



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**Receptores a testosterona en el área preóptica media y conducta paterna
en el ratón de los volcanes (*Neotomodon alstoni*)**

TESIS QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

B I Ó L O G O
P R E S E N T A:

Guillermo Alberto Ramos Blancas

DIRECTORA DE TESIS:

Dra. Juana Alba Luis Díaz

Dictaminadores: Dr. Rodolfo Cárdenas Reygadas
Dr. Raúl Cueva del Castillo M.
M. en C. Martha O. Salcedo Álvarez
M. en C. Mónica Chávez Maldonado

Los Reyes Iztacala, Edo de México Octubre de 2011





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.

Dedicatoria

Son muchas las personas especiales a las que me gustaría agradecer su amistad, apoyo, ánimo y compañía, en las diferentes etapas de mi vida. Algunas están presentes conmigo y otras en mis recuerdos y corazón. Sin importar donde estén si algún día llegan a leer estas dedicatorias quiero darles las gracias por formar parte de mí, por todo lo que me han brindado.

En especial a ti mami, no me equivoco en decirte que eres la mejor mamá del mundo, te doy las gracias por todo el apoyo y la confianza que depositaste en mí.

Abuelo, este gran logro quiero compartirlo con usted y darle las gracias por haber sido un gran impulso para mi desarrollo personal.

A mi hermano, que has sido una gran enseñanza para mí.

A mi segunda familia, mis amigos sin excluir a ninguno, Saris, Mary, Pablo, N. Valeria, Chuletita, Negro, Anita, gracias por los momentos compartidos por el apoyo y los jalones de oreja cuando los necesitaba.

A Karemi, gracias por haberme soportado apoyado y ayudarme con este gran logro del que formas parte, te amo.

A mis compañeros de laboratorio, Diana, Marco, Gris, Adrian y Cinthya gracias por soportarme.

Agradecimientos

Quiero agradecer a todas las personas que han creído en mí y que de una u otra manera me ayudaron a la realización de este trabajo

A todos mis profesores no solo de la carrera también de mi formación académica gracias por haber sido un pilar en mi desarrollo.

Al M. en C. Martín Martínez y la Dra. Juanita por haberme acogido en el laboratorio, apoyarme y brindarme su amistad.

A mis sinodales, Dr. Rodolfo, M. en C. Mónica, Dr. Raúl y M. en C. Martha gracias por dedicar tiempo a revisar y corregir mi trabajo, y a la Bióloga Julia Reyes Realy por el apoyo y los consejos brindados para la estandarización de la técnica inmunológica.

En especial al M. en C. Agustín Carmona Castro por la ayuda en las orquidectomias, y las tomas de muestra sanguíneas.

A la M. en C. Guadalupe Eugenia Daleth Guedea Fernández y al laboratorio de microscopia por el apoyo brindado para el procesamiento de imágenes.

Al M. en P. E. Jesús Delgado Solís, por el apoyo en el mantenimiento de la colonia de ratón de los Volcanes

A la UNAM, por permitirme formar parte de esta máxima casa de estudios.

Proyecto Financiado por PAPIIT (IN223610) y PAPCA 2009-2010

*“El sabio no se sienta para lamentarse,
sino que se pone alegremente a su tarea de reparar
el daño hecho. William Shakespeare”*

1. Lista de Abreviaturas	6
2. Resumen	7
3. Introducción	8
4. Bases sensoriales implicadas en la conducta paterna	9
4.1. Experiencia sexual	9
4.2. Presencia de la hembra y las crías	10
4.3. Experiencia social	11
4.4. Bases Neurales de la conducta paterna	12
4.5. Área Preóptica Media (MPOA)	15
5. Regulación hormonal de la conducta paterna	18
5.1. Oxitocina	18
5.2. Vasopresina	19
5.3. Prolactina	19
5.4. Progesterona	20
5.5. Glucocorticoides	20
5.6. Testosterona	21
6. Antecedentes de modelo de estudio	25
6.1. Características de la especie	25
6.2. Hábitat	26
7. Objetivos	27
7.1. Objetivos particulares	27
8. Hipótesis	28
9. Materiales y Métodos	29
9.1. Selección de los animales de estudio	29
9.2. Pruebas de conducta paterna	30
9.3. Orquidectomías	30
9.4. Implantes de testosterona	31

9.5. Obtención de muestras sanguíneas	31
9.6. Inmunohistoquímica para receptores de andrógeno (AR) en MPOA	32
9.7. Análisis de datos	32
10. Resultados	33
10.1. Conducta paterna	33
10.2. Concentraciones de testosterona	35
10.3. Inmunohistoquímica	37
11. Discusión	39
12. Conclusiones	42
13. Referencias	43
14. Anexos	56

Lista de abreviaturas

AON	Núcleo Olfativo Anterior
AR	Receptores Andrógenicos
AVP	Receptores Arginina-Vasopresina
AVP-ir	Receptores Arginina-Vasopresina inmunoreactivos
BNST	Núcleo de la Estria Terminalis
DPA	Días Post apareamiento
DN	Día del Nacimiento
E2	Estradiol
ER α -ir	Receptores a Estrógenos inmunoreactivos
LS	Septo Lateral
MA	Amígdala Media
MC	Machos Castrados
MCEST	Machos Castrados con Experiencia Sexual y testosterona
MCSEST	Machos Castrados sin Experiencia Sexual y testosterona
Mm	Milímetros
MPOA	Área Preóptica Media
MS	Machos con Orquidectomía Simulada
m.s.n.m	Metros sobre el Nivel del Mar
OT	Oxitocina
vBST	Núcleo Ventral de la Estria Terminalis

RESUMEN

En varias especies de mamíferos, se ha señalado que la testosterona es necesaria para el despliegue de la conducta paterna. Así mismo, se ha establecido que el área preóptica media, es la región neural más importante en la regulación de esta conducta. El ratón de los Volcanes (*Neotomodon alstoni*) es una especie endémica de México. En cautiverio el macho de este roedor, exhibe conducta paterna, lo cual lo convierte en un buen modelo para el estudio de las bases hormonales de esta conducta. Este estudio tuvo como objetivo determinar el efecto de la castración y el reemplazamiento con testosterona, en la conducta paterna de este roedor. Además, de establecer si la densidad de receptores a testosterona en el área preóptica media tiene relación con la exhibición de cuidados paternos o agresión. Se utilizaron 30 ratones machos sin experiencia sexual y 11 con experiencia sexual, que fueron seleccionados por su agresión o indiferencia hacia las crías. Estos animales se organizaron en cuatro grupos, los tres primeros incluyeron animales sin experiencia sexual y el cuarto, animales con experiencia sexual. Los ratones del primer grupo fueron castrados bilateralmente (MC), los del segundo tuvieron castración simulada y se les colocaron implantes vacíos (MS), los del tercer (MCSEST) y cuarto grupo (MCEST) fueron castrados bilateralmente e implantados con testosterona. Entre cuatro y cinco días después de la orquidectomía o la colocación del implante, cada uno de los ratones fue sometido a pruebas de conducta paterna. Se les extrajeron muestras sanguíneas por vía retrorbital, una semana después de la castración e inmediatamente después de las pruebas de conducta paterna, para determinar los niveles de testosterona en plasma por RIA. Así mismo, después de las pruebas de conducta paterna fueron sacrificados dos machos; uno que presentó conducta paterna y otro agresivo hacia las crías. Los cerebros de estos animales fueron procesados para inmunohistoquímica, con la finalidad de determinar la densidad y distribución de receptores a testosterona en el área preóptica media. Únicamente se indujo conducta paterna en los machos de los grupos El 36.36% de los ratones MCSEST y MCEST exhibieron conducta paterna. Los niveles periféricos de testosterona en estos ratones fueron significativamente más altos que los machos de los otros grupos. La densidad de receptores a testosterona en los ratones que exhibieron conducta paterna, fue cualitativamente mayor a la observada en los agresivos. Estos resultados sugieren que la testosterona puede estar involucrada en los mecanismos neuroendócrinos que suprimen el infanticidio y promueven la expresión de la conducta paterna en este roedor.

1. Introducción

La conducta paterna se define como el conjunto de actividades que realiza el macho en beneficio directo o indirecto de las crías y que reduce su propia adecuación (Clutton-Brock *et al.*, 1991; Dewsbury, 1985;) En algunos vertebrados después del nacimiento o la eclosión, los padres proveen de alimento, protección y refugio a las crías. La conducta materna y/o paterna constituye un elemento esencial en la estrategia reproductiva de muchas especies de aves y mamíferos (De Jong *et al.*, 2009).

En la mayoría de las especies de mamíferos la hembra se encarga del cuidado de sus hijos y sólo en un 10% de los géneros de estos vertebrados, el macho participa en el cuidado de las crías. Entre los mamíferos que presentan cuidados paternos se encuentran algunas especies de primates, carnívoros, perisodáctilos y roedores (Woodroffe, 1994). Estos últimos, la presencia de cuidados paternos ha sido relacionada con la organización social y el sistema de apareamiento, por lo que la conducta paterna es más común en roedores monógamos que en promiscuos (Kleiman y Malcom, 1981). La participación del macho en el cuidado de las crías ha sido descrita en varias especies de roedores como, *Peromyscus californicus* (ratón de california), *Microtus ochrogaster* (ratón de las praderas), *Phodopus campbelli* (hámster enano), *Meriones unguiculatus* (gerbo de Mongolia), entre otros. En estas especies el macho proporciona a las crías los mismos cuidados que las hembras, a excepción de la lactancia.

En diversos estudios se ha señalado que la conducta paterna es regulada por hormonas como, la prolactina, oxitocina, vasopresina, glucocorticoides, progesterona y testosterona, debido a que los niveles plasmáticos de estas hormonas varían a través del ciclo reproductivo de los machos de las especies que presentan cuidados bipaternos (Rosenblatt, 1992; Nunes, 2001; Ziegler y Snowdon, 2001).

2. Bases sensoriales implicadas en la conducta paterna

El infanticidio es una práctica que ocurre en muchas especies de mamíferos generalmente el macho cuando se encuentra a una hembra que ya tiene crías, las mata. Esta conducta provee ventajas reproductivas porque la hembra lactante puede entrar en estro, en un periodo muy breve (Trivers, 1973; Vom Saal y Howard 1982). Aunque la inhibición del infanticidio es necesaria para la exhibición de cuidados paternos, un macho que ya no es agresivo podría nunca ser paternal, por lo cual se cree que diferentes mecanismos median la inhibición del infanticidio y el inicio de la conducta paterna (Vom Saal, 1985).

Existe evidencia de que el apareamiento, la cohabitación con la hembra preñada y la presencia de las crías son estímulos que pueden inhibir el infanticidio y facilitar y la conducta paterna en los machos de los roedores, independientemente de su sistema de apareamiento (Brown *et al*, 1995; Bamshad *et al*, 1994).

2.1. Experiencia sexual

Los mecanismos involucrados en el inicio del comportamiento paterno parecen ser sexualmente específicos (Jakubowski y Terkel, 1982; Soroker, 1988; Gubernick, 1989); en el ratón de laboratorio (cepa CF1), alrededor del 50% de los machos sexualmente inexpertos muestran conducta infanticida, mientras que después del apareamiento entre el 80 y 100% exhiben conducta paterna (Vom Saal, 1982). En la rata macho el apareamiento y las señales químicas emitidas por la hembra preñada promueven la exhibición de cuidados paternos. (Mennella, 1988).

En el ratón de laboratorio (cepa CF1) la cohabitación con una hembra preñada, sin cópula previa, no inhibe el infanticidio (Perrigo, 1991, Palanza, 1991). Sin embargo, en ratones de tipo salvaje el infanticidio es inhibido en estas condiciones (Soroker, 1988). En

el gerbo de Mongolia (Elwood, 1977), en la rata Long Evans (Brown, 1986a), el ratón de laboratorio CF1 (Elwood, 1985) y en el ratón suizo (Palanza, 1991), la cópula y la cohabitación con la hembra preñada son factores necesarios para la exhibición de cuidados paternos. La cohabitación con una hembra ovariectomizada falla en inhibir el infanticidio en ratones de tipo salvaje, ratones suizos, ratón y rata de laboratorio (Brown, 1986a; McCarthy, 1986; Palanza, 1991; Soroker, 1988), se ha sugerido que la cópula puede ser el estímulo que inhibe el infanticidio.

