modificaciones que causa el kindling se desconocen. Una posibilidad es que altere la actividad neuronal del APM y de las regiones con las que se interconecta. Ya que el APM forma parte del SPVN (sistema involucrado en el procesamiento de feromonas) es posible que modifique el procesamiento olfativo de los animales. Desgraciadamente los animales NC representan menos del 1% de la población, por lo que resulta difícil valorar esta posibilidad. Por lo anterior se propone como modelo alternativo a la rata hembra ovariectomizada. En este modelo se evalúa si el kindling en el APM de ratas hembras ovariectomizadas facilita la expresión de la conducta sexual masculina al igual que en los machos NC. De ser esto cierto se analizará si los cambios conductuales generados por el kindling se deben a modificaciones en la actividad neuronal del SPVN.

## **HIPOTESIS :**

1. - Los tratamientos con propionato de testosterona que inducen la conducta sexual masculina en ratas macho y hembras gonadectomizadas, también la inducen en los machos no copuladores.

2. - La preferencia olfatoria y sexual de los machos no copuladores es diferente a la de los machos capaces de ejecutar la conducta sexual.

3. - El kindling en el área preóptica media o en la amígdala de ratas hembras ovariectomizadas facilita la expresión de conductas sexuales masculinas. Dicha facilitación se debe a cambios en la actividad neuronal del sistema de proyección vomeronasal.

## **OBJETIVOS :**

1. -Evaluar las diferencias conductuales entre machos no copuladores y copuladores en diferentes estados hormonales.

1.1. -Evaluar si la testosterona induce la conducta sexual masculina en los machos no copuladores.

1.2. -Evaluar la preferencia olfatoria de los machos no copuladores.

1.3. -Evaluar la preferencia sexual de los machos no copuladores.

1.4. -Evaluar si el tratamiento con propionato de testosterona modifica la preferencia olfatoria y sexual de los machos no copuladores.

2. -Evaluar si el kindling en el área preóptica media o en la amígdala de hembras ovariectomizadas facilita la expresión de la conducta sexual masculina.

2.1. -Evaluar si los cambios conductuales generados por el kindling, se deben a modificaciones en la actividad neuronal del sistema de proyección vomeronasal medidos por la detección de la proteína del gen de respuesta temprana c-fos.

## **CAPÍTULO 4. METODOLOGIA**

### **SUJETOS**

Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar cuyos pesos se encontraban en el rango de 250-350g y hembras entre 200-300g de peso. Los animales fueron mantenidos en un ciclo invertido de luz-oscuridad (12:12 h), con libre acceso a comida comercial para rata y agua purificada.

### **ESTUDIOS DE PREFERENCIA OLFATORIA Y SEXUAL EN RATAS MACHOS NO COPULADORAS**

#### **GRUPOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL**

Las ratas machos, con base en tres pruebas de conducta sexual masculina (ver 4.1.1.1), se clasificaron en dos grupos (diagrama 1): machos copuladores (C) aquellos sujetos que eyacularon en las tres pruebas y machos no copuladores (NC) aquellos que no ejecutaron ningún patrón de la conducta sexual masculina. A ambos grupos de animales se les realizaron pruebas de conducta sexual masculina, preferencia olfatoria y sexual en tres condiciones hormonales: a) gonadalmente intactos, b) gonadectomizados y c) gonadectomizados tratados con PT (5 mg/kg disuelto en aceite de maíz) por 10 días consecutivos. Una vez terminadas las pruebas conductuales los animales se sacrificaron.

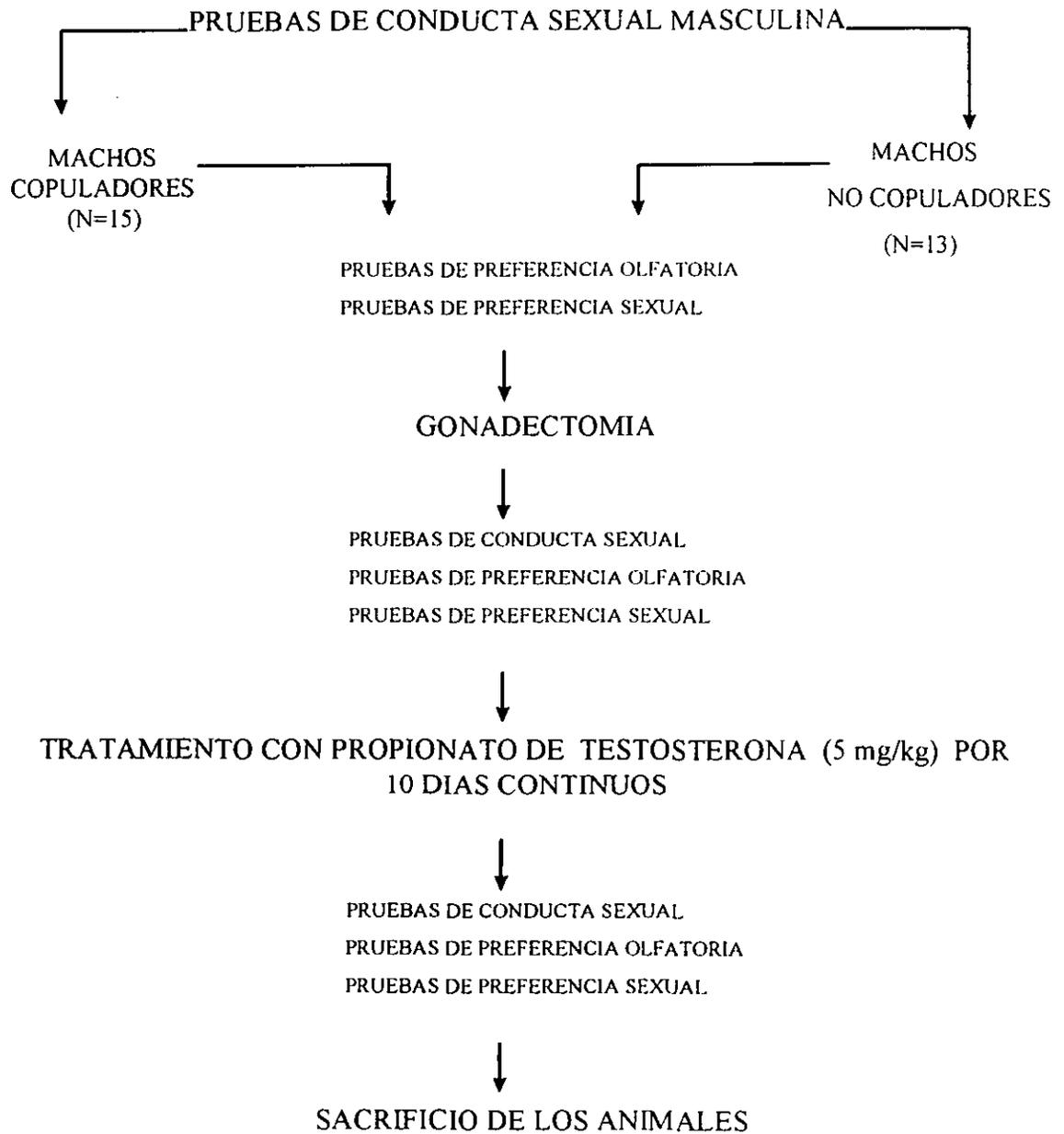


DIAGRAMA 1.- ESQUEMATIZACION DEL PROCEDIMIENTO EMPLEADO EN LOS EXPERIMENTOS DE PREFERENCIA OLFATORIA Y SEXUAL EN RATAS MACHO NO COPULADORAS.

## PRUEBAS DE CONDUCTA SEXUAL

En las pruebas de conducta sexual masculina, se registraron el número de montas e intromisiones anteriores a la eyaculación. En la realización de las pruebas de conducta sexual masculina, se utilizaron como sujetos estímulo a ratas hembras ovariectomizadas. Para mantenerlas sexualmente receptivas (en fase de estro) se inyectaron con 25µg de benzoato de estradiol 53-55h antes de la prueba y con 1mg de progesterona 4-6 horas antes. Los esteroides fueron disueltos en aceite de maíz comercial e inyectados subcutáneamente en un volumen de 0.2 ml.

Las pruebas de conducta sexual se realizaron entre la tercera y la séptima hora del periodo de oscuridad bajo una luz blanca tenue. Se utilizaron cajas de observación rectangulares (40X60X40 cm) con frentes de vidrio y con tapa de malla de alambre en donde el animal experimental era introducido una vez que la hembra estímulo había sido colocada 5 min antes.

Las pruebas tuvieron una duración de 30 minutos o hasta que la rata macho cumpliera el primer intervalo post-eyaculatorio (tiempo desde la eyaculación hasta la primera intromisión de la siguiente serie copulatoria).

## PRUEBAS DE PREFERENCIA OLFATORIA

En las pruebas de preferencia olfatoria, se cuantificó el tiempo que los animales pasaron oliendo/investigando distintos tipos de olores relevantes sexualmente. Las pruebas se realizaron en cajas de madera diseñadas para observar la conducta sexual. Dentro de la caja se colocaron tres platos distribuidos en las dos esquinas y el otro al centro. Cada plato contenía uno de los siguientes tipos de aserrín:

Aserrín de hembras en estro: aserrín el cual fue expuesto a secreciones vaginales, orina y heces de ratas hembra ovariectomizadas y tratadas con estradiol y progesterona .

Aserrín de hembras en anestro: aserrín que fue expuesto a secreciones vaginales, orina y heces de ratas hembra ovariectomizadas y sin ningún tratamiento hormonal.

Aserrín limpio: aserrín sin ningún tipo de secreción ni desechos animales.

En la prueba el animal experimental se colocó al centro de la caja y se cronometró el tiempo que pasó investigando / oliendo cada uno de los platos. La prueba tuvo una duración total de 10 min (revisión en Bakker, 1996).

## PRUEBAS DE PREFERENCIA SEXUAL

En las pruebas de preferencia sexual, se valoró si el animal experimental prefería la presencia de un sujeto de su mismo sexo o del sexo contrario. Las pruebas se realizaron en cajas de madera rectangulares (32X106X34 cm). Cada caja se dividió en tres secciones de 32X36X34 cm. En las dos secciones laterales se colocaron los animales estímulo (de un lado una hembra sexualmente receptiva y del lado contrario un macho sexualmente experto). Los animales estímulo permanecieron sujetos mediante chalecos, los cuales les impidieron salir de su compartimiento pero no interfirieron con el desarrollo de la conducta sexual.

Al inicio de la prueba el animal experimental se colocó en la sección de en medio, la cual tuvo dos puertas laterales. En el primer minuto las puertas permanecieron cerradas, posteriormente se abrieron y el animal pudo interactuar libremente con cualquiera de los dos animales estímulo. En estas pruebas se registró el tiempo de permanencia en cada uno de los compartimentos. El tiempo de permanencia se consideró cuando el animal introdujo por lo menos su cara y las patas delanteras en el compartimento. El tiempo total de la prueba fue de 15 min (revisión en Bakker, 1996).

## **ESTUDIOS DE LA CONDUCTA SEXUAL HETEROTÍPICA EN RATAS HEMBRAS OVARIECTOMIZADAS CON KINDLING EN EL APM O EN LA AMG.**

### **GRUPOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL**

Las hembras experimentales fueron gonadectomizadas e implantadas estereotaxicamente para tener tres grupos de animales (diagrama 2): grupo APM, hembras implantadas y estimuladas eléctricamente en el APM (hasta presentar PD o fase 5 del kindling); grupo AMG, hembras implantadas y estimuladas eléctricamente en la AMG (mismas condiciones de APM) y un último grupo de hembras a las cuales sólo se les implantó el electrodo pero no se estimularon eléctricamente. Con el objetivo de conocer si el kindling tiene efectos facilitatorios en la expresión de conductas sexuales heterotípicas y homotípicas en la hembra, se realizaron pruebas de conducta sexual masculina y femenina en dos condiciones diferentes: a) antes y después del establecimiento del kindling y sin ningún tratamiento hormonal y b) con tratamiento hormonal de PT, primero con una dosis baja de 2.5 mg/kg durante 15 días y posteriormente una alta de 5 mg/kg en el mismo número de días. Las pruebas de conducta sexual masculina se realizaron en el día 5, 10 y 15 de inyección y las femeninas a los días 4, 9 y 14. Posteriormente se inició un tratamiento con 5mg/kg de PT por 15 días para inducir la conducta sexual masculina en todos los animales. Las pruebas conductuales se realizaron en los mismos días que en la dosis baja. Una vez terminado el tratamiento de 5mg/kg de PT los animales fueron sacrificados, los cerebros fueron teñidos con violeta de cresilo y se les realizó una inmunocitoquímica contra Fos en el SPVN.

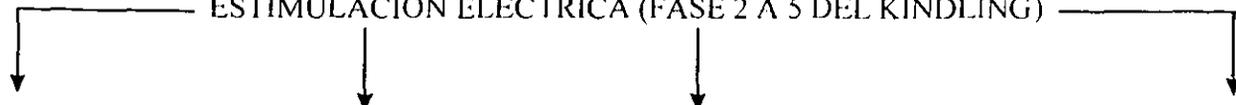
IMPLANTE DE ELECTRODOS EN EL APM O EN LA AMG  
EN HEMBRAS GONADECTOMIZADAS



PRUEBAS DE CONDUCTA SEXUAL MASCULINA Y FEMENINA



ESTIMULACION ELECTRICA (FASE 2 A 5 DEL KINDLING)



FASE 2 EN EL APM  
(N=9)

FASE 5 EN EL APM  
(N=5)

FASE 5 EN LA AMG  
(N=7)

HEMRAS IMPLANTADAS EN EL  
APM O EN LA AMG. NO ESTIMULADAS  
(N=9)



PRUEBAS DE CONDUCTA SEXUAL MASCULINA Y FEMENINA



TRATAMIENTO CON PROPIONATO DE TESTOSTERONA  
15 DIAS CON 2.5 mg/kg, SEGUIDOS POR 15 DIAS CON 5 mg/kg



PRUEBAS DE CONDUCTA SEXUAL MASCULINA EN LOS DIAS 5, 10 Y 15 DE CADA TRATAMIENTO

PRUEBAS DE CONDUCTA SEXUAL FEMENINA EN LOS DIAS 4, 9 Y 14 DE CADA TRATAMIENTO



SACRIFICIO DE LOS ANIMALES, TINCION DE LOS CORTES DE CEREBRO CON  
VIOLETA DE CRESILO PARA VER EL SITIO DE IMPLANTE DEL ELECTRODO

DIAGRAMA 2. - ESQUEMATIZACION DEL PROCEDIMIENTO EMPLEADO EN LOS  
EXPERIMENTOS DE CONDUCTA SEXUAL HETEROTIPICA EN RATAS HEMBRAS CON  
KINDLING EN EL AREA PREOPTICA MEDIA (APM) O EN LA AMIGDALA (AMG).