Las variaciones observadas entre especies y cepas respecto a los estímulos que inhiben el infanticidio y promueven la conducta paterna, no permiten determinar si la eyaculación en una breve interacción con la hembra, es suficiente para inhibir el infanticidio, o sí es necesaria la cohabitación con la hembra preñada durante un largo periodo de tiempo, después de la cópula. En ratones de la cepa CS1, la cópula inhibe el comportamiento infanticida y facilita la conducta paterna. Mientras que en los ratones de la cepa CBA es necesaria la cópula y la cohabitación con la hembra preñada para la inhibición del infanticidio y el despliegue de cuidados paternos (Kennedy, 1988). Otros trabajos realizados en machos de ratones silvestre (*Mus musculus*), sugieren que la cópula en sí inhibe el infanticidio, pero esta inhibición depende del estatus social del macho (Soroker, 1988).

2.2. Presencia de la hembra y las crías

En la rata de laboratorio la conducta materna es iniciada por los cambios hormonales que ocurren en la hembra al final de la preñez, mientras que en el macho, la conducta paterna parece ser disparada por las señales químicas emitidas por la hembra durante la preñez y la presencia de las crías. Estos estímulos son la señal que podría activar

cambios neuroendocrinos subyacentes a la conducta paterna (Brown, 1993). Por otra parte, en machos vírgenes de la rata de laboratorio, la conducta paterna puede ser inducida a través de la exposición a crías de la especie, la latencia de inicio de esta conducta es la misma observada en las hembras vírgenes de este roedor (Rosenblatt, 1967).

La cópula y la cohabitación con la hembra facilitan la conducta paterna en el macho de la rata Long-Evans (Brown, 1986a). En el ratón de california y el gerbo de Mongolia, los machos sexualmente inexpertos pueden atacar o mostrar indiferencia hacia las crías y sólo presentan comportamiento paterno, cuando se aparean y cohabitan con la hembra durante el periodo de la gestación (Bamshad, 1994). Estudios realizados en el macho del ratón de la pradera, demostraron que cuando el macho es separado de la hembra, puede presentar agresión hacia las crías, después de la separación (Insel, 1995).

En el hamster húngaro el acicalamiento del neonato y el consumo del fluido amniótico después del parto, además del consumo de la placenta pueden activar la conducta paterna (Mennella, 1988). En hámster enano al igual que en la rata de laboratorio, se ha demostrado las señales químicas emitidas por la hembra durante la preñez, constituyen un estímulo para que el macho exhiba cuidados paternos (Lévy, 2008).

2.3. Experiencia social

Cuando los machos de los roedores son expuestos, por primera vez, a las crías de su especie, pueden ser infanticidas, exhibir conducta paterna o ignorar a las crías. La exhibición de estas conductas, depende en gran parte de la experiencia que hayan tenido con los padres durante su desarrollo, de su status social, la experiencia que hayan tenido con sus hermanos y de su desarrollo prenatal (Jakubowski y Terkel, 1985).

La calidad y la cantidad de cuidados paternos que reciben los machos durante su infancia influyen en el despliegue del comportamiento paterno en la etapa adulta. Cuando crías recién nacidas del ratón de campo (*Microtus pennsylvanicus*) son cuidadas por machos, con experiencia sexual del ratón de la pradera (*Microtus ochrogaster*), especie en la cual el macho proporciona más cuidados, ocurre que una vez que estas crías se convierten en adultos y se reproducen, los machos del ratón de campo que recibieron cuidados paternos del ratón de la pradera, pasan más tiempo en el nido con sus hijos, que los machos que fueron criados por sus propios padres (McGuire, 1988). Estos resultados sugieren que la conducta paterna podría ser aprendida durante el desarrollo postnatal (Brown, 1993), o ser improntada.

Los ratones de laboratorio que son mantenidos con sus padres durante seis semanas después del nacimiento y, por lo tanto, se encuentra expuesto a las crías provenientes de la segunda camada, tiende a mostrar en la etapa adulta mayores cuidados paternos que los machos que no tuvieron tal experiencia (Jakubowski y Terkel, 1985).

2.4. Bases Neurales de la conducta paterna

La literatura sobre las bases neurales de la conducta paterna se encuentra muy dispersa, además de que son pocos los estudios realizados en el área.

Rosenblatt y Ceus (1998) al administrar a ratas machos progesterona y estrógenos en el MPOA (Área Preóptica Media), lograron inducir la exhibición de cuidados paternos, no obstante que estos roedores no exhiben cuidados paternos naturales.

Cuando al macho o la hembra del ratón de California se les lesiona el área preóptica media, la latencia de exhibición de cuidados paternos se incrementa significativamente con respecto a los animales en los que se simula la lesión. También se

observa una disminución considerable del tiempo que invierten en el olfateo y acicalamiento de las crías. Sin embargo, las lesiones en el MPOA no producen una reducción en el tiempo que los machos y las hembras invierten en el abrigo de las crías. Estos resultados sugieren que los mecanismos neurales que controlan la conducta paterna son similares a los de la conducta materna en esta especie (Gubernick y Alberts, 1987; Lee y Brown, 2007).

En las hembras del hámster, cortes sagitales en algunas conexiones laterales del MPOA, y las conexiones del septo lateral interrumpen la conducta materna. Esto mismo ha sido observado en la rata de laboratorio (Miceli, 1982, Koranyi, 1988)

Por otra parte, lesiones en el bulbo olfatorio eliminan la conducta materna, inducida por sensibilización en ratas vírgenes o lactantes de ratones suizos albinos (Gandelman, 1971). Mientras que en la rata de laboratorio, la bulbectomía ocasiona que la latencia de inicio de la conducta materna sea más corta en hembras vírgenes y lactantes comparadas con las hembras control (Fleming, 1974; Fleming, 1979).

El género *Microtus* está integrado por ratones promiscuos y monógamos, que difieren en la localización neural de los receptores a la arginina-vasopresina (AVP) y oxitocina (OT). En las especies monógamas estos receptores se distribuyen en la amígdala, un órgano neural asociado con la conducta bipaterna. Mediante autoradiografía se ha examinado si la distribución de los receptores AVP y OT está asociada con la conducta paterna facultativa en los machos de *Microtus pennsylvanicus*, con o sin experiencia sexual y paterna. Los ratones con experiencia sexual y paterna comparados con los machos inexpertos presentan menos receptores a AVP en el septo lateral (LS) y presentan más en el núcleo olfativo anterior (AON). Contrariamente, la cantidad de receptores a OT es mayor en el AON, en el núcleo terminal estriado, en el LS y en la amígdala lateral. Sin embargo,

este patrón de distribución de los receptores a vasopresina se presenta sólo en los ratones machos con cuidados paternos naturales. No obstante, este mismo patrón puede ser observado en los machos de especies sin cuidados paternos naturales, cuando la conducta paterna es inducida.

Sin embargo, ratones machos de la pradera, con experiencia sexual, presentan una densidad de fibras de arginina vasopresina radioactivas (AVP-ir) en el LS y en el núcleo habenular lateral más baja que los machos sin experiencia sexual. Para observar si los cambios en las fibras del LS y el núcleo habenular lateral ocurren antes o después del nacimiento de sus crías, y si están asociados con los cambios en la conducta paterna, se probó la conducta paterna/materna y se midió la densidad de fibras AVP-ir en el LS, en el núcleo habenular lateral, en el MPOA y en el núcleo paraventricular del hipotálamo en los machos y hembras castos, así como en los ratones apareados que fueron sacrificados 3 DPA (días post apareamiento), 13 DPA y 21 DPA o 6 DN (días del nacimiento de sus crías). La respuesta paterna se incrementó en los machos 3 DP y se mantuvo constante a los 13 DP, mientras que la densidad de fibras AVP-ir no se modificó en el MPOA, ni en el núcleo paraventricular del hipotálamo. Sin embargo, la densidad de dichas fibras en el LS y en el núcleo habenular fue afectada en forma diferente tanto en hembras como en machos. Los machos 3DPA tuvieron la densidad más baja de fibras, mientras que los machos 13DPA y 6DN presentaron densidades intermedias. Así mismo, en los ratones 0DP y 21 DP se observaron las densidades de fibras más altas. Por el contrario, en las hembras no se encontraron diferencias en las densidades de las fibras, en los machos 3DP pudo inducirse a través de la cohabitación con una hembra desconocida, pero no con un macho extraño. Los pequeños cambios en la densidad de las fibras AVP-ir después del apareamiento,

sugieren que éstas pueden estar implicadas en la respuesta a una conducta paterna, así como también en otras conductas sociales (Bamshad, *et al.*, 1994).

Otros estudios realizados en machos con experiencia sexual también validan la correlación entre el incremento de los niveles de AVP y la conducta paterna. Los machos con experiencia sexual de especies polígamas del género *Microtus* no presentan diferencias en la concentración de AVP en el LS, mientras que los machos monógamos que tienen más contacto físico con sus crías, sí presentan cambios en los niveles de AVP en el LS. No obstante, cuando se suministra una inyección de un agonista de la AVP en el LS, el tiempo de contacto físico con las crías se reduce (Wang *et al.*, 1994). Todas estas investigaciones sugieren que la conducta paterna está asociada con altas concentraciones de AVP en el BNST y en la AM.

Un estudio realizado en dos especies del género *Peromyscus*, en él que se comparó la distribución de las neuronas vasopresinérgicas y sus receptores, se observó que los machos monógamos muestran más AVP-ir en el núcleo de la estría terminalis, que los machos de especies polígamas, así como también tienen más receptores a AVP en el LS (Bester-Meredith *et al.*, 1999)

2.5. Área Preóptica Media (MPOA)

El MPOA se localiza en la parte rostral del cerebro posterior al hipotálamo e incluye los núcleos medial y lateral. Algunas neuronas en el área preóptica media y otros grupos de neuronas cercanas al hipotálamo anterior, contienen receptores a andrógenos y estrógenos. La estimulación de esas áreas ha sido relacionada con el inicio de la conducta sexual, de conductas sociales como la agresión y en la conducta materna, en la rata (Figura 1).

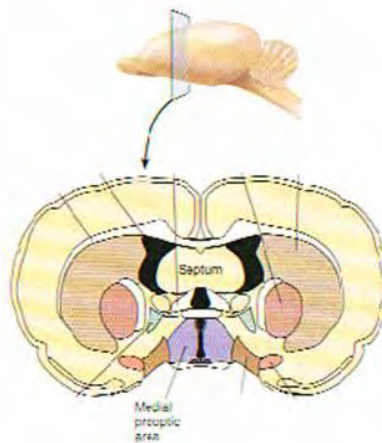


Figura 1 imagen donde se representa la ubicación del MPOA en ratona tomado de *Carlson, 1999*

Las fibras que proyectan hacia el MPOA surgen en el cortex cingulado, hipocampo, septum y núcleo lateral, formando las estructuras límbicas. El MPOA recibe estímulos provenientes del sistema olfatorio por vía de la amígdala y la estria terminalis, proyectándose hacia el peri acueducto gris del cerebro medio y la médula ventral rostral. Pero esas áreas del cerebro han sido implicadas en el control de las señales de dolor entrantes, en la conducta sexual y el inicio de la conducta materna defensiva/agresiva esto es una hipótesis de que en esta ruta son importantes las señales relacionadas con esas conductas. Las lesiones en el MPOA reducen o suprimen la conducta copulatoria en algunas especies.

El MPOA es la región del cerebro más importante implicada en la regulación de la conducta materna, en la ratona de laboratorio esta área neural es crítica en la regulación hormonal de la conducta materna (Gray and Brooks, 1984, Trainor, 2003, Lee, 2007).

Gubernick, (1993) y Stack (2002), mencionan que además del MPOA, la parte ventral de la estria terminalis, también desempeña un papel importante en la regulación de la conducta materna, debido a que la administración directa de estrógenos o prolactina, en estas regiones facilitan la conducta materna.

Se ha propuesto la existencia de un circuito neural que regula la conducta materna (“circuito materno”), en el que se incluye al sistema olfatorio principal y accesorio, sus proyecciones hacia el sistema límbico, como la amígdala, el núcleo accumbens y la corteza prefrontal, el núcleo caudado de la estria terminal, el septum y el MPOA.

Estudios realizados en el macho del ratón de California sugieren que en el circuito paterno/materno de este roedor, está implicada el MPOA, debido a que esta área es un sitio crítico de aromatización de testosterona a estradiol (E2), siendo que en este roedor se demostró que la testosterona regula la conducta paterna a través de su conversión a estradiol (Trainor, 2003). Estudios en la rata de laboratorio evidencian que las neuronas del MPOA y vBST se activan, cuando se exhiben cuidados maternos, esta actividad se puede observar a través de inmunoreactividad de los genes c-Fos, estos genes se activan cuando se administran estrógenos (ER) en las neuronas del MPOA (Calamandrei, 1994, Fleming, 1981).

Gubernick en 1993 demostró que la gonadectomía tanto en machos como en hembras del ratón de California, reduce el volumen del MPOA y el reemplazo con testosterona aumenta su volumen, esto mismo fue observado por Numan et al. (1977), en la rata de laboratorio. Además, en este roedor se observó que la colocación de implantes de estradiol en el MPOA facilita el inicio de la conducta materna.

3. Regulación hormonal de la conducta paterna

3.1 Hormonas Proteicas

Oxitocina

Es un neuropéptido, que es sintetizado en las células nerviosas del núcleo paraventricular del hipotálamo, de aquí es transportada, por los axones de las neuronas hipotalámicas hasta sus terminaciones, en la porción posterior de la hipófisis (neurohipófisis). Esta hormona ha sido relacionada con el establecimiento de la pareja en los roedores monógamos (Young, 1999).

La oxitocina facilita las interacciones sociales, como la de madre-hijo, en diversas especies. También ha sido relacionada con la facilidad de interacción social. Se piensa que la oxitocina puede tener un papel crítico en la iniciación del contacto entre hembras vírgenes del ratón de las praderas y las crías, resultando en la expresión de la conducta materna (Olazábal, 2006). Sin embargo, no existen evidencias del papel que pudiera tener esta hormona en la regulación de la conducta paterna. En el macho del ratón del campo (*Microtus pennsylvanicus*) y en el de la montaña (*Microtus montanus*), la expresión del gen de la oxitocina hipotalámica se incrementa cuando se convierten en padres (Wang et al., 2000). Mientras que en el ratón de California, las concentraciones de oxitocina son significativamente más elevadas en los machos que cohabitan con la hembra preñada que en los ratones castos y aquellos que están participando en el cuidado de sus crías (Gubernick et al., 1995).

Vasopresina

Es una hormona peptídica sintetizada en los núcleos hipotalámicos supraóptico y paraventricular y se almacena en la neurohipófisis. Desempeña un papel muy importante en el establecimiento de la pareja en aquellas especies naturalmente bipaternas (Young, 1999). Por otra parte, se señala que también interviene en el desarrollo de la conducta paterna; implantes de arginina-vasopresina en el septo lateral del macho del ratón de la pradera incrementa los cuidados hacia las crías (Wang *et al.*, 1994), además tanto en el macho como en la hembra aumenta la expresión del gen de la vasopresina después del nacimiento de sus crías. Por el contrario, en el ratón de la montaña, que se caracteriza por presentar únicamente cuidados maternos ninguno de los dos progenitores presenta incrementos en la expresión del gen de la vasopresina (Wang *et al.*, 2000). Por lo que se presume que el aumento en los niveles de vasopresina no parece presentarse en todos los mamíferos, sino sólo en los machos y hembras de especies monógamas (Wynne-Edwards, 2001).

Prolactina

Durante varios años, la prolactina fue considerada una hormona de procedencia, exclusivamente hipofisaria, pero se ha demostrado que esta hormona también se produce en tejidos como, la placenta, el útero, testículos, glándulas adrenales, islotes pancreáticos, intestino y diferentes áreas cerebrales (Nasello *et al.*, 1998). Una de las funciones más conocidas de la prolactina es estimulación de la secreción láctea, aunque también está involucrada en la regulación de otros eventos como la conducta materna y el estrés (Bridges, *et al.*, 1997). Esta hormona es transportada activamente a regiones neurales específicas que intervienen en la regulación de la conducta materna (Sakaguchi *et al.*, 1996;

Bridges *et al.*, 1997). En la última década se ha encontrado que esta hormona puede ser producida en el cerebro particularmente en el área preóptica media (Rosamunde, 2006).

En varios roedores, altas concentraciones de prolactina han sido asociadas con la presencia de cuidados paternos (Gubernick y Nelson, 1989; Brown *et al.*, 1995; Ziegler *et al.*, 1996, Reburn y Wynne- Edwards, 1999). Sin embargo, aún no se han realizado estudios que establezcan de manera objetiva, si el incremento de esta hormona, cuando los machos despliegan conducta paterna, es causa o efecto.

Hormonas Esteroides

Progesterona

Se han realizado pocas investigaciones con respecto al papel que la progesterona pudiera tener en la regulación de la conducta paterna. Los niveles de esta hormona son significativamente más bajos en los machos que exhiben conducta paterna comparados con los machos apareados, por lo cual se sugiere que esta hormona tiene un papel inhibitorio en la regulación de la conducta paterna, correlacionándose negativamente con la actividad de la aromatasa en el área preóptica media (Trainor *et al.*, 2003).

Otros estudios en el ratón de laboratorio demuestran que la progesterona facilita la agresión directa hacia las crías y suprime la conducta paterna (Schneider *et al.*, 2003). Así, la progesterona probablemente está implicada en la inhibición del comportamiento paterno.

Glucocorticoides

Los glucocorticoides son producidos en la corteza de las glándulas suprarrenales y aunque han sido poco estudiados en su relación con la conducta paterna, se sabe que responden a cambios sociales; con la formación de parejas en el primate cabeza de algodón

(*Saguinus oedipus*), en el ratón de la pradera y en el hámster enano se produce una reducción en la concentración de esta hormona (Ziegler et al., 1996). El cortisol está involucrado en la formación de la pareja, así como en la relación madre-hijo; en el hámster enano que naturalmente exhibe conducta paterna, los niveles de cortisol se elevan inmediatamente antes del parto y decrecen después del nacimiento de las crías (Reburn y Wynne-Edwards, 1999).

Testosterona

Es una hormona esteroide producida, principalmente por el testículo, en las glándulas suprarrenales esta hormona es producida en pequeñas cantidades. En el macho la testosterona regula una variedad de fenómenos reproductivos, por ejemplo, la producción de espermatozoides, la competencia por las hembras, el cortejo. Recientemente ha sido implicada en la regulación de la conducta paterna (Monaghan y Glickman, 1992).

Estudios que correlacionan la exhibición de la conducta paterna con los niveles plasmáticos de testosterona, señalan que la concentración natural de esta hormona afecta la expresión de este comportamiento (Wynne-Edwards y Reburn, 2000).

En el hámster enano, se ha demostrado que la exhibición de conducta paterna coincide con bajas concentraciones plasmáticas de testosterona; en el macho de este roedor los niveles plasmáticos de esta hormona se incrementan conforme se aproxima el nacimiento de sus hijos, lo cual es consistente con la defensa y protección de la hembra preñada. Sin embargo, después del nacimiento de sus hijos, los niveles periféricos de testosterona descienden, este descenso ha sido relacionado con una reducción en la agresión hacia las crías y la facilitación del despliegue de la conducta paterna (Reburn y Wynne-Edwards, 1999). En el gerbo de Mongolia los niveles plasmáticos de testosterona son

elevados en los machos que cohabitan con la hembra hasta los 20 días de la preñez, pero descienden significativamente tres días después del nacimiento de sus crías, permaneciendo bajos del día 10 o 20 del periodo de lactancia (Brown et al., 1995).

En los machos de las aves también se ha observado una disminución en los niveles periféricos de testosterona, cuando proporcionan cuidados a sus hijos (Feder et al., 1977). Estos resultados han llevado a plantear que en los machos de los roedores con cuidados bipaternos la testosterona juega un papel inhibitorio de la conducta paterna. Sin embargo, estudios recientes señalan que la función de la testosterona en la regulación de la conducta paterna tiene que ser reconsiderada. Schum y Wynne-Edwards (2005), encontraron que en los machos del hámster enano, los niveles periféricos de testosterona no cambian significativamente, ni antes o después del nacimiento de los hijos, lo cual contradice los resultados del primer estudio realizado con este roedor. No obstante se señala que los machos que siempre recuperaron a sus crías, durante las pruebas de conducta paterna, tuvieron concentraciones más bajas de testosterona que los que nunca las recuperaron. Asimismo, en el gerbo de Mongolia, un estudio , señala que los niveles periféricos de testosterona en los machos de este roedor, se mantienen sin cambios significativos, durante su ciclo reproductivo, lo cual sugiere que la testosterona podría, entonces, facilitar la exhibición de cuidados paternos y no inhibirlos, como se creyó inicialmente (Luis et al, 2010). En el primate cabeza de algodón se determinó, que los niveles de testosterona urinarios se incrementan durante la preñez y permanecen elevados durante el periodo de lactancia (Ziegler y Snowdon, 2001), coincidiendo con altos niveles de conducta paterna. Nunes (2000), encontró que en la marmota común (*Marmota marmota*), los niveles de testosterona varían significativamente mientras los machos cuidan a sus crías. En el macho del ratón de California, que vive con sus crías o la pareja preñada, los niveles de

testosterona son más bajos que en los machos que permanecen en aislamiento, aunque la diferencia no fue significativa (Gubernick y Nelson, 1989).

En el ratón de California, Trainor (2001), demostró que la testosterona es necesaria para la exhibición de la conducta paterna. La castración en estos roedores reduce la cantidad de cuidados paternos, mientras que la administración de testosterona a machos castrados incrementa las actividades paternas por arriba de lo observado en los machos en los que sólo se simuló la castración. Estos resultados señalan que en esta especie la testosterona tiene un papel facilitador y no inhibidor de la conducta paterna. No obstante, en otras especies con cuidados bipaternos los resultados de los experimentos de castración y reemplazamiento hormonal son variables; en el gerbo de Mongolia la castración produce un incremento en los cuidados paternos (Clark y Galef, 1999), mientras que en el macho del ratón de la pradera el efecto de la castración sobre esta conducta ha sido inconsistente, debido a que mientras Wang y De Vries (1994) señalan que la castración ocasiona una disminución de los cuidados paternos, Lonstein y De Vries (1999) encontraron que ésta no tiene ningún efecto sobre la conducta paterna. En este roedor se ha demostrado que la testosterona actúa postnatalmente para facilitar los cuidados paternos en los machos adultos, debido a que la castración en el día del nacimiento inhibe los cuidados paternos (Lonstein, 2002). Otros estudios con el gerbo de Mongolia, han demostrado que en los machos que permanecen con su familia los niveles plasmáticos de testosterona son significativamente mayores que en los que permanecieron aislados (Luis *et al.*, 2010).