## PRUEBAS DE CONDUCTA SEXUAL

A los animales experimentales se les realizaron pruebas de conducta sexual masculina (conducta heterotípica) con hembras receptivas y pruebas de conducta sexual femenina (conducta homotípica) con machos sexualmente expertos. En los estudios de conducta sexual masculina la duración de la prueba fue de 30 min y se cuantificó el número de patrones de monta e intromisión. En las pruebas de conducta sexual femenina se registró la intensidad de la lordosis (Figura 4). De manera clásica, la lordosis se califica con valores entre 0 y 3: intensidad 0 si el animal no arquea el cuerpo y no levanta la cola, intensidad 1 si sólo se presenta un ligero arqueamiento y levantamiento de la cola, intensidad 2 si el arqueamiento y levantamiento de la cola es a la altura de la espalda, e intensidad 3 si es más arriba de la altura de la espalda (Hardy y Debold, 1972). Se cuantificó el coeficiente de lordosis ( $CL = [\text{número total de respuestas de lordosis} / \text{número de montas} + \text{número de intromisiones}] * 100$ ) y la intensidad media de lordosis ( $IML = \text{suma de puntos por prueba} / \text{número total de respuestas de lordosis}$ ). Las pruebas de conducta sexual femenina finalizaron cuando cada hembra recibió un total de 10 montas o intromisiones por parte del macho (de acuerdo con Beach, 1976).

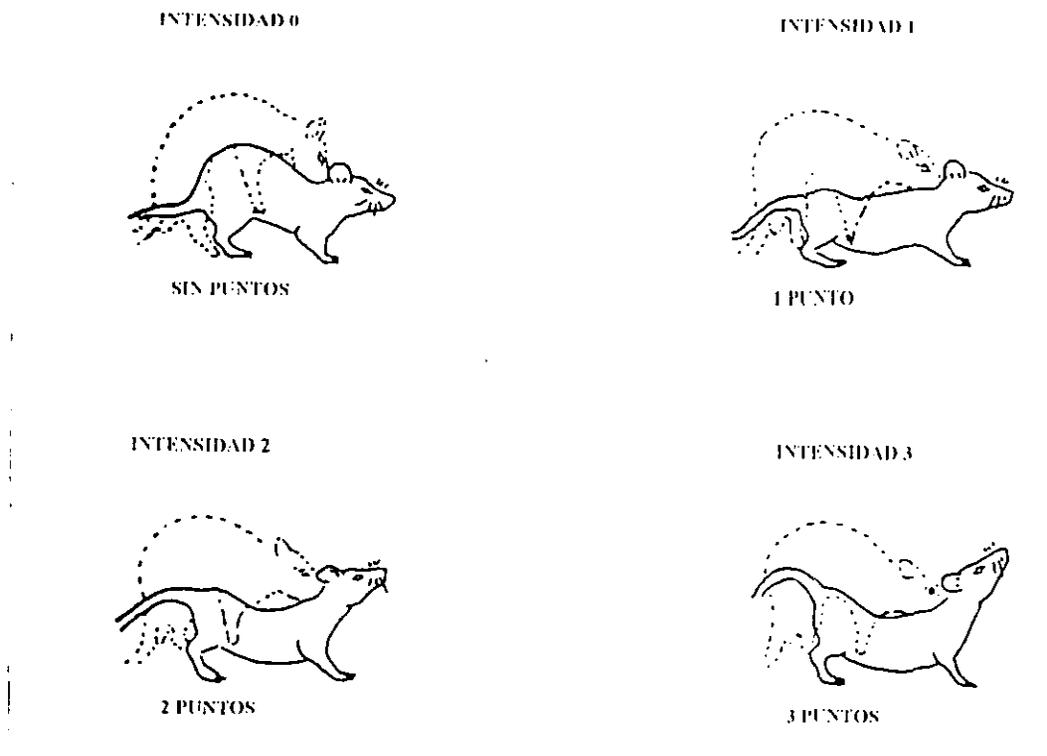


Figura 4. - Cuantificación de la intensidad de la lordosis, según Hardy y Debold (1972).

#### ESTABLECIMIENTO DEL KINDLING

Las coordenadas utilizadas para implantar a los animales en el APM fueron las siguientes: 0.5mm lateral a la línea media, 0.5mm posterior a bregma y 8mm de profundidad a partir de la duramadre. Para el grupo de animales implantados en el AMG: 4.25mm lateral, 2.5mm posterior a bregma y 8mm de profundidad a partir de la duramadre (Paxinos y Watson, 1982). Se implantaron electrodos bipolares de acero aislado eléctricamente con excepción de la punta (0.5mm para permitir el paso de corriente); los electrodos se soldaron a un conector. El conector se fijó al cráneo con acrílico dental y

tornillos de acero inoxidable. Del conector se sacó un alambre el cual se conectó a uno de los tornillos para usarlo como tierra. La estimulación se realizó en una caja de acrílico rectangular a través de la cual se introdujo una trenza por el techo de la caja. La trenza tuvo un conector en su extremo distal, que se ensambló con el conector implantado en la rata. Esta disposición permitió que la rata recibiera un estímulo y al mismo tiempo se pudiera tener el registro de la actividad cerebral en un polígrafo.

Los animales se dejaron recuperar del implante una semana. Posteriormente se les pasó corriente eléctrica por los electrodos para determinar los umbrales para la PD. Los estímulos que se utilizaron fueron inicialmente de 100 microamperios y la intensidad se aumentó 50 microamperios hasta que la PD fue evocada (Figura 5). Esto es, una vez establecida la línea base en el electroencefalograma (EEG) de cada sujeto y una vez que se da el estímulo, se presentaron espigas rítmicas de alta amplitud que variaron en frecuencia y duración y que fueron producidas por la estimulación. La estimulación repetida incrementó la intensidad y propagación de la PD. Los estímulos sucesivos se realizaron con los parámetros que se establecieron con la primera PD. Los animales se estimularon con pulsos bifásicos rectangulares de 1mseg de duración, a 60 Hz para cada estímulo. Los animales fueron estimulados dos veces al día por un periodo máximo de 30 días hasta desarrollar PD o fase 5 del kindling.

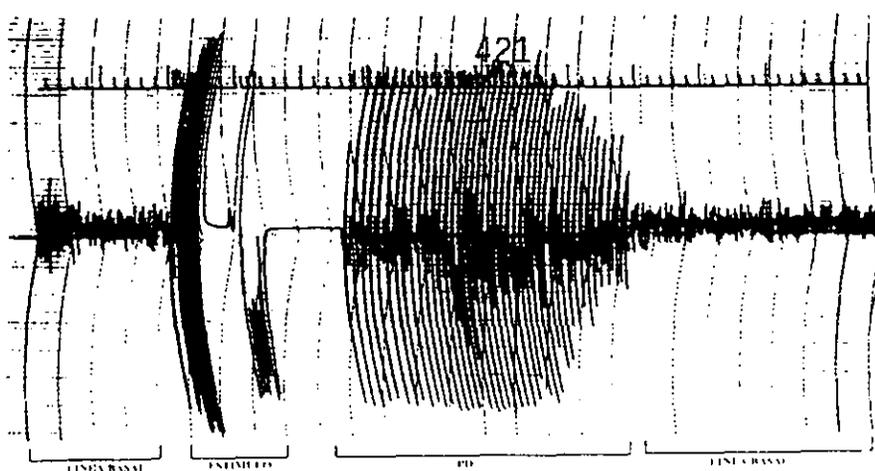


Figura 5. - Trazo electroencefalográfico donde se muestra la actividad neuronal antes y después del estímulo. La línea basal es el registro previo al estímulo, se utiliza como un control para una mejor interpretación del registro posterior al estímulo. El registro posterior al estímulo es la PD, en la cual se puede observar claramente la presencia de actividad paroxística.

Para determinar la fase conductual en la cual se encontraban las ratas durante el desarrollo del kindling, se tomaron en cuenta las manifestaciones conductuales del animal posteriores al estímulo y se clasificaron de acuerdo a las cinco fases propuestas por Racine (1972) ver capítulo 3.1.

## TINCIÓN CON VIOLETA DE CRESILO

Al finalizar las pruebas conductuales, los animales se sacrificaron con una sobredosis de pentobarbital. Los animales se perfundieron intracardialmente con una solución amortiguadora de fosfatos (PBS: 0.1 M, pH 7.4) y con paraformaldehído al 4% en 0.1 M PB. Los cerebros ya perfundidos se extrajeron y fijaron una hora en paraformaldehído después se transfirieron a una solución de sacarosa al 25% en 0.1 M de PBS para su crioprotección. Los cerebros se cortaron en rebanadas de 35  $\mu\text{m}$ . Cortes alternados fueron teñidos con violeta de cresilo o fueron procesados en una inmunohistoquímica para Fos.

La tinción con violeta de cresilo se realizó de la siguiente forma: inicialmente los cortes se montaron en portaobjetos y desengrasaron con cloroformo y alcohol al 25%. Posteriormente se tiñeron con violeta de cresilo y se pasaron por alcohol al 50 y 70%, se diferenciaron con solución diferenciadora (alcohol al 70% y gotas de ácido acético glacial) hasta obtener el contraste deseado. Enseguida los cortes se deshidrataron en alcoholes (95%, 100%) y xileno (alcohol 100% /xileno (1:1)). Finalmente se colocaron cubreobjetos a las laminillas. La tinción con violeta de cresilo contrastó el cerebro y nos permitió visualizar el sitio de implante del electrodo.

## INMUNOHISTOQUIMICA CONTRA FOS

La inmunohistoquímica contra la proteína Fos se realizó como a continuación se describe: los cortes se lavaron en un inicio con PBS 0.1 M, posteriormente con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 1% en PBS 0.1 M y finalmente con PBS 0.1M. Después se incubaron por 16 horas con el anticuerpo primario para Fos (1:5000 DCH-1/ 0.52% Tritón X 100 /en 0.1M PBS). El anticuerpo DCH-1 es monoclonal, se obtuvo de conejo y esta dirigido contra la secuencia N-terminal de Fos de la rata. Al término de la incubación los cortes se enjuagaron con solución de lavado (0.02% Tritón X 100 / 0.1 M PBS) e incubaron en el anticuerpo secundario (1:200 IgG anticonejo en cabra biotilado/ 0.52% T-X 100/ en 0.1M PBS). Posteriormente a la incubación los cortes se lavaron e incubaron en el complejo avidina-biotina (ABC), el cual se retiró empleando PBS 0.1 M. Para finalizar, las secciones se revelaron mediante la reacción de Nickel 3,3'-diaminobenzidina (DAB: 5ml de H<sub>2</sub>O/ 2 gotas de solución amortiguadora/ 4 gotas de DAB/ 2 gotas H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/ 2 gotas nickel). Los cortes de cerebro se montaron en portaobjetos cubiertos de gelatina, se secaron y enjuagaron con agua destilada y se cubrieron con cubreobjetos usando permount. La inmunohistoquímica realizada produce una reacción entre negra y gris en determinados núcleos neuronales, a los que nos referiremos como células inmunoreactivas para Fos.

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

### **ESTUDIOS DE PREFERENCIA OLFATORIA Y SEXUAL EN RATAS MACHOS NO COPULADORAS.**

Los datos del porcentaje de sujetos que montaron, intromitieron y eyacularon se analizaron usando estadística no paramétrica empleando la prueba de  $\chi^2$ . En las pruebas de preferencia olfatoria se usó un Análisis de Varianza (ANOVA) de 2 (grupo: NC o C) X 3 (tipo de aserrín: aserrín expuesto a secreciones de hembras en estro, aserrín expuesto a secreciones de hembras en anestro o aserrín limpio) X 3 (condición hormonal de los animales: intacto, gonadectomizado y gonadectomizado tratado con PT) con medidas repetidas del último factor. En las pruebas de preferencia sexual se usó una ANOVA 2 (grupo: NC o C) X 2 (tiempo de permanencia: tiempo de permanencia con la hembra o tiempo de permanencia con el macho) X 3 (condición hormonal de los animales: intacto, gonadectomizado y gonadectomizado tratado con PT) con medidas repetidas del último factor. En caso de diferencias significativas, se realizaron comparaciones post-hoc empleando la prueba de Fisher.

### **ESTUDIOS DE LA CONDUCTA SEXUAL HETEROTÍPICA EN RATAS HEMBRAS OVARIECTOMIZADAS CON KINDLING EN EL APM O EN LA AMG.**

Los datos del porcentaje de animales que presentaron el patrón de monta, intromisión y eyaculación se analizaron empleando una  $\chi^2$ . El número de patrones de monta e intromisión se analizaron usando una ANOVA de 4 (grupo: FE, AMG, APM 2 o APM 5) X 3 (día de prueba: día 5, día 10 y 15) con medidas repetidas del último factor. En el experimento para detectar actividad neuronal del SPVN se empleó una ANOVA 3 (grupo: FE, AMG o APM) X 2 (tipo de aserrín: aserrín expuesto a secreciones vaginales de hembras en estro o aserrín limpio) completamente aleatorizada. En caso de diferencias significativas se utilizaron pruebas post-hoc de Fisher.

## **CAPÍTULO 5. RESULTADOS**

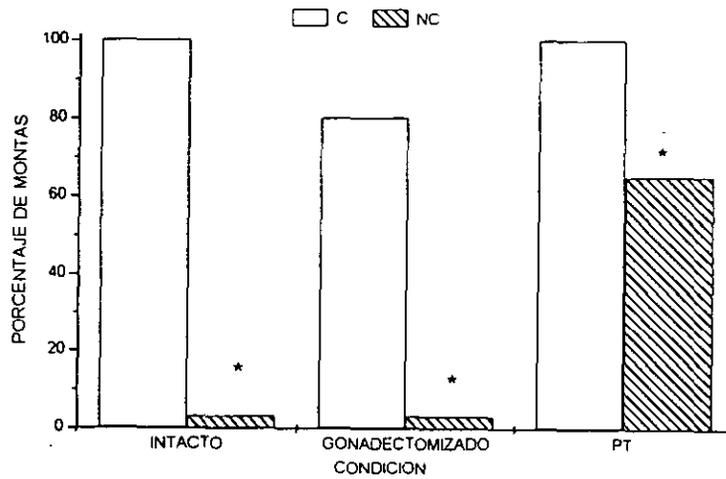
### **ESTUDIOS DE PREFERENCIA OLFATORIA Y SEXUAL EN RATAS MACHOS NO COPULADORAS.**

De las pruebas de conducta sexual se obtuvieron dos grupos: machos copuladores (C; N=15) los cuales presentaron la conducta sexual (montas, intromisiones y eyaculaciones) en tres pruebas con hembras sexualmente receptivas y un grupo de machos no copuladores (NC; N=13) los cuales no desplegaron ningún patrón de conducta en el mismo número de pruebas.

#### **PRUEBAS DE CONDUCTA SEXUAL**

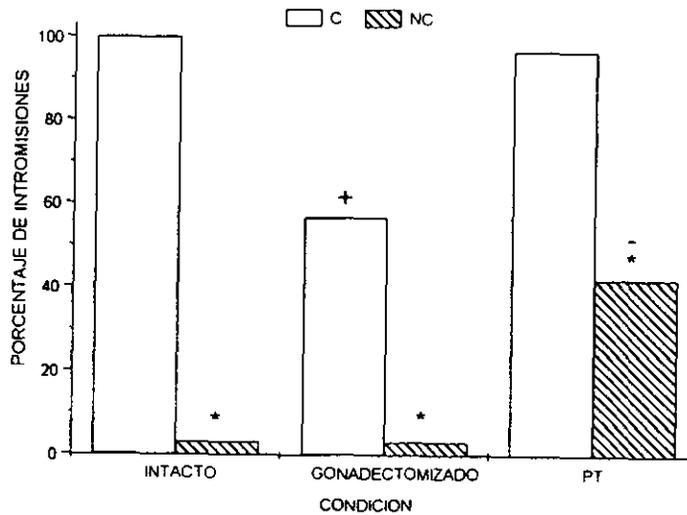
En las pruebas de conducta sexual realizadas después de que los animales fueron gonadectomizados (gráfica 1,2 y 3), se observó una disminución del porcentaje de animales C que montaron (80%), intromitieron (57%) y eyacularon (20%). En el grupo NC ninguno de los animales presentó los parámetros de la conducta sexual. Resultando las diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de animales que montaron e intromitieron entre machos C y NC.

Cuando ambos grupos de animales fueron tratados con una dosis diaria de 5mg/kg de PT por 10 días continuos (gráfica 1,2 y 3), el porcentaje de animales C que montaron fue de 100%, 97% los que intromitieron y 88% los que eyacularon. En el grupo de machos NC sólo un bajo porcentaje de los sujetos montaron (65%), intromitieron (42%) y eyacularon (11%), siendo las diferencias estadísticamente significativas para cada parámetro de la conducta sexual entre machos C y NC.



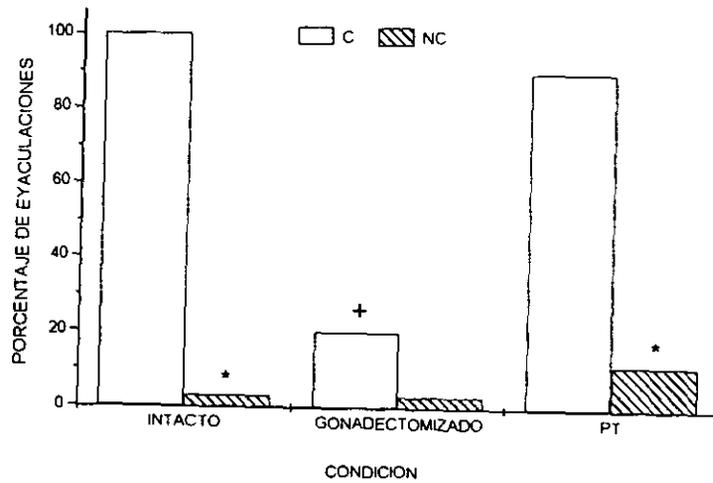
Gráfica 1.- Porcentaje de machos copuladores (C) y no copuladores (NC) que desplegaron el patrón de monta en las diferentes condiciones hormonales: intacto, gonadectomizado y gonadectomizado inyectado con propionato de testosterona (PT).

\* Diferente con respecto a macho C en la misma condición,  $P < 0.01$  (prueba de Fisher).  
 - Diferente de intacto y gonadectomizado en el mismo grupo,  $P < 0.01$  (prueba de Fisher).



Gráfica 2.- Porcentaje de animales C y NC que presentaron el patrón de intromisión.

\* Diferente de macho C en la misma condición,  $P < 0.01$  (prueba de Fisher).  
 - Diferente de intacto y gonadectomizado en el mismo grupo,  $P < 0.01$  (prueba de Fisher).  
 + Diferente de intacto y PT en el mismo grupo,  $P < 0.01$ , (prueba de Fisher)



Gráfica 3.- Porcentaje de animales C y NC que presentaron el patrón de eyaculación.

\* Diferente de macho C en la misma condición,  $P < 0.01$  (prueba de Fisher)

+ Diferente de intacto y PT en el mismo grupo,  $P < 0.01$  (prueba de Fisher).

Estos resultados indican que mientras el tratamiento con PT es capaz de recuperar la conducta sexual en los machos C gonadectomizados, en los animales NC sólo la induce en una baja proporción. Lo anterior sugiere que el déficit conductual de los NC no se debe solamente a niveles bajos de T.

## PRUEBAS DE PREFERENCIA OLFATORIA

Los datos presentados en la tabla 1, muestran que el grupo de machos C tiene una preferencia significativa por el aserrín expuesto a las secreciones vaginales de hembras en estro, en lugar de aserrín expuesto a secreciones vaginales de hembra en anestro y aserrín limpio en las tres condiciones hormonales. Los machos NC sólo muestran esta preferencia en las condiciones gonadectomizados y gonadectomizados tratados con PT. No obstante que ambos grupos de animales prefieren el olor de una hembra en estro, los machos C en la condición gonadectomizados como tratados con PT pasan significativamente más tiempo oliendo el aserrín expuesto a secreciones de hembras en estro que los animales NC. Los machos NC intactos no tienen preferencia entre el aserrín expuesto a secreciones vaginales de hembras en estro con respecto al expuesto a secreciones de hembras en anestro, solamente se observan diferencias entre el aserrín expuesto a secreciones de hembras en estro y el aserrín limpio. La condición hormonal de los animales no altera de forma importante la preferencia olfatoria por los diferentes tipos de aserrín. Lo que nos indica que los niveles de T no modifican la preferencia olfatoria.

Tabla 1. - Preferencia olfatoria de ratas macho NC y C, en tres condiciones diferentes: intactos, gonadectomizados y gonadectomizados tratados con PT. Se muestra el tiempo que los sujetos pasaron oliendo aserrín limpio (limpio), aserrín expuesto a secreciones de hembras en anestro (anestro) o aserrín expuesto a secreciones de hembras en estro (estro). Los datos se expresan como la media  $\pm$ EE. El número de sujetos se muestra en los paréntesis.

TIPO DE ASERRIN CONDICION	COPULADORES (N=9)			NO COPULADORES (N=9)		
	LIMPIO	ANESTRO	ESTRO	LIMPIO	ANESTRO	ESTRO
INTACTO	23 $\pm$ 4.5	26.7 $\pm$ 4.5	53.4 $\pm$ 7.9 *	20.4 $\pm$ 1.5	33.3 $\pm$ 6	43.2 $\pm$ 4.2 °
GONADECTOMIZADO	20 $\pm$ 3	25.7 $\pm$ 3.8	69.5 $\pm$ 11.8*	22.3 $\pm$ 6.3	17.6 $\pm$ 3.7	34.2 $\pm$ 6*+
PT	19.9 $\pm$ 4.3	25.5 $\pm$ 4	68 $\pm$ 5.1*	14.8 $\pm$ 6.5	14.4 $\pm$ 2.8	31.9 $\pm$ 4.4*+

\* Diferente de limpio y anestro, dentro del mismo tratamiento.  $P < 0.5$  (prueba de Fisher).

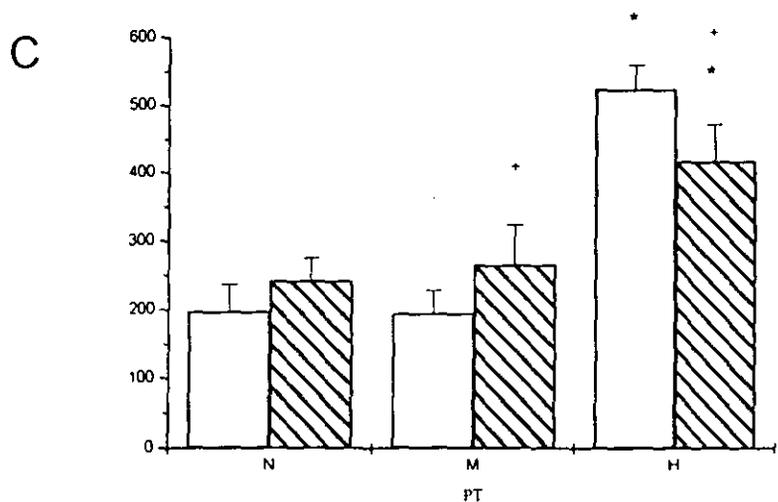
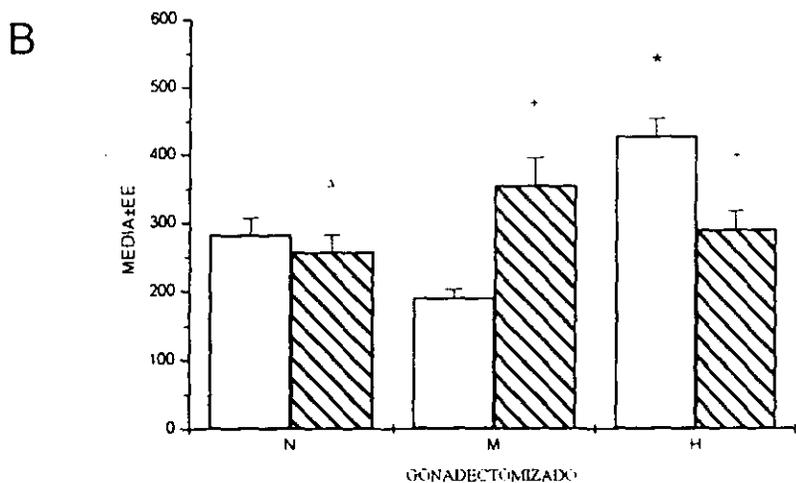
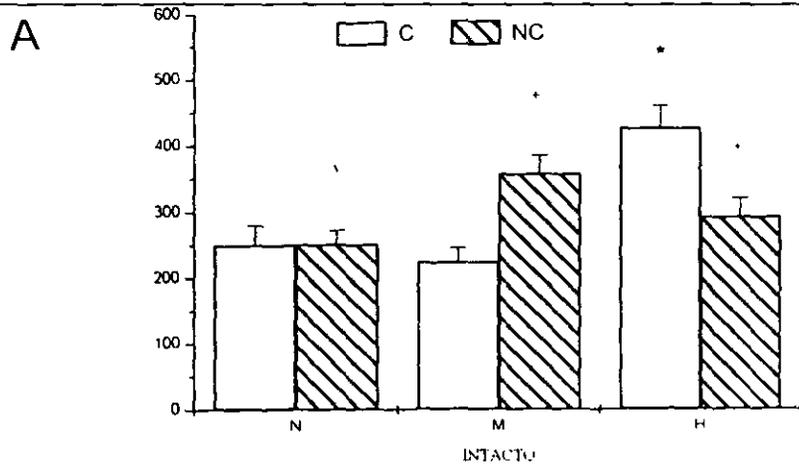
+ Diferente de macho C en la misma condición.  $P < 0.5$  (prueba de Fisher).

° Diferente de limpio, dentro del mismo tratamiento.  $P < 0.05$  (prueba de Fisher).

Los resultados muestran que aunque los animales NC prefieren oler el aserrín expuesto a las secreciones vaginales de hembras en estro esta preferencia es significativamente menor en comparación con los machos C y además la preferencia olfatoria no se modifica por el tratamiento con PT.

## PRUEBAS DE PREFERENCIA SEXUAL

Los resultados muestran que los machos C pasan significativamente más tiempo investigando el compartimento donde se encuentran las hembras sexualmente receptivas en comparación con el compartimento con los machos o el neutro (gráfica 4). Los animales NC sólo muestran una preferencia por el compartimento con la hembra receptiva después de ser gonadectomizados y tratados con PT. Además, los machos NC en las tres condiciones hormonales pasan significativamente más tiempo con los machos sexualmente activos que los animales C. En resumen los machos NC sólo tienen preferencia sexual por las hembras receptivas después del tratamiento con PT y muestran una mayor preferencia por los machos activos que los animales C. Los tratamientos con PT modifican la preferencia sexual en los animales NC.



Gráfica 4.- Preferencia sexual de machos C y NC en tres condiciones hormonales. A intactos, B gonadectomizados y C gonadectomizados y tratados con PT. Se grafica el tiempo que el animal pasa en el compartimento neutro (neutro), en el compartimento con un macho activo (macho) y en el compartimento con una hembra sexualmente receptiva (hembra).

\* Diferente del compartimento neutro y del compartimento con el macho dentro del mismo grupo,  $P < 0.05$  (prueba de Fisher).

+ Diferente de macho C en la misma condición,  $P < 0.05$  (prueba de Fisher).

Δ Diferente del compartimento con el macho en el mismo grupo,  $P < 0.05$  (prueba de Fisher).

## ESTUDIOS DE LA CONDUCTA SEXUAL HETEROTÍPICA EN RATAS HEMBRAS OVARIECTOMIZADAS CON KINDLING EN EL APM O EN LA AMG.

### PRUEBAS DE CONDUCTA SEXUAL (SIN ESTEROIDES SEXUALES)

Con la finalidad de conocer si el kindling en el APM o en la AMG de ratas hembras gonadectomizadas facilita la expresión de la conducta sexual masculina se tuvieron los siguientes sujetos en cada grupo experimental: grupo FE, N = 9; grupo AMG, N = 7; con el objetivo de hacer más fino el análisis de los datos el grupo APM se dividió en animales que sólo presentaron PD o fase 2 del kindling, APM 2, N = 9 y sujetos que llegaron a la fase 5 del kindling, APM 5, N = 5.

Antes de iniciar el procedimiento de kindling se realizaron pruebas de conducta sexual homotípica y heterotípica. En estas pruebas no se observaron diferencias conductuales significativas entre los distintos grupos (datos no mostrados).

En las pruebas realizadas después de que los animales implantados se estimularon eléctricamente hasta presentar PD o fase 5 del kindling se observó que los animales de los grupos FE, AMG y APM 5 no ejecutaron ningún patrón de la conducta sexual masculina. Sólo el 22 % de las hembras del grupo APM 2 montaron (resultado estadísticamente no significativo con respecto a los otros grupos). En las pruebas de conducta sexual femenina las hembras no se mostraron receptivas (datos no mostrados).

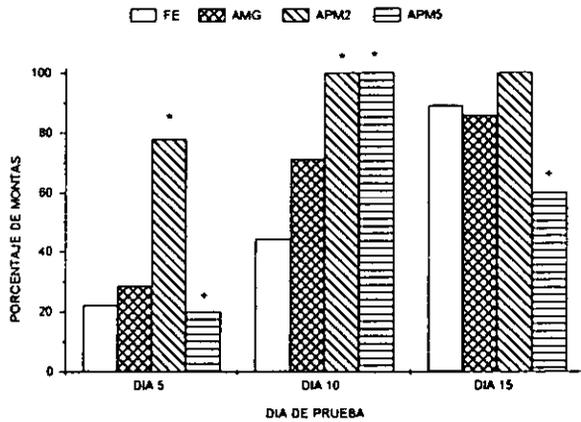
Estos resultados nos llevan a la conclusión de que el kindling en el APM o en la AMG de ratas hembras ovariectomizadas por sí sólo, no favorece la expresión de conductas sexuales homotípicas ni heterotípicas.