En el ratón de California, se ha demostrado que la testosterona no regula de manera directa la conducta paterna, sino que a través de su conversión a estradiol, por medio de la enzima aromatasa; cuando machos castrados de este roedor son tratados con testosterona más un inhibidor de la conversión de testosterona a estradiol, muestran menor conducta de

abrigo y acicalamiento que los machos tratados de la misma forma más estradiol. Aunque se sabe que el estradiol promueve el encendido de la conducta materna, los resultados obtenidos a través de estos experimentos son los primeros en demostrar que la testosterona, a través de su aromatización a estradiol promueve la conducta paterna en los roedores monógamos. Asimismo, estos resultados dan una explicación, de cómo los machos de los mamíferos expresan cuidados paternos mientras los niveles de testosterona se encuentran elevados (Trainor, 2002). En este ratón se observó que los machos que exhiben conducta paterna presentan significativamente mayor actividad de la aromatasa en el área preóptica media, que los machos apareados sin crías, lo cual sugiere que el incremento en la conversión de testosterona a estradiol contribuye al despliegue de la conducta paterna (Trainor, 2003). En el Hámster enano los niveles periféricos de estradiol no difieren significativamente entre los machos apareados en los días ocho, 12, 15 y 17 del periodo de gestación y los machos que se mantuvieron en cohabitación con sus hijos en los días uno, tres, cinco y 12 del periodo de lactancia lo cual sugiere que esta hormona no participa en la regulación de la conducta paterna en este roedor (Schum y Winne-Edwards, 2005). Además la inhibición de la actividad de la aromatasa, enzima que participa en la conversión de testosterona en estradiol, no tiene tampoco ningún efecto en la conducta paterna del Hámster enano. (Hume y Winne-Edwards, 2006).

4. Antecedentes del Modelo de Estudio

El ratón de los Volcanes es un roedor endémico de la fauna mexicana, que habita en el Eje Neovolcánico Transversal. En cautiverio el macho de este roedor participa en el cuidado de las crías, proporcionando a sus hijos los mismos cuidados que la hembra a excepción del amamantamiento.

En esta especie los niveles periféricos de testosterona no disminuyen cuando el macho exhibe conducta paterna, las concentraciones de esta hormona se mantienen tan altas como durante la cohabitación con la hembra (Luis *et al.*, 2008). Observándose una correlación positiva entre las concentraciones de testosterona y el tiempo invertido en el abrigo en el día cinco del posparto de su pareja. Estos resultados sugieren que en esta especie la testosterona podría facilitar la exhibición de cuidados paternos. Pero esta relación no ha sido demostrada experimentalmente, en este contexto el presente trabajo tuvo como finalidad determinar si la testosterona puede inducir la exhibición de cuidados paternos.

Considerando esta posibilidad, es relevante determinar si en los machos que exhiben conducta paterna, la densidad de receptores a esta hormona es mayor en el área preóptica media, comparados con los machos que muestran indiferencia o agresividad hacia las crías.

Características de la especie

El ratón de los volcanes es un roedor que mide aproximadamente 200mm de largo, incluyendo el cuerpo y la cola; el pelaje dorsal es color sepia oscuro y la región ventral blanca. La cola también es oscura, excepto la punta, que es más clara. Su alimentación se basa en polen de gramíneas, raíces, plantas herbáceas, frutos y pequeños invertebrados (Figura 2).

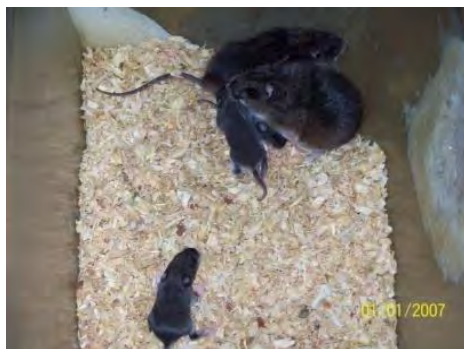


Fig. 2. Macho del ratón de los volcanes presentando cuidados paternos en cautiverio

Su reproducción tanto en cautiverio como en su hábitat natural es durante todo el año. Presenta un ciclo estral poliéstrico con una duración de $4 \text{ días} \pm 1$, el periodo de gestación es de 27 días, tiene un promedio de 3 crías por camada. En cautiverio el macho participa en el cuidado de sus crías (Davis y Follansbee, 1945; Aranda, 1980). Sus principales depredadores son algunas serpientes, aves rapaces nocturnas y mamíferos carnívoros como el gato montés y el coyote (Ceballos y Galindo, 1984).

Hábitat

El ratón de los volcanes es una especie endémica de México, su distribución y hábitat se restringe al Eje Neovolcánico Transversal. Su hábitat se ubica en un rango altitudinal de los 2440 a los 4500 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m.), su distribución abarca los estados de México, Michoacán, Morelos, Puebla y Veracruz (Navarro, 2007). El hábitat de este roedor está constituido por bosque mixto; en las partes altas montañosas se encuentran asociaciones de pino-encino y en las regiones bajas pino-abeto. Constituyen elementos importantes en el hábitat del ratón de los volcanes varias especies de gramíneas, llamadas comúnmente zacatón, de los géneros *Stipa*, *Muhlenbergia* y *Festuca*. Las hojas de estas gramíneas son utilizadas por este roedor para construir su nido (Aranda, et al., 1980)

5. Objetivo General

Determinar si la testosterona está implicada en el inicio de la conducta paterna en el ratón de los Volcanes (*Neotomodon alstoni*) y correlacionar la densidad de receptores a esta hormona con la exhibición de cuidados paternos.

Objetivos particulares

- ❖ Determinar si el reemplazamiento con testosterona induce la exhibición de cuidados paternos.
- ❖ Correlacionar la densidad de receptores a testosterona en el MPOA con las conductas paternas, agresivas o de indiferencia hacia las crías.

6. Hipótesis

➤ Se espera que el reemplazamiento con testosterona induzca la exhibición de cuidados paternos, en el macho del ratón de los Volcanes, y que la densidad y distribución de receptores a testosterona en el MPOA de estos machos, sea mayor comparada con animales que exhiben agresión o indiferencia hacia las crías.

7. Materiales y Métodos

Los animales utilizados en este estudio se obtuvieron de una colonia de ratón de los Volcanes, establecida en el laboratorio de biología de la Reproducción de la Unidad de Morfología y Función de la FES Iztacala, UNAM.

La colonia de ratones se mantuvo bajo un fotoperiodo de 12:12 h luz-oscuridad, a una temperatura y humedad ambientales, se les proporcionó como alimento Nutricubos para pequeños roedores (Harlan®), zanahoria cada tercer día y agua corriente *ad libitum*.

Selección de los animales de estudio

30 ratones sin experiencia sexual y 11 con experiencia sexual, pero no paterna, fueron seleccionados por su indiferencia o agresividad hacia las crías, para seleccionarlos los animales fueron sometidos a pruebas preliminares de conducta paterna: cada macho fue puesto en una caja de acrílico (32 x 23 x15 cm) con cama de aserrín limpio. Después de 10 minutos de aclimatación fue introducida una cría ajena de la misma especie de uno a tres días de nacida, registrándose la conducta exhibida por el macho. Los machos que exhibieron espontáneamente conducta paterna fueron excluidos de este estudio. Cuando el macho atacó a la cría esta fue retirada inmediatamente de la caja. Estos animales se organizaron en cuatro grupos.

Primer grupo: machos sin experiencia sexual castrados bilateralmente sin reemplazo de testosterona (MC)

Segundo grupo: machos sin experiencia sexual con orquidectomía simulada e implante vacío (MS)

Tercer grupo: machos sin experiencia sexual castrados bilateralmente y reemplazo de testosterona (MCSEST)

Cuarto grupo machos con experiencia sexual castrados bilateralmente y con reemplazo de testosterona (MCEST)

Pruebas de conducta paterna

Las pruebas de conducta paterna se realizaron una semana después de la colocación del implante para asegurar que la liberación de testosterona hubiera incrementado los niveles periféricos de esta hormona. Cada macho fue colocado individualmente, en una caja de acrílico (30x45x18 cm), con cama de aserrín limpio. Después de 10 minutos de aclimatación, fue introducida una cría ajena de la misma especie, de uno a tres días de nacida. Cuando los machos fueron paternos o indiferentes hacia las crías, se realizaron las observaciones durante 15 minutos. En caso de agresión la cría fue retirada inmediatamente. Se registraron las conductas paternales desplegadas por el macho, así como la latencia de inicio de esta conducta. El método de observación utilizado fue el focal. Las observaciones fueron realizadas entre las 14:00 y 19:00 hrs, por un solo observador que se mantuvo a una distancia aproximada de 90 a 100 cm. Las conductas registradas fueron: abrigo, acicalamiento, olfateo y recuperación de las crías (Ver tabla 2).

Orquidectomías

Para realizar las cirugías cada ratón fue anestesiado, con una dosis de ketamina (333mg/kg) y xilacina (66 mg/kg), por vía intramuscular. En seguida se depiló el área escrotal-abdominal y la asepsia de esta región. Mediante una incisión en la región escrotal-abdominal el testículo fue expuesto, se ligaron las arterias que corren paralelamente a los conductos deferentes, posteriormente el testículo fue cortado y retirado. Finalmente, se suturaron los tejidos internos con hilo cat-gut y los externos con seda.

En el caso de los ratones con castración simulada, sólo se sacaron los testículos exponiéndolos a contacto con el medio externo por espacio de 2 min, después de este tiempo fueron colocados en su lugar y se suturó la herida.

Implantes de testosterona

Los implantes fueron hechos con tubo Silastic® de 15 mm (1.47mm I.D. x 1.96mm O.D. Down Corning®), llenados con 1mg de propionato de testosterona [4-androsten-17β-ol-3-one 17 propionate] (Sigma Aldrich®) y sellados con adhesivo de silicón. Siguiendo la metodología utilizada por Trainor y Marler 2001. En la rata de laboratorio se ha reportado una tasa de liberación de ~1ng/ml, en este tipo de implante (Di Wu, 2010).

Para la cirugía de implantación, los animales fueron anestesiados con ketamina y xilacina, los implantes fueron colocados vía subcutánea en la región dorsal del ratón, una semana después de la cirugía de orquidectomía asegurando con ello que la testosterona circulante proviene del implante.

Una semana después de la colocación de implantes los animales fueron sometidos a pruebas de conducta paterna.

Obtención de muestras sanguíneas

A cada uno de los machos de los cuatro grupos, se les extrajeron muestras sanguíneas del seno retro-orbital con capilares heparinizados, anestesiándolos ligeramente con éter antes o después de la castración o castración simulada, una semana después de la realización de esas cirugías e inmediatamente después de la prueba de conducta. El plasma fue separado por centrifugación y almacenado a -70 °C. La cuantificación de testosterona fue realizada por radioinmunoensayo (RIA). El RIA fue realizado por duplicado con un kit Siemens para Testosterona Total (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, USA), con ¹²⁵I

testosterona, con una sensibilidad de 40pg/ml. Los coeficientes de variación inter e intra ensayo fueron 5.37 y 8.16, respectivamente. La radioactividad fue medida con un contador gamma modelos 1282 Compugamma (LKB-Wallac, Turku, Finland).

Inmunohistoquímica para receptores de andrógeno (AR) en MPOA

Inmediatamente después de la pruebas de conducta paterna fueron sacrificados: un ratón que mostró conducta paterna (la testosterona indujo cuidados paternos), uno indiferente y un agresivo hacia las crías. Como control positivo se utilizó un ratón que desplegaba conducta paterna de manera natural. Cada uno de estos animales fue anestesiado para perfundirlo vía intracardiaca, con paraformaldehído al 4% en PBS. Después de la fijación se extrajo el cerebro, el cual fue post fijado durante cuatro horas más en el mismo fijador. Posteriormente, este órgano fue procesado histológicamente para realizar cortes de 5 a 7 μ de grosor, entre el segundo y tercer tercio en el plano sagital del cerebro. La localización de la región del MPOA se realizó por comparación con el atlas estereotáxico rata/ratón.

En la inmunohistoquímica de AR se utilizó un anticuerpo policlonal IGg de conejo sc815 (Santa Cruz Biotechnology, inc). Para demostrar que este anticuerpo reconocía al receptor de testosterona del ratón de los Volcanes, se validó el cruce con los receptores a testosterona en este roedor, lo cual se realizó tomando como control positivo epidídimo y cerebro de ratón de laboratorio, epidídimo y cerebro de ratón de los volcanes, como control negativo se utilizó un control de isotipo en ambas especies y tejidos.

Análisis de datos

Como los datos obtenidos de las concentraciones de testosterona no se distribuían normalmente, fueron contrastados aplicando la prueba no paramétrica de Kruskal- Wallis

8. Resultados

Conducta paterna

En la Tabla 1, se muestra que en el Grupo MC; la castración no tuvo ningún efecto en la conducta paterna; antes de la orquidectomía el 50 % de estos ratones fueron agresivos y el 50% indiferentes hacia las crías. Después de la castración el porcentaje de animales agresivos e indiferentes no se modificó ($X^2 = 0.0$ $P=1.00$). La simulación de la cirugía e implantación con placebos tampoco tuvo un efecto significativo en la conducta de los ratones del Grupo MS (machos simulados); previo a la simulación el 40% de los ratones fueron agresivos y el 60% mostraron indiferencia. Después del tratamiento de orquidectomía simulada el 30% exhibieron agresión y el 70% fueron indiferentes ($X^2=0.178$ $P=0.915$). En el Grupo (MCSEST) antes del tratamiento el 90% de los machos fueron agresivos y el 10% mostraron indiferencia. Sin embargo, después de la orquidectomía y el reemplazo con testosterona; el 36.36% fueron agresivos, el 27.27% fueron indiferentes y el 36.36% exhibió conducta paterna ($X^2=7.571$ $P=0.023$). En el Grupo MCEST, durante las pruebas de selección el 100% de machos fueron agresivos. Mientras que después del tratamiento el 45.45% de los machos presentaron agresión, el 18.18% fue indiferente y el 36.36% exhibió conducta paterna ($X^2 = 8.250$ $P=0.016$; Tabla 1).

La conducta paterna inducida por el reemplazamiento con testosterona se presentó con una latencia promedio de 0.75 ± 1.55 min (Fig. 1)

En la Tabla 2, se presentan las conductas observadas durante las pruebas de conducta paterna. La conducta de mayor incidencia fue la de abrigo y recuperación de las crías, aunque la conducta de defensa de la cría también fue observada en varios individuos.

	Pruebas de conducta antes del tratamiento			Pruebas de conducta después del tratamiento			P=
	agresivos	indiferentes	paternales	agresivos	indiferentes	paternales	
Machos castrados N=10	50	50	0	50	50	0	1.00
Machos con castración simulada N=10	40	60	0	30 N=3	70 N=7	0	0.915
Machos sin experiencia sexual, castrados y con reemplazo de testosterona N=11	90 N=10	10 N=1	0	36.36 N=4	27.27 N=3	36.36 N=4	0.023
Machos con experiencia sexual, castrados y con reemplazo de testosterona N=11	100 N=11	0	0	45.45 N=5	18.18 N=2	36.36 N=4	0.016

Tabla 1. Porcentaje de machos que presentaron agresión, indiferencia o conducta paterna antes y después del tratamiento

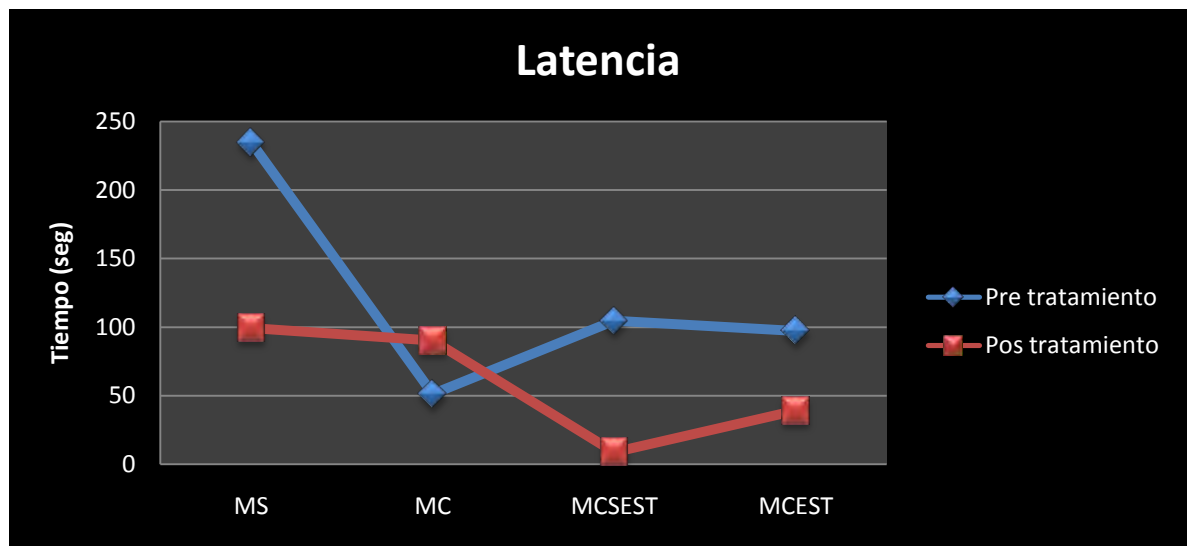


Fig. 1. Latencia de contacto con las crías pre y post tratamiento

Conductas observadas en machos castrados con implantes de testosterona	
Abrigo	El macho curva el cuerpo de tal forma que forma una concavidad en la región ventral, en la cual acomoda a la cría para proporcionarle calor.
Acicalamiento	El macho toma a la cría tomada con las extremidades anteriores y la lame repetidamente, principalmente la región perianal.
Construcción del nido	Con las extremidades posteriores el macho empuja el material de anidación formando un círculo.
Olfateo	El macho acerca nariz a la cría y mueve rítmicamente las vibrisas para reconocer a la cría.
Recuperación de la cría	Con el hocico el macho toma a la cría de la región dorsal y la traslada al nido.
Defensa de la cría	Al finalizar las pruebas de conducta cuando se introdujo un objeto para retirar a la cría del nido, el macho adoptaba una posición de ataque llegando incluso a morder dicho objeto.

Tabla 2. Conductas registradas en los machos del ratón de los volcanes

Concentraciones de testosterona

Las concentraciones de testosterona en plasma de los machos de los cuatro grupos fueron significativamente diferentes después del tratamiento ($H= 22.97, 3 P=0.001$). El análisis múltiple de medias (Tukey) mostró que los ratones MCEST y MCSEST tuvieron niveles de testosterona en plasma significativamente más altos que los MC y los MS ($P<0.01$). No se encontraron diferencias significativas en los niveles de testosterona en plasma entre los machos MC vs MS ($p>0.05$). Así mismo, tampoco se observaron diferencias significativas en los niveles de testosterona en plasma entre los machos de los grupos MCEST vs MCEST ($P>0.05$; Fig. 2)

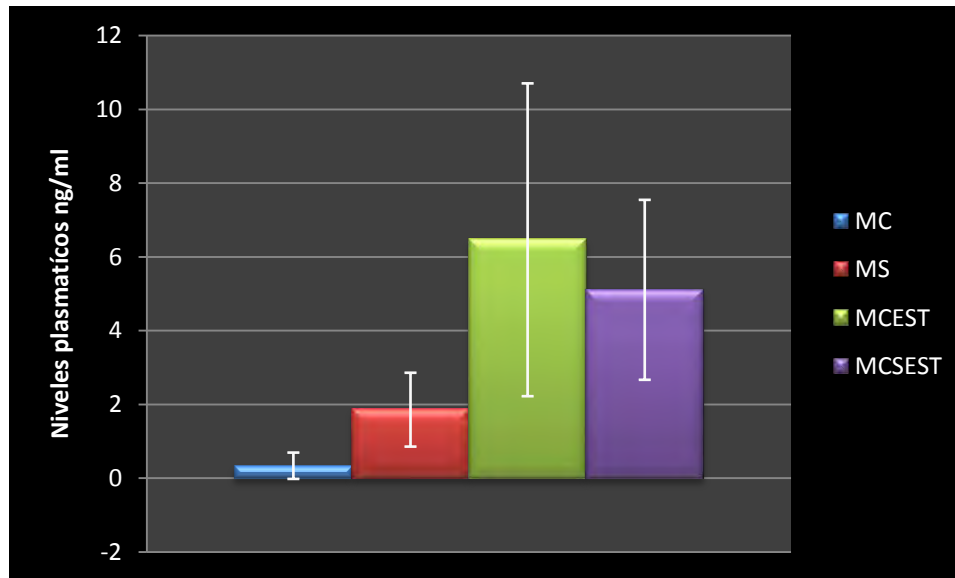


Fig. 2. Los machos con reemplazamiento de testosterona (MCEST y MCSEST), presentaron niveles significativamente más altos de esta hormona que los machos castrados ($P=0.001$). Los valores se representan en medias con desviación estándar

Para determinar si la conducta desplegada por los machos MCEST y MCSEST hacia las crías dependía de la concentración de testosterona en plasma, se contrastaron los niveles de testosterona entre los machos que mostraron conducta paterna, los que mostraron agresión y los que fueron indiferentes hacia las crías, observándose diferencias significativas en la concentración de esta hormona ($P = <0.001$). El análisis múltiple de medias Dun's, señala que los machos que desplegaron conducta paterna tuvieron significativamente ($9.166,2 P<0.05$) niveles más altos de esta hormona que los machos agresivos e indiferentes hacia las crías (Fig. 3).

Los datos obtenidos de concentraciones de testosterona y conductas fue posible conjuntarlos en un solo grupo, debido a que no se observaron diferencias significativas ($P>0.05$) entre los niveles de testosterona y las conductas desplegadas entre los MCSEST y MCEST.

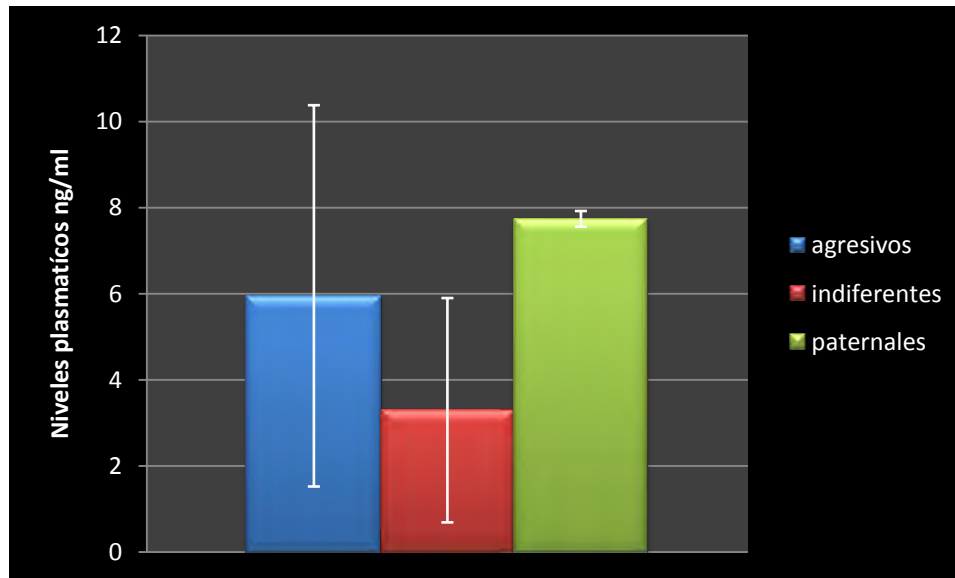


Fig. 3. Los niveles de testosterona en plasma en los machos castrados con implante de testosterona, fueron significativamente diferentes ($P < 0.05$) entre machos que fueron paternos y los no paternos. Los valores se representan en medias con desviación estándar

Inmunohistoquímica

La inmunohistoquímica de los receptores a testosterona, en el MPOA mostró que los machos con reemplazamiento hormonal que exhibieron cuidados paternos durante las pruebas de conducta presentaron una mayor densidad de receptores a testosterona que los machos que exhibieron agresión (Fig. 4B).