Con la finalidad de conocer si el kindling en el APM o en la AMG de hembras ovariectomizadas combinado con un tratamiento hormonal de PT puede facilitar la expresión de la conducta sexual masculina todos los animales fueron tratados con una concentración baja de PT (2.5 mg/kg). Esta cantidad es la mitad de la dosis que se ha reportado es capaz de inducir consistentemente la conducta sexual masculina en ratas macho y hembras gonadectomizadas. Los animales fueron inyectados diariamente por un período de 15 días,

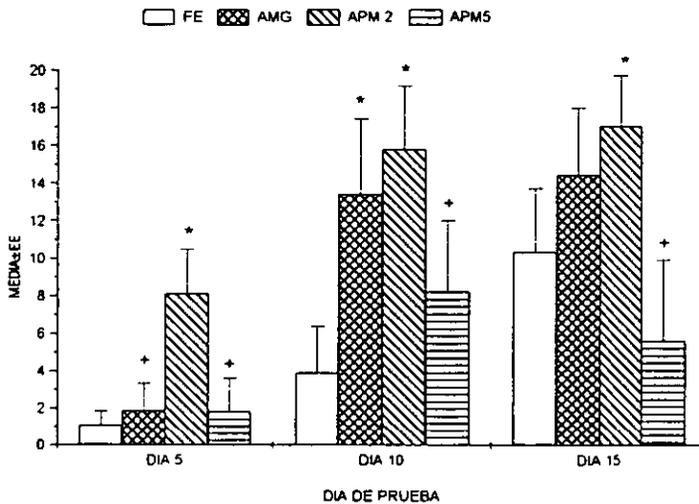
durante los cuales se registró la conducta sexual homotípica los días 4, 9 y 14 y la heterotípica los días 5, 10 y 15. Posteriormente todos los sujetos fueron inyectados con una dosis de 5mg/kg de PT para evaluar la conducta sexual masculina en la misma secuencia que con la dosis baja.

#### PRUEBAS DE CONDUCTA SEXUAL (TRATAMIENTO CON PT)

En las pruebas de conducta sexual heterotípica, realizadas El día 5 (gráfica 5) se observa que el mayor porcentaje de sujetos que presentaron el patrón de monta fueron los del grupo APM 2 en los tres días de prueba (diferencia estadísticamente significativa con respecto a los grupos FE y APM 5 en el día 5; con el grupo FE en el día 10 y con el grupo APM 5 en el día 15). Estas diferencias se correlacionan con el número de patrones de montas (gráfica 6) ya que el grupo APM 2 montó significativamente más veces en todos los días de prueba (diferencias estadísticamente significativas con respecto a los grupos FE, AMG y APM 5 en el día 5 de prueba; con los grupos FE y APM 5 en el día 10 y con los grupos FE y APM 5 en el día 15). El grupo APM 5 soló el día 10 de prueba montó en un mayor porcentaje que las hembras del grupo FE. Y el grupo AMG montó significativamente más veces que el grupo FE en el día 10 de prueba.

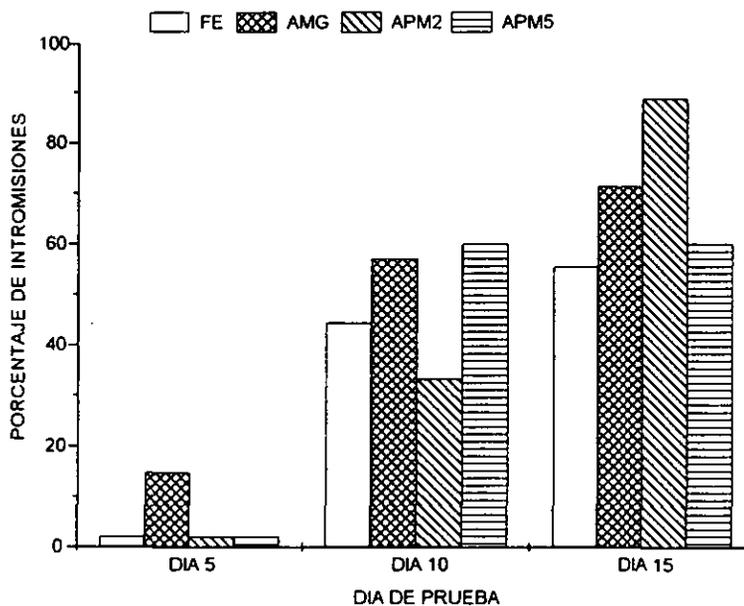


Gráfica 5.- Porcentaje de hembras que desplegaron el patrón de monta en los diferentes grupos. Falso estimulado (FE), con kindling en la AMG (AMG), estimulados en el APM y que registraron PD o fase 2 del kindling (APM 2) y animales estimulados en el APM y que llegaron a la fase 5 del kindling (APM 5). Todos los animales fueron tratados con 2.5 mg/kg de PT  
 \* Diferente con respecto a FE, mismo día de prueba,  $P < 0.05$  (prueba de Fisher).  
 + Diferente con respecto a APM 2, mismo día de prueba,  $P < 0.05$  (prueba de Fisher).

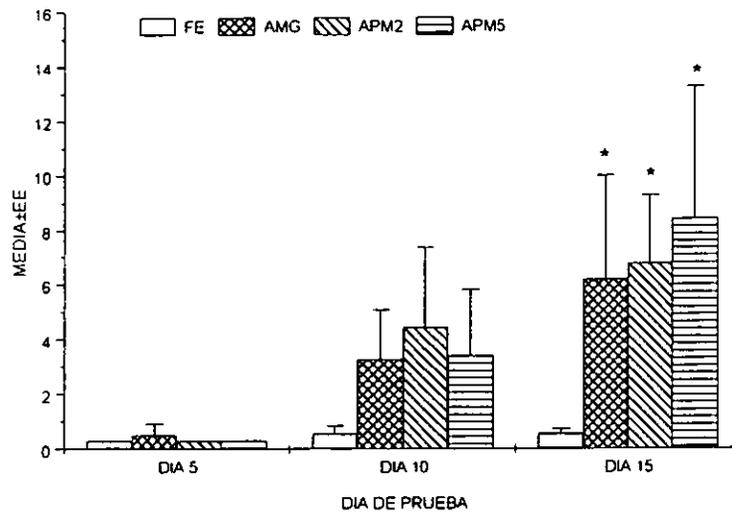


Gráfica 6.- Número de patrones de monta desplegados en los diferentes grupos. Todas las hembras fueron tratadas con 2.5 mg/kg de PT. Se grafica la media  $\pm$  EE.  
 \* Diferente con respecto a FE, mismo día de prueba,  $P < 0.05$  (prueba de Fisher).  
 + Diferente con respecto a APM 2, mismo día de prueba,  $P < 0.05$  (prueba de Fisher).

En lo referente a los patrones de intromisión al día 5 sólo el grupo AMG lo presentó (gráfica 7, 8) pero no hubo diferencias estadísticamente significativas con respecto a los demás grupos. En las pruebas realizadas en el día 10 no se presentaron diferencias ni en el porcentaje de animales que presentaron este patrón, ni en el número de intromisiones entre los grupos. Al día 15 no se encontraron diferencias en el porcentaje de hembras que realizaron patrones de intromisión. Sin embargo se obtuvieron diferencias en el número de estos, ya que las hembras de los grupos APM 2, APM 5 y AMG tuvieron significativamente más patrones de intromisión que los animales del grupo FE. El patrón de eyaculación no se observó en ninguno de los sujetos. En las pruebas de conducta sexual femenina ninguna hembra se mostró receptiva (datos no mostrados).



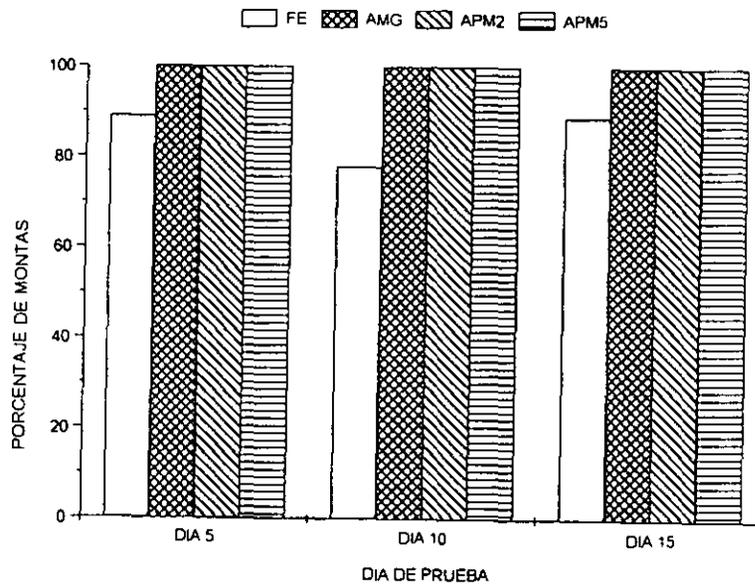
Gráfica 7.- Porcentaje de hembras que desplegaron el patrón de intromisión en los diferentes grupos. Todos los animales fueron tratados con 2.5 mg/kg de PT.



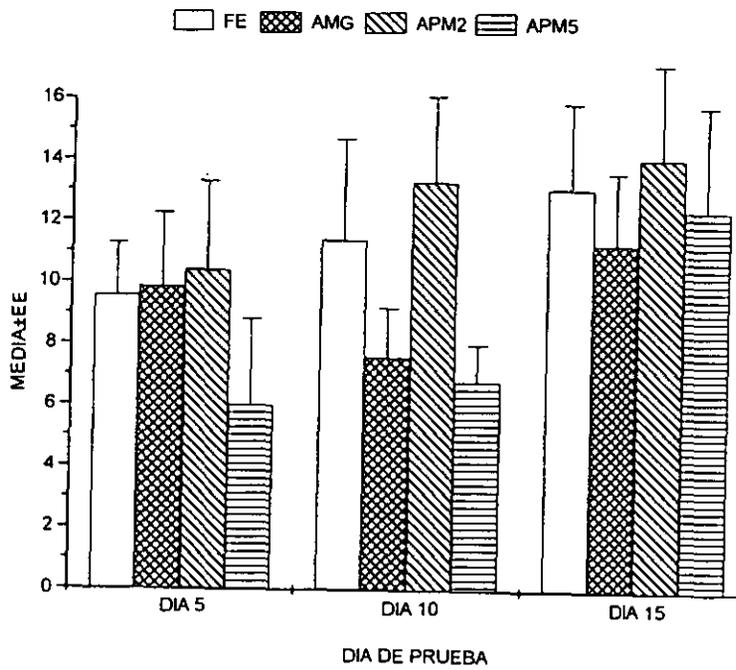
Gráfica 8.- Número de patrones de intromisión desplegadas en los diferentes grupos. Todos las hembras fueron tratadas con 2.5 mg/kg de PT. Se grafica la media  $\pm$ EE. \* Diferente con respecto a FE, mismo día de prueba,  $P < 0.05$  (prueba de Fisher).

Los resultados anteriores nos muestran que la estimulación eléctrica del APM hasta generar PD o fase 2 del kindling (grupo APM 2) en hembras ovariectomizadas y tratadas con 2.5 mg/kg de PT aumenta el porcentaje de animales que presentan el patrón de monta y el número total de montas durante todos los días de prueba. Mientras que el kindling en hembras ovariectomizadas en el APM (PD o fase 2) y en la AMG, facilita el número de patrones de intromisión de manera significativa al día 15 de prueba. En lo referente a las pruebas de conducta homotípica el kindling en el APM o en la AMG no tienen efecto en la expresión de la conducta sexual femenina de hembras gonadectomizadas.

Una vez terminado el tratamiento con 2.5 mg/kg de PT, todos los animales fueron inyectados por 15 días con 5mg/kg de PT. En las pruebas de conducta sexual masculina (gráficas 9 y 10) no se observaron diferencias significativas en el porcentaje de animales que ejecutaron el patrón de monta ni en el número de éstas independientemente del día en que se realizó la prueba.

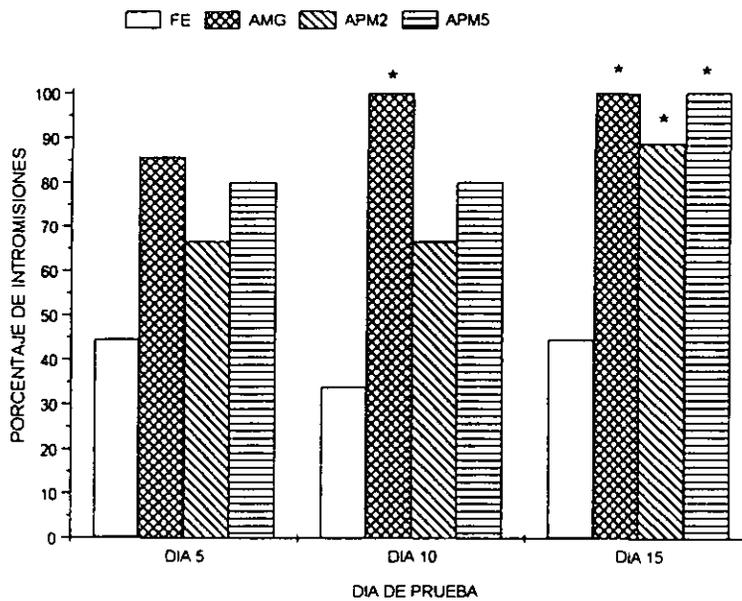


Gráfica 9.- Porcentaje de hembras que desplegaron el patrón de monta en los diferentes grupos. Todos los animales fueron tratados con 5 mg/kg de PT.



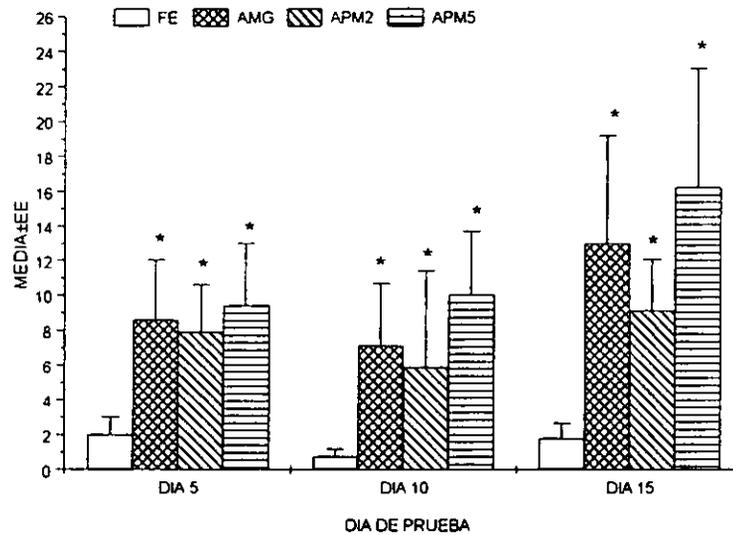
Gráfica 10.- Número de patrones de monta desplegadas en los diferentes grupos. Todas las hembras fueron tratadas con 5 mg/kg de PT. Se grafica la media ± EE.

Con respecto al porcentaje de animales que presentaron el patrón de intromisión (gráfica 11) al día 5 no se observaron diferencias significativas entre los diferentes grupos. En el día 10, las hembras del grupo AMG presentaron el patrón de intromisión en un mayor porcentaje que los animales FE (diferencia estadísticamente significativa), mientras que al día 15 las hembras de los grupos APM 2, APM 5 y AMG intromitieron en un mayor porcentaje que las hembras FE (diferencia estadísticamente significativa). Es interesante notar que estas diferencias se correlacionan con el número de patrones de intromisión ya que durante los tres días de prueba, las hembras de los grupos APM 2, APM 5 y AMG significativamente presentaron el patrón de intromisión en un número mayor de veces que los animales FE. Ninguno de los sujetos presentó el patrón de eyaculación. En las pruebas de conducta sexual femenina las hembras no se mostraron receptivas (datos no mostrados).



Gráfica 11.- Porcentaje de hembras que desplegaron el patrón de intromisión en los diferentes grupos. Todos los animales fueron tratados con 5 mg/kg de PT.

\* Diferente con respecto a FE, mismo día de prueba,  $P < 0.05$  (prueba de Fisher).



Gráfica 12.- Número de patrones de intromisión desplegadas en los diferentes grupos. Todas las hembras fueron tratadas con 5 mg/kg de PT. Se grafica la media  $\pm$ EE.

\* Diferente con respecto a FE, mismo día de prueba,  $P < 0.05$  (prueba de Fisher).

En resumen, nuestros resultados muestran que el kindling en el APM las ratas hembras ovariectomizadas tratadas con 2.5 mg/kg de PT, facilita la expresión del patrón de monta, el cual se considera como el componente apetitivo de la conducta sexual masculina. Cuando las ratas son tratadas con 5mg/kg de PT se observa que el kindling en el APM o en la AMG facilita la realización de patrones de intromisión, los cuales se relacionan con la ejecución de la conducta sexual masculina.

## FOS EN EL SISTEMA DE PROYECCIÓN VOMERONASAL

Otro aspecto de interés fue conocer si el procesamiento de claves quimiosensoriales sexualmente relevantes es igual o diferente entre las ratas con kindling en el APM con respecto a las ratas con kindling en la AMG y las FE. Lo anterior nos podría explicar un posible mecanismo por medio del cual el kindling facilita la expresión de la conducta sexual heterotípica en hembras ovariectomizadas. En la evaluación de esta alternativa se cuantificó el número de neuronas inmunoreactivas para Fos en el SPVN. En este experimento se emplearon hembras ovariectomizadas con kindling en el APM o en la AMG y hembras FE las cuales fueron tratadas con 2.5 mg/kg de PT por 5 días (día en el cual se obtuvieron los primeros efectos facilitatorios de la conducta sexual heterotípica). La mitad de los sujetos de cada grupo se colocaron en camas con aserrín expuesto a secreciones de hembras en estro y la otra mitad en camas con aserrín limpio (control). Las regiones neuronales en las cuales se cuantificó Fos fueron: BOA en la capa mitral y granular, acumbens (Acc) centro y cubierta, APM, NCST y la AMG anterior y posterior.

Los resultados muestran que no existieron diferencias significativas consistentes entre los diferentes grupos cuando fueron expuestos a aserrín limpio o aserrín que sirvió de cama a hembras en estro. Únicamente el número de neuronas inmunoreactivas fue mayor en el NCST en el grupo estimulado en el APM en comparación con el grupo estimulado en la AMG (tabla 2). En las demás regiones analizadas no existieron diferencias en el número de neuronas inmunoreactivas a Fos. Estos resultados sugieren que aunque el kindling facilita la conducta sexual heterotípica, no actúa modificando el funcionamiento del SPVN cuantificado por la detección de Fos.

Tabla 2. - Número de neuronas inmureactivas a la proteína Fos en el SPVN de ratas hembras ovariectomizadas tratadas con 2.5 mg/kg de PT. Se utilizaron animales FE o con kindling en el APM o en la AMG. Los animales fueron sacrificados después de que la mitad de ellos olieron por 90 min camas de aserrín limpio (limpio) o aserrín expuesto a secreciones vaginales de hembras en estro (estro). Las regiones neuronales cuantificadas fueron: BOA capa mitral y granular (BOAm y BOAg), acumbens en la cubierta y en el centro (ACC cubierta y ACC centro), APM, NCST y la AMG anterior y posterior (AMGa y AMGp). Los datos se expresan como la media  $\pm$  EE. El número de sujetos se muestra entre paréntesis.

GRUPO EXPERIMENTAL		FE (N = 12)	AMG (N = 12)	APM (N = 10)
AREA	CONDICION			
BOAm	LIMPIO	23.4 $\pm$ 4.56	26.25 $\pm$ 8.91	36.25 $\pm$ 29
	ESTRO	24.62 $\pm$ 13	29.25 $\pm$ 19	22 $\pm$ 9.86
BOAg	LIMPIO	21 $\pm$ 9.23	9.5 $\pm$ 4.5	25.2 $\pm$ 2
	ESTRO	10.9 $\pm$ 6.21	11.25 $\pm$ 5.1	10 $\pm$ 7.17
Acc cubierta	LIMPIO	.66 $\pm$ .49	2.2 $\pm$ 1.01	4.5 $\pm$ 3.57
	ESTRO	1.4 $\pm$ .97	2 $\pm$ 1	3.8 $\pm$ 1.3
Acc centro	LIMPIO	.33 $\pm$ .33	1.66 $\pm$ .16	2.5 $\pm$ 2.17
	ESTRO	.83 $\pm$ .65	1.66 $\pm$ .16	2 $\pm$ 1.03
APM	LIMPIO	18 $\pm$ 3.6	18 $\pm$ 4.07	18.75 $\pm$ 3.5
	ESTRO	24.5 $\pm$ 4.2	13.7 $\pm$ 3.61	19.1 $\pm$ 6.9
NCST	LIMPIO	2.5 $\pm$ 1.17	1.83 $\pm$ 1	2.75 $\pm$ 1.1
	ESTRO	3.5 $\pm$ 1.2	.83 $\pm$ .83*	4.6 $\pm$ 2
AMGa	LIMPIO	1.16 $\pm$ 1.02	5.5 $\pm$ 1.6	8.2 $\pm$ 1.9
	ESTRO	6.8 $\pm$ 1.15	3.2 $\pm$ 2.24	9.5 $\pm$ 4.03
AMGp	LIMPIO	3.4 $\pm$ 1.53	9.6 $\pm$ 3.26	9.75 $\pm$ 5.23
	ESTRO	3.6 $\pm$ 1.16	1.6 $\pm$ 1.16	6.75 $\pm$ 1.1

\* Diferente del grupo estimulado en la AMG, misma condición,  $P < 0.05$  (prueba de Fisher).

## **HIPOTESIS :**

1. - Los tratamientos con propionato de testosterona que inducen la conducta sexual masculina en ratas macho y hembras gonadectomizadas, también la inducen en los machos no copuladores.

2. - La preferencia olfatoria y sexual de los machos no copuladores es diferente a la de los machos capaces de ejecutar la conducta sexual.

3. - El kindling en el área preóptica media o en la amígdala de ratas hembras ovariectomizadas facilita la expresión de conductas sexuales masculinas. Dicha facilitación se debe a cambios en la actividad neuronal del sistema de proyección vomeronasal.

## **OBJETIVOS :**

1. -Evaluar las diferencias conductuales entre machos no copuladores y copuladores en diferentes estados hormonales.

1.1. -Evaluar si la testosterona induce la conducta sexual masculina en los machos no copuladores.

1.2. -Evaluar la preferencia olfatoria de los machos no copuladores.

1.3. -Evaluar la preferencia sexual de los machos no copuladores.

1.4. -Evaluar si el tratamiento con propionato de testosterona modifica la preferencia olfatoria y sexual de los machos no copuladores.

2. -Evaluar si el kindling en el área preóptica media o en la amígdala de hembras ovariectomizadas facilita la expresión de la conducta sexual masculina.

2.1. -Evaluar si los cambios conductuales generados por el kindling, se deben a modificaciones en la actividad neuronal del sistema de proyección vomeronasal medidos por la detección de la proteína del gen de respuesta temprana c-fos.

## CAPÍTULO 6. DISCUSIÓN

### ESTUDIOS DE PREFERENCIA OLFATORIA Y SEXUAL EN RATAS MACHOS NO COPULADORAS.

Las causas del déficit en la conducta sexual de los machos NC se desconocen. Se ha demostrado que este déficit no se debe a una alteración en la función peneana o del umbral a la respuesta sexual (Stefanick y Davidson, 1987). También se ha descrito que no existen deficiencias en los niveles hormonales de T de estos animales (Beach y Levinson, 1950; Whalen y col., 1961). En el presente trabajo encontramos que los tratamientos con PT que inducen la conducta sexual masculina en ratas macho y hembras gonadectomizadas (Bressler y Baum, 1996) no la inducen completamente en los machos NC.

Es interesante notar que, durante el tratamiento con PT un porcentaje de los machos NC realizó algún parámetro de la conducta sexual (gráficas 1, 2 y 3). Estos resultados se pueden deber a que antes del tratamiento los animales se gonadectomizaron, lo que disminuye notablemente los niveles de T. Se ha demostrado que al disminuir los niveles de una hormona una respuesta de las células es incrementar el número de receptores a dicha hormona. Así la gonadectomía puede generar un aumento en el número de receptores a andrógenos. Los machos NC pueden tener deficiencias en el número de sus receptores esteroidales y al ser gonadectomizados el número de dichos receptores puede incrementarse. En consecuencia, el tratamiento con PT y un número mayor de receptores a andrógenos pueden ser los factores que influyeron para que algunos machos NC presenten los parámetros de la conducta sexual masculina. Por lo anterior es importante que en trabajos posteriores se cuantifiquen los receptores a andrógenos en ratas machos NC; así como también receptores a estrógenos y la actividad de la enzima aromatasa, ya que como se explica en el capítulo I, un mecanismo de acción de la T es mediante su conversión a E por la aromatización. Estos estudios nos permitirán concluir si estos animales tienen deficiencias en sus receptores a esteroides o en la conversión de la T a E.

Para que la conducta sexual pueda llevarse a cabo es necesario que los machos sean capaces de detectar a las hembras sexualmente receptivas. Los roedores utilizan para este fin

principalmente el sentido del olfato. Se ha reportado que las lesiones en el BOA de ratas macho generan un descenso en el porcentaje de animales que eyaculan (Larsson, 1975; Meisel y col., 1982). Así otro aspecto de interés es conocer si los NC son capaces de detectar y/o preferir a las hembras sexualmente receptivas. Por lo anterior se realizaron pruebas de preferencia olfatoria y sexual en estos animales. En los experimentos de preferencia olfatoria se ha reportado que los machos muestran una preferencia por el olor (LeMagen, 1952; Stern, 1970), la orina (Carr y Solberg, 1962) o secreciones vaginales de hembras en estro (Swann, 1997) en comparación con las secreciones de hembras en anestro o las secreciones de machos. Dicha preferencia parece depender del estado hormonal de los sujetos (LeMagen, 1952) así como de su experiencia sexual previa (Carr y col., 1965; Carr y col., 1966). En este trabajo realizamos pruebas de preferencia olfatoria a machos NC y C en tres condiciones hormonales: intactos, gonadectomizados y gonadectomizados tratados con PT. Nosotros encontramos que los machos NC gonadectomizados y gonadectomizados tratados con PT al igual que los machos C en las tres condiciones hormonales prefieren significativamente el aserrín expuesto a secreciones de hembras en estro en comparación con el aserrín limpio y el expuesto a secreciones de hembras en anestro, pero esta preferencia es significativamente menor en los NC con respecto a los C. Nuestros resultados son muy interesantes ya que muestran que aunque los machos NC gonadectomizados no tienen experiencia sexual, sí son capaces de preferir el olor de las hembras en estro. Este resultado contrasta con los estudios de Carr, Loeb y Dissinger (1965) quienes reportaron que mientras las ratas macho sexualmente expertas prefieren el olor de las hembras sexualmente receptivas, las ratas sin experiencia sexual y las gonadectomizadas no muestran dicha preferencia. Sin embargo una diferencia muy importante entre nuestro trabajo y los estudios ya mencionados es que aunque los machos NC intactos y gonadectomizados no tienen experiencia sexual, sí han tenido contacto físico con las hembras sexualmente receptivas, mientras que los animales inexpertos de Carr y colaboradores nunca tienen dicho contacto. Podría suponerse entonces que la preferencia por el olor de las hembras sexualmente receptivas depende de la interacción social con ellas. Por otra parte, en nuestros experimentos, la gonadectomía de los machos C no disminuye la preferencia olfatoria por las hembras en estro, lo anterior se puede explicar por el hecho de que en los trabajos donde

se ha reportado que los machos gonadectomizados no muestran preferencia olfatoria por las hembras en estro las pruebas se realizan 15 días después de la cirugía (Paredes y col., 1998). En nuestro trabajo los experimentos de preferencia olfatoria los hacemos a los 7 días posteriores a la gonadectomía. Por lo anterior es muy probable que en este lapso de tiempo la preferencia olfatoria por la hembra receptiva aún no se elimine. Por otra parte LeMagnen en 1952 demostró que machos castrados o prepúberes sólo muestran preferencia olfatoria por las hembras sexualmente receptivas después de un tratamiento con T, de igual manera Paredes y colaboradores (1998) demostraron que mientras los machos gonadectomizados tratados con PT son capaces de mostrar preferencia olfatoria por las hembras sexualmente receptivas los machos gonadectomizados tratados con aceite no tienen preferencia olfatoria. Estos trabajos demuestran que los niveles de T son importantes para determinar la preferencia olfatoria. En nuestros experimentos los machos NC gonadectomizados, muestran una preferencia olfatoria por las hembras sexualmente receptivas aunque esta preferencia es menor a la de los machos C. Podría suponerse entonces, que la deficiencia en la preferencia olfatoria de los NC se debe a deficiencias en sus niveles de T. Sin embargo, esto parece poco probable ya que los machos NC, gonadectomizados tratados con PT al igual que en la condición antes mencionada, también mostraron una preferencia deficiente por las hembras sexualmente receptivas.