Además, en las imágenes de la inmunohistoquímica se observa que el patrón de distribución de receptores a testosterona en los machos en los que se indujo la conducta paterna se extiende a otras áreas cerebrales formando una “H”, mientras que en los ratones agresivos este patrón tiene forma de “V” invertida Fig. 4, lo cual sugiere que las regiones neurales que intervienen en la regulación de la conducta paterna, no sólo están limitadas al MPOA. Además, los ratones que no mostraron conducta paterna tuvieron menor inmunoreactividad en el MPOA (Fig. 4B). La densidad de receptores a testosterona y el patrón de distribución en los machos que exhibieron conducta paterna fueron muy similares

a lo observado en el ratón que exhibía cuidados paternos de manera natural (control positivo Fig. 4C).

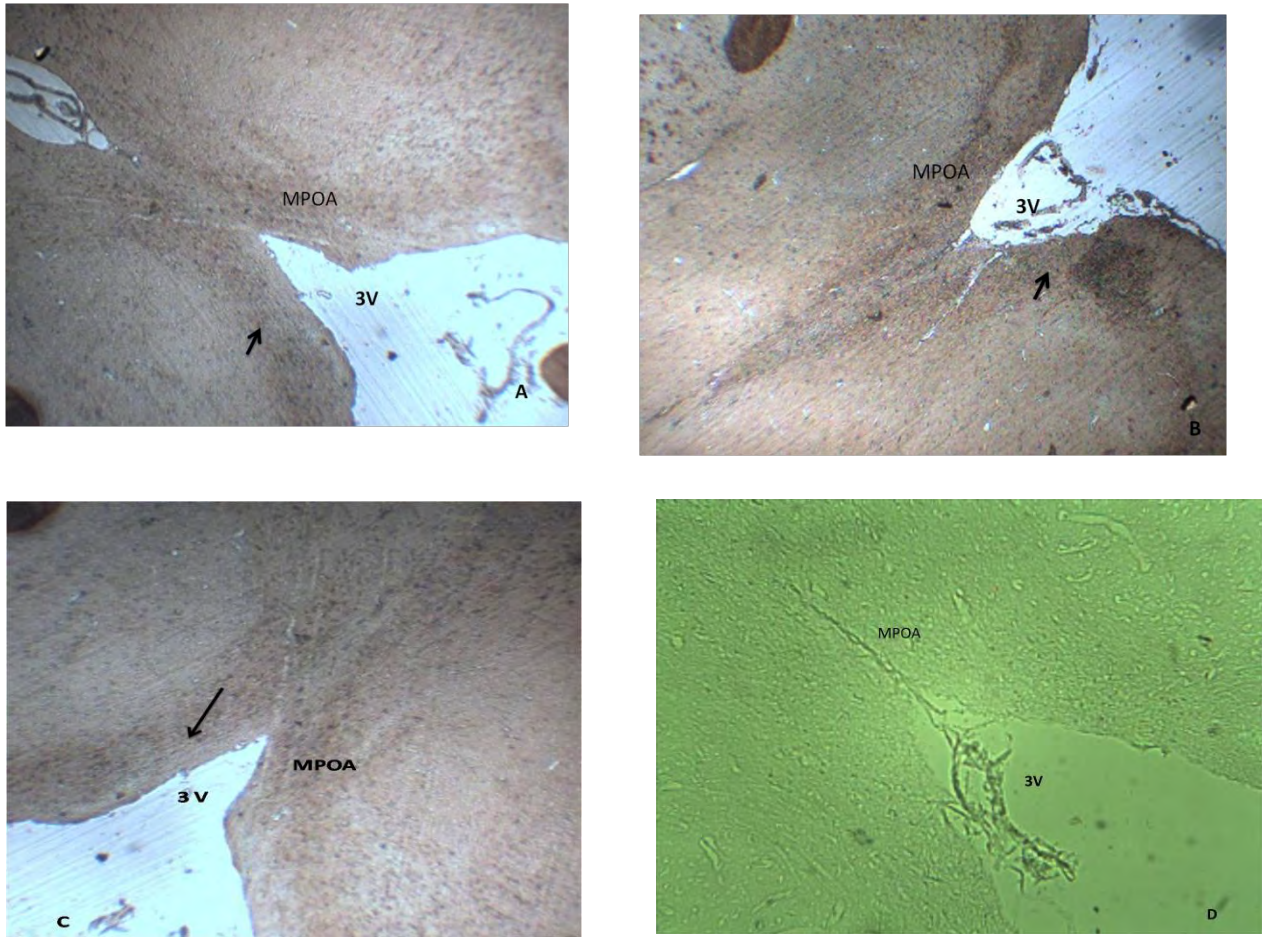


Fig. 4. Micrografías de una Inmunohistoquímica en cerebro en macho del ratón de los Volcanes, a) macho que presento conducta paterna hacia las crías después de implantarlo b) macho agresivo c) macho control y d) control de isotipo, en las que se muestra área preóptica media (MPOA), tercer ventrículo (3V), y receptores androgénicos inmunoreactivos (flecha) 4X

9. Discusión

En los machos castrados o simulados la conducta agresiva o de indiferencia hacia las crías no se vio afectada después del tratamiento. Sin embargo, la castración seguida por el reemplazo con testosterona causó que un porcentaje considerable de machos del ratón de los Volcanes exhibieran conducta paterna, a pesar del que en la primera exposición a las crías estos ratones fueron agresivos o indiferentes. Estos resultados sugieren que la testosterona está involucrada en los cambios neuroendocrinos que inhiben el infanticidio y promueven la exhibición de cuidados paternos en este roedor. En el ratón de California también se ha demostrado que la testosterona promueve la exhibición de cuidados paternos, los machos con reemplazamiento de testosterona exhiben más cuidados paternos que los machos intactos (Trainor y Marler, 2001).

Lo anterior sugiere que la exhibición de cuidados paternos se da únicamente en un rango por arriba del nivel basal y sólo hasta un límite. Cuando éste es sobrepasado puede ocurrir una saturación de los receptores a testosterona en el MPOA y como consecuencia se inhibe el despliegue de la conducta paterna. Cuando los niveles periféricos de testosterona se encuentran por debajo del nivel basal, el MPOA y otras áreas neurales no son estimuladas para el inicio de la conducta paterna.

Los niveles periféricos de testosterona en los machos castrados, con reemplazo de testosterona que exhibieron conducta paterna fueron significativamente más altos que los registrados en aquellos machos que fueron indiferentes o agresivos hacia las crías. Con base en estos resultados, se podría plantear que el estímulo para el inicio de la conducta paterna es el incremento en los niveles de testosterona, ocasionados por su liberación del implante, antes que los niveles basales de esta hormona. En condiciones naturales este incremento en los niveles de testosterona podría ser ocasionado por la cópula. En muchas especies de

mamíferos se ha señalado que la cópula produce un aumento en los niveles de testosterona (Gary and Kristen, 1969; Herz and Drori, 1969; Frijakamel *et al.*, 1975; Bonilla *et al.*, 2006). En el ratón de los volcanes la cohabitación con la hembra ocasiona elevaciones en los niveles de testosterona (Luis *et al.* 2008), aunque aún falta determinar si en este roedor la cópula puede incrementar significativamente los niveles de esta hormona. En el gerbo de Mongolia la cohabitación con la hembra también ocasiona un incremento en los niveles de testosterona, y en el día del nacimiento de las crías, cuando las hembras exhiben estro posparto, los niveles de testosterona en plasma son significativamente más altos en los machos que permanecen con la hembra que en los machos que se mantienen en aislamiento (Luis *et al.*, 2010).

Diversos estudios han demostrado que en el macho de la rata y ratón de laboratorio, la cópula puede inducir un cambio de conducta agresiva a paterna (Vom Saal, 1985; Huck *et al.*, 1982). En el ratón de California, un treinta por ciento de los machos desplegaron conducta paternal 24 horas después de la cópula; esta conducta persistió por un periodo de tiempo considerable, aunque la hembra no estuviera presente (Gubernick *et al.* 1993).

Los machos de especies monógamas tienen la oportunidad de copular varias veces antes de que su pareja quede preñada. Además, como la mayoría de las hembras de estas especies presentan estro posparto, el macho tiene la oportunidad de copular otra vez después del parto. Esto puede constituir un poderoso estímulo en el inicio de la conducta paterna. Trainor y Marler (2001) han propuesto también que un incremento en los niveles de testosterona pueden estimular la conducta paterna en el ratón de California. Su hipótesis se basa en la correlación observada, entre los niveles de testosterona y el tiempo invertido en el abrigo en los machos con castración simulada y los castrados con reemplazamiento de testosterona.

Por otra parte, en el ratón de California se ha demostrado que la cópula induce cambios neuroendocrinos; la actividad de la aromatasa es mayor después de la cópula, comparada con aquellos machos que nunca han copulado (Trainor *et al*, 2008). En el macho del ratón de la pradera, la cópula provoca la expresión de los receptores a oxitocina y de un aumento en el número de receptores ER α -IR, en algunas regiones del cerebro como el MPOA (Song *et al*, 2010).

En este trabajo se observó que la densidad de receptores a testosterona en el MPOA, es mayor, en los machos que mostraron conducta paterna, después del reemplazamiento con testosterona, comparados con los machos con reemplazo de esta hormona que no fueron paternos, lo cual sugiere que la testosterona está siendo captada por las neuronas de esta región neural en mayor cantidad. Estudios realizados en el ratón de laboratorio y el marsupial (*Brazilian opossum*) señalan que la castración reduce el número de receptores a testosterona en el MPOA y el reemplazamiento con esta hormona revierte este efecto (Iqbal, 1995, Arteaga, 2007).

Esta mayor densidad de receptores a testosterona en el MPOA podría estar estimulando el inicio de un circuito neural implicado en la regulación de la conducta paterna en el ratón de los Volcanes. Sin embargo, aún falta establecer si la testosterona participa de manera directa en este circuito neural o si lo hace a través de una aromatización a estradiol, como ocurre en el ratón de California (Trainor y Marler, 2001).

Este es el primer trabajo que se realiza con la finalidad de estudiar en el futuro los mecanismos neurales implicados en la regulación de la conducta paterna.

Conclusiones

- Sólo fue posible inducir conducta paterna en ratones castrados con reemplazamiento de testosterona.
- Los machos que exhibieron conducta paterna tuvieron niveles de testosterona significativamente más elevados que los machos no paternos.
- La exhibición de cuidados paternos se correlacionó con una mayor densidad de receptores a testosterona en el MPOA.
- La experiencia sexual parece no afectar la inducción de conducta paterna con testosterona.
- Los machos castos son en general más agresivos hacia las crías que los machos apareados.

11. Referencias

1. Aranda, S. J. C. Martínez, C. Colmenero, y V. M. Magallón. 1980. Los mamíferos de la Sierra del Ajusco. Comisión Coordinadora para el desarrollo Agropecuario de Departamento del Distrito Federal. México. 81-84
2. Arnold, A.P. y Gorski, R.A. 1984. Gonadal induction of structural sex differences in the central nervous system. *Annual Review of Neurosciences*. 7:413-442.
3. Arteaga-Silvia, M. Rodríguez- DorantesM. Baig, S. Morales-Montor J. 2007. Effects of castration and hormone replacement on male sexual behavior and pattern of expression in the brain of sex-steroid receptors in BALB/c AnN mice. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 147 (2007) 607–615
4. Bamshad, M., Novak, M. A. y De Vries, G. J. 1994. Cohabitation alters vasopressin innervation and paternal behavior in Prairie Voles (*Microtus ochrogaster*). *Physiology & Behavior*, Vol. 56 (4):751-758.
5. Bester-Meredith, J. K., Young, L. J. y Marler, C. A. 1999. Species differences in paternal behavior and aggression in *Peromyscus* and their associations with vasopressin immunoreactivity and receptors. *Hormones & behavior*. 36:25-38.
6. Bonilla, J.H., Vázquez-Palacios, G., Arteaga-Silva, M., Retana-Márquez, S., 2006. Hormonal responses to different sexually related conditions in male rats. *Horm. Behav.* 49,376-382.
7. Bridges, R. S., Robertson, M. C., Shiu, R. P., Sturgis, J. D. Henriquez, B. M. y Mann, P. E. 1997. Central lactogenetic regulation of maternal behaviour in rats: steroid dependence, hormone specificity, and behavioral

potencies of rat PRL and rat placental lactogen. *International Endocrinology*, 138: 756-763.