En las pruebas de preferencia sexual los animales son libres de elegir entre interactuar (oler y/o desplegar la conducta sexual) con una hembra sexualmente receptiva o con un macho activo. Se ha reportado que la experiencia sexual previa es determinante para que los machos tengan preferencia por las hembras receptivas. Así también se ha demostrado que el estado gonadal de los sujetos es importante ya que los machos prepúberes prefieren al macho y solamente se observa una orientación por la hembra después de un tratamiento con T (Matuszczyk y col., 1994). En las pruebas de preferencia sexual de machos C y NC encontramos que mientras los machos C en las tres condiciones hormonales prefieren a las hembras sexualmente receptivas, los machos NC sólo muestran preferencia por las hembras en la condición gonadectomizado tratado con PT. Nuestros machos NC en la condición intactos y gonadectomizados no tienen experiencia sexual. La ausencia de experiencia sexual puede ser la responsable de que los machos NC no tengan

preferencia por las hembras sexualmente receptivas. Durante el tratamiento con PT algunos animales presentaron algunos de los parámetros de la conducta sexual, por lo tanto probablemente la experiencia sexual adquirida previamente influyó en su orientación por las hembras receptivas. Los machos NC en la condición intacto y gonadectomizado aunque no tienen preferencia por el macho activo en comparación con la hembra receptiva, muestran una mayor preferencia por los machos sexualmente activos que los animales C. Este comportamiento es similar al de los machos lesionados en el APM, ya que muestran preferencia por los machos sexualmente activos (Paredes y col., 1997). Además, tanto los animales NC como los lesionados en el APM comparten otras características en común. Ambos grupos de animales no despliegan la conducta sexual (revisión en Meisel y Sachs, 1994), sus mecanismos de erección o eyaculación son normales (Heimer y Larson, 1966/1967; Lisk, 1968; Stefanick y Davidson, 1987) al igual que sus niveles de T (Beach, 1942). Por lo anterior, es probable que los machos NC tengan una lesión funcional del APM, esta propuesta será evaluada en estudios posteriores.

## ESTUDIOS DE LA CONDUCTA SEXUAL HETEROTÍPICA EN RATAS HEMBRAS OVARIECTOMIZADAS CON KINDLING EN EL APM O EN LA AMG.

La conducta sexual es gobernada por diferentes estructuras neuronales. Sin embargo, en la actualidad la mayoría de los investigadores coinciden en que el APM es la región neuronal más importante en el control de la conducta sexual masculina en la rata y muchas especies animales (revisión en Sachs y Meisel, 1988). Lesiones grandes y bilaterales en esta área eliminan completamente la conducta sexual (revisión en Portillo y Paredes, 1998) y contrariamente la estimulación eléctrica del APM facilita su ejecución (Malsbury, 1971; Merari y Ginton, 1975). El APM tiene también una función importante en el control de la conducta sexual femenina. La activación eléctrica de esta área inhibe la conducta reproductiva de la hembra y suprime la lordosis (Pfaff y Sakuma, 1979; Hoshina y col., 1994). Un tipo de estimulación eléctrica con efectos permanentes en el funcionamiento neuronal es el encendido eléctrico o kindling. En estudios conductuales se ha observado que el kindling en el APM de ratas macho NC induce la conducta sexual masculina (Paredes y col., 1990), mientras que el kindling en esta área en ratas hembras facilita la expresión de conducta materna (Morgan, 1995). Estos cambios conductuales son permanentes (Paredes y col., 1990; Morgan, 1995).

En nuestro grupo de investigación estamos interesados en estudiar los cambios fisiológicos y conductuales que induce el kindling en los machos NC. A nivel conductual, por experimentos realizados en este trabajo, sabemos que los machos NC tienen deficiencias en la detección de las feromonas y probablemente tienen alteraciones funcionales a nivel del APM. Ya que el APM forma parte del SPVN, es posible que el kindling modifique la actividad neuronal de este sistema durante el procesamiento de las feromonas. Desafortunadamente no contamos con un número suficiente de machos NC, por lo que decidimos utilizar como modelo alternativo a la rata hembra. En estos experimentos utilizamos ratas hembras ovariectomizadas las cuales se implantaron y estimularon eléctricamente (kindling) en el APM o en la AMG. A estos animales se les registró su conducta sexual masculina y femenina. Nuestros resultados muestran que el kindling en el

APM o en la AMG por sí mismo no facilita la expresión de la conducta sexual masculina ni femenina.

Los tratamientos hormonales pueden inducir conductas sexuales heterotípicas. Así se ha demostrado que tratamientos con PT (5 mg/kg) induce la conducta sexual masculina en ratas hembras ovariectomizadas (Bressler y Baum, 1996), con base en esta información se evaluó si el kindling en el APM o en la AMG de ratas hembra facilita la expresión de conductas sexuales masculinas utilizando una dosis menor de PT a las requeridas normalmente. En estos experimentos se observó que el kindling en el APM o en la AMG de ratas hembra y una dosis baja de PT (2.5 mg/kg) facilita la expresión de patrones de monta, mientras que el tratamiento con 5 mg/kg de PT facilita los patrones de intromisión.

Dado que los primeros efectos facilitatorios se observaron en los parámetros de monta, y estos fueron más consistentes en los animales con kindling en el APM se puede pensar que el kindling facilita los aspectos motivacionales de la conducta sexual heterotípica de hembras. Estos datos concordaron con los obtenidos en los experimentos con machos NC ya que en estos animales el kindling en el APM indujo principalmente los aspectos motivacionales de la conducta, aunque a diferencia con las hembras el kindling en la AMG no generó conducta sexual en machos NC (Paredes y col., 1990). Con el tratamiento de 5mg/kg de PT se facilitaron los patrones de intromisión, los cuales se consideran dentro de los aspectos ejecutorios de la conducta, tanto en las hembras con kindling en el APM como en la AMG. En lo referente a la conducta sexual homotípica el kindling en el APM o en la AMG de hembras gonadectomizadas por sí solo no la facilitó, sin embargo, no sabemos si el kindling combinado con tratamientos hormonales adecuados (E y/o P) sea capaz de facilitar la conducta sexual femenina. En resumen estos experimentos demuestran que el modelo de la rata hembra gonadectomizada es un buen modelo alternativo para estudiar los cambios conductuales del kindling en los machos NC.

Se ha demostrado que los machos sexualmente activos y las hembras ovariectomizadas tratadas con PT (5mg/kg) son atraídos por las feromonas de las hembras sexualmente receptivas. Durante el procesamiento neuronal de dichas feromonas se observa un incremento la actividad neuronal del SPVN (Paredes, 1998), este incremento es similar entre los machos y las hembras tratadas con PT. Dichos cambios en la actividad neuronal

pueden detectarse utilizando una inmunohistoquímica contra la proteína del gen de respuesta temprana c-fos. Utilizando este modelo investigamos si el kindling induce los cambios conductuales modificando la actividad neuronal del SPVN durante el procesamiento de las feromonas. Como los principales efectos facilitatorios se observan en los primeros días de prueba de la dosis baja, los animales con kindling en el APM o en la AMG tratados por 5 días con 2.5 mg/kg de PT se sacrificaron después de oler aserrín expuesto a secreciones vaginales de hembras en estro o aserrín limpio (control). No encontramos diferencias significativas en actividad neuronal del SPVN durante el procesamiento de las feromonas (cuantificado por la detección de la proteína Fos) entre los animales control con respecto a los sujetos con kindling en la AMG o en el APM, ni tampoco se observaron diferencias entre los animales que olieron las secreciones vaginales de hembras en estro o aserrín limpio. Parece ser entonces que la facilitación del kindling en la conducta sexual heterotípica de la rata hembra ovariectomizada, no se debe a modificaciones en el procesamiento de claves quimiosensoriales en el SPVN medido por la técnica para la detección de Fos. La inducción o facilitación de la conducta sexual por el kindling puede deberse a otros factores. Por ejemplo puede modificar: a) las conexiones neuronales entre las diferentes estructuras del cerebro, b) el número de receptores a esteroides gonadales y c) la síntesis de neurotransmisores entre otras. Por lo que en estudios posteriores pretendemos evaluar estas alternativas.

## **CAPÍTULO 7. CONCLUSIÓN**

### **ESTUDIOS DE PREFERENCIA OLFATORIA Y SEXUAL EN RATAS MACHOS NO COPULADORAS.**

- Los tratamientos con propionato de testosterona que inducen la conducta sexual masculina en ratas machos y hembras gonadectomizadas, no son capaces de inducirla completamente en los machos no copuladores. Por lo tanto se puede concluir que esta hormona no es la única causa de la ausencia de conducta sexual en ratas macho no copuladoras.

- Los machos no copuladores muestran una preferencia olfatoria, aunque reducida, por las secreciones vaginales de hembras en estro. La preferencia olfatoria no se modifica de manera importante con tratamientos de propionato de testosterona.

- Los machos no copuladores no tienen una preferencia sexual por las hembras sexualmente receptivas. Sólo se induce parcialmente la preferencia por la hembra receptiva después de un tratamiento con propionato de testosterona.

**ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA**

## **ESTUDIOS DE LA CONDUCTA SEXUAL HETEROTÍPICA EN RATAS HEMBRAS OVARIECTOMIZADAS CON KINDLING EN EL APM O EN LA AMG.**

- El kindling en el APM o en la AMG de ratas hembras ovariectomizadas por sí solo no facilita la expresión de la conducta sexual masculina ni femenina.

- El kindling en el APM de ratas hembras ovariectomizadas y un tratamiento conjunto con propionato de testosterona a dosis bajas (2.5 mg/kg) facilita la expresión de patrones de monta. Mientras que el kindling en la AMG o en el APM y tratamientos con propionato de testosterona a dosis alta (5 mg/kg) facilita la expresión de patrones de intromisión.

- El kindling en el APM o en la AMG de ratas hembra ovariectomizadas tratadas con propionato de testosterona a dosis altas o bajas, no facilita la expresión de conductas sexuales femeninas.

- La faclitación de la conducta sexual masculina observada en las hembras ovariectomizadas con kindling en el APM no se debe a cambios en la actividad neuronal del sistema de proyección vomeronasal cuantificados por la detección de la proteína del gen de respuestas tempranas c-fos.

## REFERENCIAS

- Adler N, Allen T. The origin of sexual behavior. En: Handbook of behavior neurobiology. Stainoff, Teitelbaum. (Eds). Plenum Press, New York. 1983. Pp. : 475-509.
- Albonetti ME, Farabollini F, Dessi-Fulgheri F. The acquisition of social dominance in female rabbits. *Monito. Zool. Ital.* 22:465-476. 1988.
- Allison A. The morphology of the olfactory system in the vertebrates. *Biol Rev.* 28:195-244. 1953.
- Anderson EE. Consistency of tests of copulatory frequency in the male albino rat. *J. Comp. Psychol.* 21:447-459. 1936.
- Anthony T. The ontogeny of greeting, grooming, and sexual motor patterns in captive baboons (superspecies *Papio cynocephalus*). *Behaviour.* 31: 399-412. 1968.
- Arnold PS, Racine RJ, Wise RA. Effects of atropine, reserpine, 6-hydroxydopamine and handling on seizure development in the rat. *Exp. Neurol.* 40:457-470. 1973.
- Aronson LR, Cooper ML. Olfactory deprivation and mating behavior in sexually experienced male cats. *Behav. Biol.* 11:459-480. 1974.
- Barfield RJ, Wilson C, McDonald PG. Sexual behavior: Extreme reduction of postejaculatory refractory period by midbrain lesion in male rats. *Science.* 189:147-149. 1975.
- Baum MJ. Differentiation of coital behavior in mammals: a comparative analysis. *Neurosc. Biobehav. Rev.* 3:265-284. 1979.
- Baum MJ, Brand T, Ooms MP, Vreeburg JTM, Slob AK. Immediate postnatal rise in whole body androgen content in male rats: correlation with increased testicular content and reduced body clearance of testosterone. *Biol. Reprod.* 38:980-986. 1988.
- Baum MJ, Everitt BJ. Increased expression of c-fos in the medial preoptic area after mating in male rats: role of afferent inputs from the medial amygdala and midbrain central tegmental field. *Neurosc.* 50:627-646. 1992.
- Baum MJ, Woutersen PJA, Slob AK. Sex difference in whole-body androgen content in rats on fetal days 18 and 19 without evidence that androgen passes from males to females. *Biol. Reprod.* 44:747-751. 1991.
- Baum MJ, Vreeburg JTM. Copulation in castrated male rats following combined treatment with estradiol and dihydrotestosterone. *Science.* 182:283-285. 1973.
- Bakker J. Sexual differentiation of the brain and partner preference in the male rat. Tesis de doctorado. Erasmus Universiteit. Rotterdam, Netherlands. 1996.
- Bakker J, Baum MJ, Slob AK. Neonatal inhibition of brain estrogen formation and later neural Fos responses to chemosensory stimulation in the male rat. *Neuroscience.* 74:251-260. 1996.
- Beach F. Analysis of factors involved in the arousal, maintenance and manifestation of sexual excitement in male animals. *Psy. Med.* 4:173-198. 1942
- Beach F. Factors involved in the control of mounting behavior by female mammals. En: *Reproduction and sexual behavior.* M Diamond (Ed). Indiana University Press. Bloomington. 1968. Pp. : 469-485.

- Beach F. Sexual attractivity, proceptivity, and receptivity in female mammals. *Horm. Behav.* 7:105-138. 1976.
- Beach FA, Holz-Tucker AM. Effects of different concentrations of androgen upon sexual behavior in castrated male rats. *J. Com. Physiol. Psychol.* 42: 433-453. 1949.
- Beach FA, Levinson G. Effects of androgen on the glands penis and mating behavior of castrated male rats. *J. Exp. Zool.* 114:159-171. 1950.
- Bellringer JF, Pratt HPM, Keverne EB. Involvement of the vomeronasal organ and prolactin in pheromonal induction of delayed implantation in mice. *J. Reprod. Fertil.* 59:223-228. 1980.
- Benjamin RM, Jackson JC, Golden GT, West CHK. Sources of olfactory inputs to opossum mediodorsal nucleus identified by horseradish peroxidase and autoradiographic methods. *J. Comp. Neurol.* 207:358-368. 1982.
- Boast CA, McIntyre DC. Bilateral kindled foci and inhibitory behavior in rats: a functional lesion effect. *Physiol. Behav.* 18:25-28. 1977.
- Brand T, Kroonen J, Mos J, Slob Ak. Adult partner preference behavior in male rats affected by perinatal endocrine manipulations. *Horm. Behav.* 25:323-341.
- Bressler SC, Baum MJ. Sex comparison of neuronal FOS immunoreactivity in the rat vomeronasal projection circuit after chemosensory stimulation. *Neuroscience.* 71:1063-1072. 1996.
- Brookhart JM, Dey FL. Reduction of sexual behavior in male guinea-pigs by hypothalamic lesions. *Am. J. Physiol.* 133:551-554. 1941.
- Caggiula AR, Antelman SM, Zigmond MS. Ineffectiveness of sexually arousing stimulation after hypothalamic lesions in the rat. *Physiol. Behav.* 12:313-316. 1974.
- Cain DP. The role of the olfactory bulb in limbic mechanisms. *Psychol. Bull.* 8:654-671. 1974.
- Carr WJ, Loeb LS, Dissinger ML. Responses of rats to sex odors. *J. Com. Physiol. Psychol.* 59:370-377. 1965.
- Carr WJ, Loeb LS, Wylie NR. Responses to feminine odors in normal and castrated male rats. *J. Com. Physiol. Psychol.* 62:336-338. 1966.
- Carr WJ, Solberg B, Pfaffmann C. The olfactory threshold for estrous female urine in normal and castrated male rats. *J. Com. Physiol. Psychol.* 55:415-417. 1962.
- Carrer HF. Mesencephalic participation in the control of sexual behavior in the female rat. *J Comp Physiol Psychol.* 92:877-887. 1978.
- Celotti F, Melcangi RC, Martini L. The 5-reductase in the brain : molecular aspects and relation to brain function. *Fron. Neuroendo.* 13:163 -215. 1992.
- Chiba, T, Murata Y. Afferent and efferent connections of the medial preoptic area in the rat: a WGA-HRP study. *Brain. Res. Bull.* 14:261-272. 1985.
- Clemens L, Christensen. *Sexual Behavior. En : The behavior of domestic animals.* Hafez (Ed). Bailliere Tindal, London. 1975. Pp. : 108-143.

- Commins D, Yahr P. Lesions of the sexually dimorphic area disrupt mating and marking in male gerbils. *Brain Res. Bull.* 13:1985-1993. 1984.
- Conrad LCA, Pfaff DW. Efferents from medial basal forebrain and hypothalamus in the rat. I. An autoradiographic study of the medial preoptic area. *J. Comp. Neurol.* 169:185-220. 1976.
- Corbier P, Kerdelhue B, Picon R, Roffi J. Changes in testicular weight, serum gonadotropin secretion, and testosterone levels before, during, and after birth in the perinatal rat. *Endocrinology.* 103: 1985-1999. 1978.
- Dahl M, Dam M. Sleep and epilepsy. *Ann. Clin. Res.* 17:235-242. 1985.
- Davis PG, Chaptal CV, McEwen BS. Independence of the differentiation of masculine and feminine sexual behavior in rats. *Horm. Behav.* 12:12-19. 1979.
- Davidson JM. Characteristics of sex behaviour in male rats following castration. *Anim. Behav.* 14:266-272. 1966.
- Davidson JM. Effects of estrogen on the sexual behavior of males rats. *Endocrinology.* 84:1365-1372. 1969.
- De Olmos J, Hardy H, Heimer L. The afferent connections of the main and accessory olfactory bulb formations in the rat : An experimental HRP-study. *J. Comp. Neurol.* 181:213-224. 1978.
- Dudley CA, Rajendren G, Moss RL. Induction of FOS immunoreactivity in central accessory olfactory structures of the female rat following exposure to conspecific males. *Mol. Cell. Neurosci.* 3:360-369. 1992.
- Dörner G, Hinz G. Homosexuality of neonatally castrated male rats following androgen substitution in adulthood. *Ger. Med. Mon.* 12:281-283. 1967.
- Edwards DA. Non-sensory involvement of the olfactory bulbs in the mediation of social behaviors. *Behav. Biol.* 11:287-302. 1974.
- Edwards DA, Griffis KT, Tardivel C. Olfactory bulb removal: effects on sexual behavior and partner preference in male rats. *Physiol. Behav.* 48:447-450. 1990.
- Emery DE, Sachs BD. Ejaculatory pattern in female rats without androgen treatment. *Science.* 190:484-486. 1975.
- Emery DE, Sachs BD. Copulatory behavior in male rats with lesions in the bed nucleus of the stria terminalis. *Physiol. Behav.* 17:803-806. 1976.
- Fang J, Clemens LG. Contextual determinants of female-female mounting in laboratory rats. *Anim. Behav.* 57:545-555. 1999.
- Feder H, Naftolin F, Ryan KJ. Male and female sexual responses in male rats given estradiol benzoate and 5-androstan-17 $\beta$ -lo-3-one propionate. *Endocrinology.* 94:136-141. 1974.
- Feder H, Whalen RE. Feminine behavior in neonatally castrated and estrogen-treated male rats. *Science.* 147:306-307. 1965.
- Fernandez-Fewell GD, Meredith M. C-fos expression in vomeronasal pathways of mated or pheromone stimulated male golden hamsters: Contributions from vomeronasal sensory input and expression related to mating performance. *J. Neurosci.* 14:3643-3654. 1994.

- Fleming A, Vaccarino F, Tambosso L, Chee Ph. Vomeronasal and olfactory system modulation of maternal behavior in rat. *Science*. 203:372-374. 1979.
- Fletcher IC, Lindsay DR. Sensory involvement in the mating behaviour of domestic sheep. *Anim. Behav.* 16:410-414. 1968.
- Floody OR, Pfaff DW. Communication among hamsters by high-frequency acoustic signals: III. Responses evoked by natural and synthetic ultrasounds. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 91: 820-829. 1977.
- Floody OR, Pfaff DW, Lewis CD. Communication among hamsters by high-frequency acoustic signals: II. Determinants of calling by females and males. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 91: 807-819. 1977.
- Giantonio GW, Lund NL, Gerall AA. Effect of diencephalic and rhinencephalic lesions on the male rat's sexual behavior. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 73:38-46. 1970
- Geyer LA, Barfield RJ, McIntosh TK. Influence of gonadal hormones and sexual behavior on ultrasonic vocalization in rats II. Treatment of males. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 92: 447-456. 1978.
- Ginton A, Merari A. Long range effects of MPOA lesion on mating behavior in the male rat. *Brain. Res.* 120: 158-163. 1977.
- Giovannelli L, Bloom FE. C-Fos protein expression in the rat subfornical organ following osmotic stimulation. *Neurosci. Lett.* 139:1-6. 1992.
- Goldfoot DA, Goy RW, Neff DA, Wallen K, McBair MC. Social influences upon the display of sexually dimorphic behaviour in rhesus monkeys: isosexual rearing. *Ar. Sex. Behav.* 13:395-412. 1984.
- Goldfoot DA, Essock-Vitale SM, Asa C, Thornton JE, Leshner AL. Anosmia in male rhesus monkeys does not alter copulatory activity with cycling females. *Science*. 199:1095-1096. 1978.
- Grady KL, Phoenix CH. Hormonal determinants of mating behavior; the display of feminine behavior by adult male rats castrated neonatally. *Amer. Zoologist.* 3:482-483. 1963.
- Grady KL, Phoenix CH, Young WC. Role of the developing rat testis in differentiation of the neural tissues mediating mating behavior. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 59:176-182. 1965.
- Goddard G, McIntyre DC, Leech CK. A permanent change in brain function resulting from daily electrical stimulation. *Expe. Neurol.* 25:295-330. 1969.
- Gray GD, Davis HN, Dewsbury DA. Masculine sexual behavior in male and female rats following perinatal manipulation of androgen: Effects of genital anesthetization and sexual experience. *Horm. Behav.* 7:317-329. 1976.
- Halpern M. The organization and function of the vomeronasal system. *Ann. Rev. Neurosci.* 10:325-362. 1987.
- Hansen S, Kohler C, Goldstein M, Steinbusch HVM. Effects of ibotenic acid-induced neuronal degeneration in the medial preoptic area and the lateral hypothalamic area on sexual behavior in the male rat. *Brain. Res.* 239:213-232. 1982.
- Hard E, Larsson K. Effects of mounts without intromissions upon sexual behavior in male rats. *Animal Behav.* 16:538-540. 1968.

Hardy DF, Debold JF. Effects of mounts without intromission upon the behavior of female rats during the onset of estrogen-induced heat. *Physiol. Behav.* 7:643-645. 1971.

Hardy DF, Debold JF. Effects of coital stimulation upon behavior of the female rat. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 78:400-408. 1972.

Harris GW, Michael RP. The activation of sexual behavior by hypothalamic implants of estrogen. *J. Physiol.* 171:275-301. 1964.

Harris VS, Sachs BD. Copulatory behavior in male rats following amygdaloid lesions. *Brain. Res.* 86:514-518. 1975.

Hart B, Haugen CM. Scent marking and sexual behavior maintained in anosmic dogs. *Commun. Behav. Biol.* 6:131-135. 1972.

Hawk HW, Bellows RA. Ganado de engorda y lechero. En: ESE Hafez (Ed). *Reproducción e inseminación artificial en animales*. Interamericana. México D. F. 1984. Pp. : 322-323.

Heimer L, Larsson K. Impairment of mating behavior in male rats following lesions in the preoptic-anterior hypothalamic continuum. *Brain. Res.* 3:248-263. 1966/1967.

Hetta J, Meyerson BJ. Sexual motivation in the male rat: a methodological study of sex specific orientation and the effects of gonadal hormones. *Acta. Physiol. Scand.* 453:1-68. 1978.

Hillarp NA, Olivercrona H, Silfverskiöld W. Evidence for the participation of the preoptic area in male mating behavior. *Experientia.* 10:224-227. 1954.

Hlíňák Z. Precopulatory behavior of laboratory rat: an ethological approach. *Activi. Nerv. Sup.* 28: 108-116. 1986.

Hlíňák Z, Madlafousek J, Spinka M. Transition from precopulatory to copulatory behavior in male rats with lesions in medial preoptic area: dependance on precopulatory pattern of female. *Activi. Nerv. Sup.* 29: 257-262. 1987.

Hoshina Y, Takeo T, Sato T, Sakuma Y. Axon-sparing lesion of the preoptic area enhances receptivity and diminishes propioceptivity among components of female rat sexual behavior, conditioned place preference and partner preference. *Psychopharmacology.* 102:243-256. 1994.

Holmes GL, Chronopoulos A, Strafstrom H, Mikati M A, Thurber SJ, Hyde PA, Thompson JL. Effects of kindling on subsequent learning, memory, behavior, and seizure susceptibility. *Dev. Brain. Res.* 73 :71-77. 1993.

Iadarola MJ, Shin C, McNamara JO, Yang H. Changes in dynorphin, enkephalin, and choleystokinin content of hippocampus and substantia nigra after amygdala kindling. *Brain. Res.* 365:185-191. 1986.

Ingersoll DW. Role of the vomeronasal organ in murine priming and signalling hemocommunication system. *Dissert. Abst.* 41B:3215-3225. 1981.

Johnson JB. Further contributions to the study of the evolution of the forebrain. *J. Comp. Neurol.* 35:337-481. 1923.

Johnson WA, Tiefer L. Mating in castrated male rats during combined treatment with estradiol benzoate and fluoxymesterone. *Endocrinology.* 95:912-915. 1974.

Krieger, MS, Barfield RJ. Masculine sexual behavior: Pacing and ejaculatory patterns in female rat. *Behav. Biol.* 18:379-386. 1976.

Larsson K. The Pattern of sexual behavior in the male rat. En : *Conditioning and sexual behavior in the male albino rat.* J. Elmgren (Ed). Almqvist & Wiksell, Stockhol. 1956. Pp. : 1-269.

Larsson K. Failure of gonadal and gonadotrophic hormones to compensate for an impaired sexual function in anosmic male rats. *Physiol. Behav.* 4 :733-737. 1969.

Larsson K. Sexual impairment of inexperienced male rats following pre- and postpubertal olfactory bulbectomy. *Physiol. Behav.* 14 :195-199. 1975.

Larsson K. Features of the neuroendocrine regulation of masculine sexual behavior. En : *Endocrine control of sexual behavior.* C Beyer (Ed). Raven Press, New York. 1979. Pp.77-163.

Lehman MN, Winans SS. Vomeronasal and olfactory pathways to the amygdala controlling male hamster sexual behavior : Autoradiographic and behavioral analyses. *Brain. Res.* 240 :27-41. 1982.

LeMagnen J. Les phenomenes olfacto-sexuels chez le rat blanc. *Arch. Sci. Physiol.* 6:295-322. 1952.

Lisk RD. Copulatory activity of the male rat following placement of preoptic-anterior hypothalamic lesions. *Exp. Brain. Res.* 5:306-313. 1968.

Lodder J, Baum MJ. Facilitation of mounting behavior by dihydrotestosterone propionate in castrated estradiol benzoate-treated male rats following pudendodectomy. *Behav. Biol.* 20:141-148. 1977.

Lupo C, Dessi-Fulgheri F, Musi B, Larsson K. The effect of medial preoptic-anterior hypothalamic lesions on testosterone plasma levels and testosterone conversion in the hypothalamus of male rats. *Neurosc. Lett.* 39:261-265. 1983.

Luttge WG, Whalen RE. Dihydrotestosterone, androstenedione, testosterone: Comparative effectiveness in masculinizing and defeminizing reproductive systems in male and female rats. *Horm. Behav.* 1:265-281. 1970.

MacLusky NJ, Naftolin F. Sexual differentiation of the central nervous system. *Science.* 211:1294-1302. 1981.

MacLusky NJ, Philip A, Hurlburt C, Naftolin F. Estrogen formation in the developing rat brain: sex differences in aromatase activity during early post-natal life. *Psychoneuroendocrinology.* 10:355-361. 1985.

Majkowski J. Kindling: a model of epilepsy and memory. *Act Neurol. Scandinav.* 74. Suppl. 109:97-108. 1986.

Malsbury ChW. Facilitation of male rat copulatory behavior by electrical stimulation of the medial preoptic area. *Physiol. Behav.* 7: 797-805. 1971.

Matuszczyk JF, Appa RS, Larson K. Age-dependent variations in the sexual preference of male rats. *Physiol. Behav.* 55 :827-830. 1994.

McCarthy MM. Molecular aspects of sexual differentiation of the rodent brain. *Psychoneuroendocrinology* 19:415-427. 1994.

McDonald PG, Doughty C. Androgen sterilization in the neonatal female rat and its inhibition by estrogen antagonist. *Neuroendocrinology.* 13: 182-188. 1974.