8. Brown, R. E., Murdoch, T., Murphy, P. R. y Moger, W. H. 1995. Hormonal responses of male gerbils to stimuli from their mate and pups. *Hormones & Behavior*, 29: 474-491

9. Brown, R. E. 1993. Hormonal and experiential factors influencing parental behaviour in male rodents: An integrative approach. *Behavioral Proceeding*, 30, 1-28.

10. Brown, R. E. 1986a. Social and hormonal factors influencing infanticide and its suppression in adult male Long-Evans rats (*Rattus norvegicus*). *Journal Comparative Psychology*, 100:155-161.

11. Brown, R. E., 1986b. Paternal behavior in the male Long-Evans rat (*Rattus norvegicus*). *Journal Comparative Psychology*, 100: 162-172.

12. Cadena, R. C. P. 2010. Efecto de la castración en la conducta paterna del ratón de los volcanes *Neotomodon alstoni*. Tesis de biología UNAM, FES Iztacala.

13. Calamadrei, G., Keverne, E.B. 1994. Differential expression of Fos protein in the brain of female mice dependent to pup sensory cues and maternal experience. *Behavioral Neuroscience*, 108: 113-120.

14. Carlson, N.R. 1999. *Foundations of Physiological Psychology*. 4th ed. Boston, MA: Allyn and Bacon, 266.

15. Ceballos, G. G. y Galindo L. C. 1984 Mamíferos silvestres de la cuenca de México. Editorial Limusa. México

16. Clark, M. M. y Galef, B. G. 1999. A testosterone-mediated trade-off between parental and sexual effort in male Mongolian Gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Journal Comparative Psychology*, 113:388-395.
17. Clutton-Brock, T. H. y Harvey, P. H. 1991. The evolution of parental care. Princeton University. Press, Princeton, New York.
18. Davis, B. W. y Follansbee, A. L. 1945. The Mexican Volcano Mouse, *Neotomodon*. *Journal of Mammology*. 26(4): 401-411.
19. De Jong, T. R., Chauke, M., Harris, B. N. y Saltzman, W. 2009. From here to paternity: neural correlates of the onset of paternal behavior in California mice (*Peromyscus californicus*). *Hormones & Behavior* 56:220-31
20. Dewsbury, D. A. 1985. Paternal behavior in rodents. *Amer. Zool.* 25 (3): 841-852.
21. Di Wu y Gore, C.A., 2010. Changes in androgen receptor, estrogen receptor alpha, and sexual behavior with aging and testosterone in male rats. *Hormones & Behavior*, 58:306-316
22. Elwood, R. W. 1985. Inhibition of infanticide and onset of paternal care in male mice (*Mus musculus*). *Journal Comparative Psychology*, 99: 457-467.
23. Elwood, R.W., 1977. Changes in the responses of male and female gerbils (*Meriones unguiculatus*) towards test pups during the pregnancy of the female. *Animal Behaviour*., 25, 46-51.
24. Feder, H. H., Storey, A., Goodwin, D., Reboulleau, C. y Silver, R. 1977. Testosterone and 5 α - dihydrotestosterone levels in peripheral plasma of male and female ring doves (*Streptopelia risoria*) during the reproductive cycle. *Biology of Reproduction*. 16: 666-677.

25. Fleming A.S., Suh E. J., Korsmit M. y Rusak B. 1994 Activation of Fos-like immunoreactivity in the medial preoptic area and limbic structures by maternal and social interactions in rats. *Behavioral Neuroscience* 108:724-734
26. Fleming, A. S. y Luebke, C. 1981. Timidity prevents the virgin female rat from being a good mother: Emotionality differences between nulliparous and parturient females. *Physiology & Behavior* 27(5): 863-868
27. Fleming, A. S., Vaccarino, F., Tambosso, L., & Chee, P. 1979. Vomeronasal and olfactory system modulation of maternal behavior in the rat. *Science*, 203, 372–374.
28. Fleming, A. S., & Rosenblatt, J. S. 1974. Olfactory regulation of maternal behavior in rats: I. Effects of olfactory bulb removal in experienced and inexperienced lactating and cycling females. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 86, 233–246
29. Frijakamel, E.J., Mock, W.W., Frankel I.A., 1975. Alterations in plasma concentrations, LH and prolactin associated with mating in the male rat. *Horm. Behav.* 6, 277-288.
30. Gandelman, R., Zarrow, M. X., Denenberg, V. H., & Myers, M. 1971. Olfactory bulb removal eliminates maternal behavior in the mouse. *Science*, 171, 210–211.
31. Gary, C.H., Kristen, B. E., 1969. Plasma levels of testosterone in male rabbits following copulation. *J. Reprod. Fert.* 19, 273-277.
32. Gorski, P.A. 1990. Structural sexual dimorphism in the brain. In N.A. Krasnego y R.S. Bridges (Eds.) *Mammalian prenting*. New York: Oxford University Press. 61-90.

33. Gray, P., y Brooks, P. J. 1984. Effect of lesion location within the medial–preoptic–anterior hypothalamic continuum on maternal and male sexual behaviors in female rats. *Behav. Neurosci.* 98, 703–711
34. Gubernick, D.J., Winslow, J. T., Jensen, P., Jeanotte, L. y Bowen, J. 1995. Oxytocin changes in male over the reproductive cycle in the monogamous, biparental California mouse, *Peromyscus californicus*. *Hormones & Behavior* 29:59-73
35. Gubernick, D.J., Sengelaub D.R. y Kurz M. E. 1993. A neuroatomical correlate of Paternal and Maternal Behavior in the Biparental California Mouse (*Peromyscus californicus*). *Behavioral Neuroscience* 107:194-201
36. Gubernick, D.J., y Nelson, R.J. 1989. Prolactin and paternal behavior in the biparental California mouse, *Peromyscus californicus*. *Hormones & Behavior.* 23:203-210.
37. Gubernick, D.J. and Alberts, J.R., 1989. Postpartum maintenance of paternal behaviour in the biparental California mouse, *Peromyscus californicus*. *Hormones & Behavior.* 37: 656-664.
38. Gubernick, D.J. and Alberts, J.R., 1987. The biparental care system of the California mouse *Peromyscus californicus*. *Journal of Comparative Psychology* 101:169-177.
39. Herz, Z. F., Drori D., 1969. The testosterone content of the testes of mated and unmated rats. *J. Endocrinol.* 44, 127-128.
40. Hoffman, G.E., Smith, M.S. Verbalis, J.G. 1990. *c-fos* and related immediate early gene products as markers of activity in neuroendocrine systems. *Frontiers Neuroendocrinolgy.* 14:173–213.

41. Huck, U.W., Soltis, R. L., Coopersmith C.B., 1982. Infanticide in male laboratory mice: effects of social status, prior sexual experience, and basis for discrimination between related and unrelated young. *Anim. Behav.* 30, 1158-1165.
42. Hume, J.M. y Winne-Edwards K.E. 2006. Paternal responsiveness in biparental dwarf hamsters (*Phodopus campbelli*) does not require estradiol. *Hormones & Behavior.* 49:538-544.
43. Insel, T.R., Preston, S., Winslow, J.T. 1995. Mating in the monogamous male: behavioral consequences, *Physiology and Behavior.* 57:615–627.
44. Iqbal, J., Swanson, J.J., Prins, S. G. y Jacobson, D.C. 1995. Androgen receptor-like immunoreactivity in the Brazilian opossum brain and pituitary: distribution and effects of castration and testosterone replacement in the adult male. *Brain Research* 703 (1995) 1-18
45. Jakbowski, M. y Terkel, J. 1985. Incidence of pup killing and parental behavior in virgin female and male rats (*Rattus norvergicus*): Differences between Wistar and Sprague-Dawley stocks. *Journal of Comparative Physiology.* 99:93-97.
46. Jakubowski, M. and Terkel, J., 1982. Infanticide and caretaking in non-lactating *Mus musculus*: Influence of genotype, family group and sex. *Animal Behavior.* 30: 1029-1 035.
47. Kennedy, H.F. and Elwood, R.W., 1988. Strain differences in the inhibition of infanticide in male mice (*Mus musculus*). *Behavioral and Neural Biology.* 50: 349-353.

48. Korányi L., Yamanouchi K. y Arai Y. 1988. Neural transection between preoptic area and septum inhibits maternal behavior in female rats. *Neuroscience Research*;167-173
49. Kleiman, D.G. y Malcom, J.R. 1981. The evolution of male parental investment in mammals. *In* D.J. Gubernick y H. Klopfer (Eds). *Parental care in mammals*. Nueva York. Plenum press. pp.347-387.
50. Lee, A. W. and Brown E. R. 2007. Comparison of medial preoptic, amygdala, and nucleus accumbens lesions on parental behavior in California mice (*Peromyscus californicus*). *Physiology & Behavior* 92:617–628.
51. Lee A.W. y Brown R.E. 2002 Medial preoptic lesions disrupt parental behavior in both male and female California mice (*Peromyscus californicus*). *Behavioral Neuroscience* 116:968-975
52. Lévy F., Keller M. 2008. Olfactory mediation of maternal behavior in selected mammalian species. *Behavioural Brain Research*. 200:336-345
53. Lonstein, J. S., y De Vries, G. J. 2002. Parental responsiveness is feminized after neonatal castration in virgin prairie voles but is not masculinized by perinatal testosterone in virgin females. *Hormones & behavior*. 41: 80-87
54. Lonstein, J. S., y Gammie, C. S. 2002 Sensory, hormonal, and neural control of maternal aggression in laboratory rodents. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 26: 869–888
55. Lonstein, J. S., y De Vries, G. J. 1999. Sex differences in the parental behavior of adult virgin prairie voles: Independence from gonadal hormones and vasopressin. *Journal Neuroendocrinology*. 11: 441-449

56. Luis, J., Vázquez-Gaytán, B., Martínez-Torres, M., Carmona A., Ramos-Blancas, G., Ortíz G., 2010. Neither testosterone levels nor aggression decrease when the male Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*) displays paternal behavior, *Hormones & behavior*. 57(3):271-275.
57. Luis J, L. Ramírez, A. Carmona, G. Ortiz, J. Delgado. 2008. Paternal behavior and testosterone plasma levels in the Volcano Mouse *Neotomodon alstoni* (Rodentia: Muridae). *Revista Biología Tropical*. 57:433-439
58. Luis. J. González C. A. y Cárdenas-Vázquez René. 2008. Hormonas y conducta paterna en roedores. *Ciencia revista de la academia mexicana de las ciencias*. 59:36-43.
59. Marler, C. A. 2003. Variation in aromatase Activity in the Medial Preoptic Area and Plasma Progesterone is Associated with the Onset of Paternal Behavior. *Neuroendocrinology*. 78(1):36-44
60. Marston, J. H., 1972. The Mongolian gerbil. *The UFAW handbook of the care and management of laboratory animals*. Essex: Longman, Englad, pp. 257-268.
61. Mennella, J.A. y Moltz, H., 1988. Infanticide in rats: Male strategy acid female counter-strategy. *Physiology & behavior*. 42: 19-28.
62. Miceli, M. O., y Malsbury, C. W. 1982. Sagittal knife cuts in the near and far lateral preoptic area-hypothalamus disrupt maternal behaviour in female hamsters. *Physiology & Behavior*, 28, 856–867.
63. McCarthy, M.M. and vom Saal, F.S., 1986. Inhibition of infanticide after mating by wild male house mice. *Physiology & Behavior.*, 36: 203-209.