- McEwen BS, Lieberburg I, Chaptal C, Krey LC. Aromatization: important for sexual differentiation of the neonatal rat brain. *Horm. Behav.* 9:249-263. 1977.
- McEwen BS, Pfaff DW, Zigmond RE. Factors influencing sex hormone uptake by rat brain regions. III. Effects of competing steroids on testosterone uptake. *Brain. Res.* 21:29-38. 1970.
- McIntosh TK, Barfield RJ. The temporal patternig of 40-60 kHz ultrasonic vocalizations and copulation in the rat (*Rattus norvegicus*) *Behav. Neural. Biol.* 29 : 349-358. 1980.
- McIntyre DC, Racine RJ. Kindling mechanisms: current progressson an experimental epilepsy model. *Prog. Neurobiol.* 27:1-12. 1986.
- McNamara JO. Kindling model of epilepsy. En *Advances in Neurology*. Eds. Delgado-Esmeta AV, Ward Jr AA, Woodbury DM, Porter RJ. Raven New York. Pp 303-318. 1986.
- McNamara JO, Bonhaus, DW, Crain BJ, Gellman RL, Shin Ch. Biochemical and pharmacological studies of neurotransmitters in the kindling model. En: *Neurotransmitters and epilepsy*. PC. Jobc, HE, Laird Eds. Human Press, New York. 1987. Pp. :115-160.
- Meisel RL, Lumia AR, Sachs BD. Effects of olfactory bulb removal and flank shock on copulation in male rats. *Physiol Behav.* 25:383-387. 1980.
- Meisel RL, Lumia AR, Sachs BD. Disruption of copulatory behavior of male rats by olfactory bulbectomy at two, but not ten, days of age. *Exp. Neurol.* 77 :612-624. 1982.
- Meisel RL, Sachs BD. The physiology of male sexual behavior. En: *The physiology of reproduction* (2<sup>nd</sup> edt). E. Knobil, JD. Neill (Eds). Raven Press, New York. 1994. Pp. : 3-105. 1994.
- Meisel RL, Sachs BD, Lumia AR. Olfactory bulb control of sexual function. En: *Early brain damage, Vol 2. Neurobiology and behavior* . S. Finger, CR Almli (Eds). Academic Press, Orlando Fla. 1984. Pp. : 253-268.
- Menella JA, Moltz H. Infanticide in rats: male strategy and female counter-strategy. *Physiol. Behav.* 42:19-28.1988.
- Merari A, Ginton A. Characteristics of exaggerated sexual behavior induced induced by electrical stimulation of the medial preoptic area in male rats. *Brain. Res.* 86: 97-108. 1975.
- Meyerson BJ, Lindström LH. Sexual motivation in the female rat: a methodological study applied to the investigation of the effect of estradiol benzoate. *Ac. Physiol. Scand.* 389:1-80. 1973.
- Michael RP, Wilson M. Effects of castracion and hormone replacement in fully adult male rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *Endocrinology.* 95:150-159. 1974
- Mikulka PS, Freeman FG. The effect of amygdala kindling seizures on the adquisition of teste and odor aversions. *Physiol. Behav.* 32:967-72.1984.
- Morali G, Beyer C. Neuroendocrine control of mammals estrous behavior. En: *Endocrine control of sexual behavior*. C. Beyer (Ed). New York, Raven Press. 1979. Pp. : 33-71.
- Morgan HD, Watchus JA, Fleming AS, Milgram NW. The effects of kindling-like stimulation of the medial preoptic area and the medial amygdala on maternal behavior in female rats. 27<sup>th</sup> Annual conference on reproductive behavior.1995.

- Morris D. The causation of pseudomale and pseudofemale behaviour: a further comment. *Behaviour*. 8:46-56.1955.
- Nance DM. Effects of small hypothalamic and preoptic lesions on gonadotropin control and reproductive behavior in the rat. *Anat. Rec.* 187:664.1977.
- Nyby J. Ultrasonic vocalizations during sex behavior of male house mice (*Mus musculus*): A description. *Behav. Neural. Biol.* 39: 128-134. 1983.
- Olster DH, Blaustein JD. Progesterone facilitation of lordosis in male and female Sprague-Dawley rats following priming with estradiol pulses. *Horm. Behav.* 22:294-304.1988.
- Paredes RG, Agmo A. Stereospecific actions of baclofen on sociosexual behavior, locomotor activity and motor execution. *Psychopharmacology*. 97:358-364.1989.
- Paredes RG, Baum MJ. Role of the medial preoptic area/anterior hypothalamus in the control of masculine sexual behavior. En: *Annual review of sex research*, Vol 8. RC. Rosen, CM. Davis, HJ. Ruppel (Eds). Society scientific study of sexuality, Mason City. 1997. Pp. : 68-101.
- Paredes RG, Haller AE, Manero MC, Alvarado R, Agmo A. Medial preoptic area kindling induces sexual behavior in sexually inactive male rats. *Brain. Res.* 515, 20-26. 1990.
- Paredes RG, Highland L, Karam P. Socio-sexual behavior in male rats after lesions of the medial preoptic area: evidence for reduced sexual motivation. *Brain. Res.* 618:271-276. 1993.
- Paredes RG, Lopez ME, Baum MJ. Testosterone augments neuronal fos responses to estrous odors throughout the vomeronasal projection pathway of gonadectomized male and female rats. *Horm. Behav.* 33:48-57.1998.
- Paredes RG, Piña AL, Bermudez-Rattoni F. Hypothalamic but not cortical grafts induce recovery of sexual behavior and connectivity in medial preoptic area-lesioned rats. *Brain. Res.* 629: 351-355. 1993.
- Paredes RG, Piña AL, Fernandez-Ruiz, J, Bermudez-Rattoni F. Fetal brain transplants induce recovery of male sexual behavior in medial preoptic area-lesioned rats. *Brain. Res.* 523:331-336. 1990.
- Paxinos. The rat nervous system. G. Paxinos (Ed). Academic Press, London. 1995. Pp.:899-921.
- Paxinos G, Watson CH. The rat brain in stereotaxic coordinates. G. Paxinos (Ed). Academic Press, New York. 1982. Pp. :1-400.
- Peirce JT, Nuttall RL. Duration of sexual contacts in the rat. *J Comp Physiol Psychol.* 54:585-587. 1961.
- Pfaff DW, Sakuma Y. Facilitation of the lordosis reflex of female rats from the ventromedial nucleus of the hypothalamus. *J. Physiol (London)*. 288:189-202. 1979.
- Phoenix CH, Goy RW, Gerall AA, Young WC. Organizing action of prenatally administered testosterone propionate on the tissues mediating mating behavior in the female guinea pig. *Endocrinology*. 65:369-382. 1959.
- Pomerantz SM, Clemens LG. Ultrasonic vocalizations in male deer mice (*Peromyscus maniculatus bairdi*): Their role in male sexual behavior. *Physiol. Behav.* 27 : 869-872. 1981.

Portillo W, Paredes RG. Control neuronal de la conducta sexual masculina. En: *Biología de la Reproducción*. J. Velázquez (Ed). Universidad Metropolitana, Unidad Iztapalapa. 1998. Pp. : 335-364.

Powers B, Valenstein ES. Sexual receptivity: facilitation by medial proptic lesions in female rats. *Science*. 175:1003-1005. 1972.

Racine RJ, Burnham WM, Gartner JG. Epileptiform activity and neural plasticity in limbic structures. *Brain Res*. 47:262-268. 1972.

Racine RJ. Modification of seizure activity by electrical stimulation: I After-discharge threshold. *Electroencepha. Clin. Neurophysiol*. 32:269-279. 1972.

Romero PR, Beltramino CA, Career HF. Participation of the olfactory system in the control of approach behavior of the female rat to the male. *Physiol. Behav*. 47:685-690. 1990.

Roos J, Roos M, Schaeffer C, Aron C. Sexual differences in the development of accessory olfactory bulbs in the rat. *J. Comp. Neurol*. 270:121-131. 1988.

Roselli CE, Hortobn LE, Resko JA. Distribution and regulation of aromatase activity in the rat hypothalamus and limbic system. *Endocrinology*. 117:2471-2477. 1985.

Sachs BD, Meisel RL. The physiology of male sexual behavior. En : *The physiology of reproduction*. E. Knobil, JD. Neill (Eds). Raven Press, New York. 1988. Pp. : 1393-1485.

Saito TR, Moltz H. Copulatory behavior of sexually naive and sexually experienced male rats following removal of the vomeronasal organ. *Physiol. Behav*. 37:507-510. 1986.

Scalia F, Winans SS. The differential projections of the olfactory bulb and accessory olfactory bulb in mammals. *J. Comp. Neurol*. 161 :31-56. 1975.

Scammell TE, Price KJ, Sagar SM. Hyperthermia induces c-fos expression in the preoptic area. *Brain. Res*. 618:303-307. 1993.

Schwartzkroin PA, Wyler AR. Mechanisms underlying epileptiform burst discharge. *Ann. Neurol*. 7:95-107. 1980.

Segovia A, Guillamón A. Sexual dimorphism in the vomeronasal pathway and sex differences in reproductive behaviors. *Brain. Res. Rev*. 18:51-74. 1993.

Segovia A, Guillamón A. Searching for sex differences in the vomeronasal pathway. *Horm. Behav*. 30:618-626. 1996.

Selmanoff MK, Brodtkin LD, Weiner IR, Siiteri PK. Aromatization and 5-reduction of androgens in discrete hypothalamic and limbic regions of the male and female rat. *Endocrinology*. 101:841-848. 1977.

Shin C, Rigsbee LC, McNamara JO. Anti-seizure and anti-epileptogenic effect of  $\gamma$ -vinyl  $\gamma$ -Aminobutyric acid in amygdaloid kindling. *Brain. Res*. 398:370-374. 1986.

Shiosaka S, Sakanaka M, Inagaki S, Senba E, Hara Y, Takatsuki K, Takagi H, Kawai Y, Thohyama M. Putative neurotransmitters in the amygdaloid complex with special reference to peptidergic pathways. En : *Chemical Neuroanatomy*. PC. Emson (Ed.). Raven Press, New York. 1983. Pp. : 359-389.

Shiple MT, Adamek GD. The connections of the mouse olfactory bulb : A study using orthograde and anterograde transport of wheatgerm agglutinin conjugated to horseradish peroxidase. *Brain. Res. Bull*. 12 :221-226. 1984.

- Shouse MN, Serman MB. Kindling a sleep disorder: degree of sleep pathology predicts kindled seizure susceptibility in cats. *Brain. Res.* 271:196-200.1983.
- Simerly RB, Gorski RA, Swanson LW. Neurotransmitter specificity of cells and fibers in the medial preoptic nucleus: An immunohistochemical study in the rat. *J. Comp. Neurol.* 246: 343-363.1986.
- Simerly RB, Swanson LW. Projections of the medial preoptic nucleus: A *phaseolis vulgaris* leucoagglutinin anterograde tract-tracing study in the rat. *J. Comp. Neurol.* 270: 209-242. 1988.
- Slob AK, van der Werff JJ, Bosch T. The fundamental role of gonadal steroids in sexual behavior. *Bailliere's Clin Psychiatry.* 3:1-24.1997.
- Slob AK, Bogers H, van Stolk MA. Effects of gonadectomy and exogenous gonadal steroids on sex differences in open-field behavior of adult rats. *Behav. Brain. Res.* 2:347-362.1981.
- Slob AK, de Klerk LWL, Brand T. Homosexual and heterosexual partner preference in ovariectomized female rats: effects of testosterone, estradiol and mating experience. *Physiol. Behav.* 41:571-576.1987.
- Smith MS, Freeman ME, Neill JD. 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.* 96:219-226.1975.
- Soulairac A, Soulairac ML. Effects de lésions hypothalamiques sur le comportement sexuel et le tractus du rat male. *Annals. Endocrinol (Paris).* 17:731-745.1956.
- Stefanick ML, Davidson JM. Genital responses in noncopulators and rats with lesions in the medial preoptic area or midthoracic spinal cord. *Physiol. Behav.* 41: 439-444. 1987.
- Stern JJ. Responses of male rats to sex odors. *Physiol. Behav.* 5:519-524. 1970.
- Stone J. Amygdala kindling effects on sleep and memory in rats. *Brain. Res.* 449:135-140.1988.
- Swann JM. Gonadal steroids regulate behavioral responses to pheromones by actions on a subdivision of the medial preoptic nucleus. *Brain. Res.* 750:189-194. 1997.
- Talmage-Riggs G, Ansel S. Homosexual behavior and dominance in a group of captive squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*). *Folia primatologica.* 19:61-72.1973.
- Tanaka T, Lange H. L'effet d'émbrasement (kindling effect) par stimulation amygdalienne chez le chat et le rat: Approche neurophysiologique et neuropharmacologique. *Rev. Electroencephalogr. Neurophysiol. Clin.* 5:41-44. 1975.
- Thorton JE. Heterotypical sexual behavior: implications from variations. En: *Olfaction and endocrine regulation* IRL Komisaruk, Ed. Siegel, Cheng y Feder. Press, London. Pp. 11-21. 1986.
- Tobet SA, Baum MJ, Tang HB, Shim JH, Canick JA. Aromatase activity in the perinatal rat forebrain: effects of age, sex and intrauterine position. *Dev. Brain. Res.* 23:171-178. 1985.
- Tsuru Y, Ishimura K, Fujita H, Osawa Y. Immunocytochemical localization of aromatase-containing neurons in the rat brain during pre- and postnatal development. *Cell. Tiss. Res.* 278:29-39. 1994.
- Vega Matuszczyk J, Larsson K. Experience modulates the influence of gonadal hormones on partner preference. *Physiol. Behav.* 55:527-531.1994.

- Vreeburg JTM, van der Vaart PDM, van der Schoot P. Prevention of central defeminization but not masculinization in male rats by inhibition neonatally of oestrogen biosynthesis. *J. Endocrinol.* 74:375-382. 1977.
- Vreeburg JTM, Groeneveld JO, Post PE, Ooms MP. Concentrations of testosterone and androsterone in peripheral and umbilical venous plasma of fetal rats. *J. Reprod. Fert.* 68:171-175. 1983.
- Wada JA, Sato M, Corcoran ME. Persistent seizures susceptibility and recurrent spontaneous seizures susceptibility and recurrent spontaneous seizures in kindling cats. *Epilepsia.* 15:465-478.
- Weisz J, Ward IL. Plasma testosterone and progesterone titers of pregnant rats, their male and female fetuses and neonatal offspring. *Endocrinology.* 106: 81-87. 1980.
- Wenzel BM. The olfactory system and behavior. En : *Limbic and autonomic nervous systems research.* LV. Di Cara (Ed). Plenum Press, New York. 1974. Pp. : 230-257.
- Whalen RE, Beach FA, Kuehn RE. Effects of exogenous androgen on sexually responsive and unresponsive male rats. *Endocrinology.* 69:373-380. 1961.
- Whalen RE, Edwards DA. Hormonal determinants of the development of masculine and feminine behavior in male and female rats. *Anat. Rec.* 157:173-180. 1967.
- Whitney G, Coble JR, Stockton MD, Tilson EF. Ultrasonic emissions: Do they facilitate courtship in mice ? *J. Comp. Physiol. Psychol.* 84 :445-452. 1973.
- Winans SS, Powers JB. Olfactory and vomeronasal desferentiation of male hamsters: histological and behavioral analyses. *Brain. Res.* 126:325-344. 1977.
- Zuckerman S. *The social behavior of monkeys and apes.* Harcourt, Brace, New York. 1932.