64. McGuire, B. 1988. Effects of cross-fostering on parental behavior of meadow voles (*Microtus pennsylvanicus*). *J. Mammal.* 69: 332-341.
65. Monaghan, E. P. y Glickman, S. E. 1992. Hormones an aggressive behavior. *In* Becker, J. B. Breedlove, S. M. y Crews, D. (Eds.), *Behavioral endocrinology* Cambridge. MA: MIT Press. Pp 261-286.
66. Nasello, G.A., Vanzeler, L.A. M., Madureira Ed. H. and Felicio, F. L. 1998. Effects of Acute and Long-Term Domperidone Treatment on Prolactin and Gonadal Hormone Levels and Sexual Behavior of Male and Female Rats. *Pharmacology Biochemistry & Behavior* 58:1997, 1089-1094.
67. Navarro, F. J.; González, R. N. y Álvarez, C. S. T. 2007. Los mamíferos silvestres de Milpa alta, Distrito Federal: lista actualizada y consideraciones para su conservación. *Acta Zoológica Mexicana.* 23 (3):103-124.
68. Nunes, S. Fite, J. E. y Patera, K. J. 2001. Interactions among Paternal Behavior, Steroid Hormones, and Parental Experience in Male Marmosets (*Callithrix kuhlii*). *Hormones & Behavior* 39: 70–82
69. Nunes, S. Fite, J. E. y French, J. A. 2000. Variation in steroid hormones associated with infant care behaviour an experience in male marmosets (*Callitrix kuhlli*). *Animal Behavior.* 60:857-865.
70. Numan, M., Fleming, A. S. y Levy, F. Maternal behavior. En: J.D. Neill (ed.), *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction.* Vol. 2: 1921-1993. Academic Press. 3th ed, 2006
71. Numan, M., Rosenblatt, J.S., Komisaruk, B.R., 1977. Medial preoptic area and onset of maternal behavior in the rat. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 91, 146–164.

72. Olazábal, D. E. y Young, L. J. 2006 Oxytocin receptors en the nucleus accumbens facilitate “spontaneous” maternal behavior in adult female prairie voles. *Neuroscience*. 141:559-568.
73. Palanza, P. and Parmigiani, S., 1991. Inhibition of infanticide in male Swiss mice: Behavioral polymorphism in response to multiple mediating factors. *Physiology & Behavior*, 49: 797-802.
74. Perrigo, G., Belvin, L. and vom Saal, F.S., 1991. Individual variation in the neural timing of infanticide and parental behavior in male house mice. *Physiology & Behavior*, 50: 287-296.
75. Rebum, C. J. y Wynne-Edwards, K.E. 1999. Hormonal changes in males of naturally biparental and uniparental mammal. *Hormones & Behavior*. 35: 163-176.
76. Rosamunde E.A., Gillian R., Eric B. K. 2006 Suppression of prolactin does not reduce infant care by parentally experienced male common marmosets (*Callithrix jacchus*). *Hormones & Behavior* 49 673–680.
77. Rosenblatt, J. S. y Ceus, K. 1998. Estrogen implants in the medial preoptic area stimulate maternal behavior in male rats. *Hormones & behavior*. 33: 23-30.
78. Rosenblatt, J. S. 1992. Maternal behavior. *In* J. B. Becker, S. M. Breedlove y D. Crews (Eds), *Behavioral Endocrinology*. Cambridge. MIT Press.
79. Rosenblatt, J. S. 1967. Nonhormonal Basis of Maternal Behavior in the Rat. *Science* 156 (3781) 1512-1514
80. Sakaguchi, K., M. Tanaka, T. Ohkubo, K. Doh-ura, T. Fujikawa, S.Sudo, y K. Nakashima. 1996. Induction of brain prolactin receptor long-form

mRNA expression and maternal behavior in pup contacted male rats: Promotion by prolactin administration and suppression by female contact. *Neuroendocrinology*. 63: 559-568.

81. Schneider, J.S., Stone, M.K., Wynne-Edwards, K.E., Horton, T.H., Lydon, J.P., O'Malley, B., Levine, J.E., 2003. Progesterone receptors mediate male aggression toward infants. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 100, 2951– 2956.

82. Schum, J. E. y Wynne- Edwards, K. E. 2005. Estradiol and progesterone in paternal and non-paternal hamsters (*Phodopus*) becoming fathers: conflict with hypotetized roles. *Hormones & Behavior*. 47: 410-418.

83. Song, Z. Tai, F. Yu, C. Wu, R. Zhang, X. 2010. Behavioural Brain Research 214 290–300

84. Stack, E. C. Balkrishnan, R. Numan, M. J. y Numan, M. 2002. A functional neuroatomical investigation of the role the medial preoptic area in neural circuits regulating maternal behavior. *Brain Res*. 131:17-36

85. Soroker, V. and Terkel, J., 1988. Changes in incidence of infanticidal and parental responses during the reproductive cycle in male and female wild mice *Mus musculus*. *Animal Behavior*, 36: 1275-1 281.

86. Trainor, B.C. Finy, Sima, M.F. Nelson R.J. 2008. Paternal aggression in a biparental mouse: Parallels with maternal aggression. *Hormon. and Behav.* 53 (2008) 200–207

87. Trainor, C. B. Bird, M. I. Alday N.A. Schlinger B.A., and. Marler, C. A. 2003. Variation in aromatase Activity in the Medial Preoptic Area and Plasma Progesterone is Associated with the Onset of Paternal Behavior. *Neuroendocrinology*. 78(1):36-44

88. Trainor, B.C. y Marler, C.A. 2002. Testosterone promotes paternal behaviour in a monogamous mammal via conversion to oestrogen. *The royal society*. pp 823-829
89. Trainor, B.C. y Marler, C.A. 2001. Paternal behavior, aggression and testosterone in the California mouse, *Peromyscus californicus*. *Hormones & Behavior*. 40:32-42
90. Trivers, R.L., Willard, D.E., 1973. Natural selection of parental ability to vary the sex ratio of offspring. *Science* 179, 90–92.
91. Vázquez, G. B. 2007 Conducta paterna, agresión y niveles plasmáticos de testosterona en el gerbo de Mongolia (*Meriones unguiculatus*). Tesis de biología UNAM, FES Iztacala.
92. Vom Saal, F.S. 1985. Time-Contingent in Infanticide and Parental Behavior Induced by Ejaculation in Male Mice. *Physiology & Behavior*. 34: 7-15
93. Vom Saal, F.S. and Howard, L.S., 1982. The regulation of infanticide and parental behavior: Implications for reproductive success in male mice. *Science*, 215: 1270-1272.
94. Wang, Z. X., Y. Luis y T. R. Insel 2000. Hypotalamic vasopressin gene expression increase in both males and females postpartum in a biparental rodent. *Journal of Neuroendocrinology*. 12:11-120
95. Wang, Z., Ferris, C. F. y De Vries, G. J. 1994. Role of septal vasopressin innervations in paternal behavior in prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Proc. Nat. Acad. Sci*. 91:400-404
96. Woodroffe, R y Vicent, A. 1994. Mother's little helpers: patterns of male care in mammals. *Trends in Ecology & Evolution*. 9:294-297

97. Wynne-Edwards, K. E. 2001. Hormonal changes in mammalian fathers. *Hormones & Behavior*. 40:139-145.
98. Wynne-Edwards, K. E. y Reburn, C. J. 2000. Behavioural endocrinology of mammalian fatherhood. *Trends in Ecology & Evolution*. 15:464-468.
99. Youg, L. J. 1999. Oxitocin and vasopressin receptors and species typical social behaviors. *Hormones & Behavior*. 36:212-221
100. Ziegler, T. E., y Snowdon, C. T. 2001. Preparental hormone levels and parenting experience in male cotton-top tamarins, *Saguinus oedipus*. *Hormones & Behavior*. 30: 59- 167.
101. Ziegler, T. E., Wegner, F. H. y Snowdon, C. T. 1996. Hormonal responses to parental and non-parental conditions in male cotton-top tamarins, *Saguinus oedipus*, a New World primate. *Hormones & Behavior*. 30: 287-297

Anexo 1

Hoja de registro

Hoja de registro: Ratón de los Volcanes (*Neotomodon alstoni*)

No. de Macho: _____ F. Nac: _____

Fecha observación				
Latencia				
Abriego(Tiempo)				
Olfateo (frecuencia/tiempo)				
Acicalamiento (frecuencia/tiempo)				
Reconstrucción del nido (frecuencia)				
Recuperación (frecuencia)				
Acomodo de la cría (Frecuencia)				
En el nido (tiempo)				
Fuera del nido (tiempo)				
Agresión				
observaciones				

Anexo 2

Técnica para inmunohistoquímica en tejidos fijados con paraformaldehido

Xilol I	10´
Xilol II	10´
OH 90%	10´
OH 80%	10´
OH 70%	10´
H2O destilada	10´
PBS-Tr (0.07%)	15´
Urea acuosa 6%	30´
PBS-Tr (0.07%)3 lavados	10´C/U
Metanol + H2O2	30´
PBS 3 lavados	10´C/U
PBS-Tr (0.05%)	10´
Suero al 5% en PBS-Tr	60´
PBS-Tr (0.05%) 3 lavados	10´C/U
Anticuerpo diluido en PBS-Tr	toda la noche a 4°C
PBS-Tr (0.05%) 3 lavados	10´C/U
Segundo anticuerpo	120´a temperatura ambiente
PBS 3 lavados	10´ C/U
DAB	10 a 30´
PBS	lavado con pizeta
PBS	10´

Anexo 3 Análisis de Datos

One Way Analysis of Variance

miércoles, octubre 05, 2011, 04:36:07 p.m.

Data source: Data 1 in Notebook 1

Normality Test: Passed (P = 0.405)

Equal Variance Test: Failed (P < 0.050)

Test execution ended by user request, ANOVA on Ranks begun

Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks miércoles, octubre 05, 2011, 04:36:07 p.m.

Data source: Data 1 in Notebook 1

Group	N	Missing	Median	25%	75%
MC	11	0	0.355	0.000	0.685
MS11	0	0.860	0.445	3.590	
MCEST	11	0	7.650	2.657	7.980
MCSEST11		0	4.950	3.309	7.423

H = 22.970 with 3 degrees of freedom. (P = <0.001)

The differences in the median values among the treatment groups are greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference (P = <0.001)

To isolate the group or groups that differ from the others use a multiple comparison procedure.

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):

Comparison	Diff of Ranks	q	P<0.05
MCEST vs MC	250.000	5.868	Yes
MCEST vs MS	160.000	3.756	Yes
MCEST vs MCSEST	24.000	0.563	No
MCSEST vs MC	226.000	5.305	Yes
MCSEST vs MS	136.000	3.192	No
MS vs MC	90.000	2.113	No

Note: The multiple comparisons on ranks do not include an adjustment for ties.

One Way Analysis of Variance

miércoles, octubre 05, 2011, 04:34:47 p.m.

Data source: Data 1 in Notebook 1

Normality Test: Failed ($P < 0.050$)

Test execution ended by user request, ANOVA on Ranks begun

Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks

Data source: Data 1 in Notebook 1

Group	N	Missing	Median	25%	75%	
MC	11	0	0.355	0.000	0.685	
MS	11	0	0.860	0.445	3.590	
MCEST	11	0	0.350	0.193	1.035	
MCSEST	11	0	0.576	0.0663	1.416	

$H = 4.757$ with 3 degrees of freedom. ($P = 0.190$)

The differences in the median values among the treatment groups are not great enough to exclude the possibility that the difference is due to random sampling variability; there is not a statistically significant difference ($P = 0.190$)