



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

FACULTAD DE PSICOLOGÍA

MAPEO DE LA REPRESENTACIÓN CORTICAL DE LOS GENITALES EN LA  
RATA MACHO.

T E S I S  
PARA OBTENER EL GRADO DE  
LICENCIADA EN PSICOLOGÍA  
P R E S E N T A  
DIANA CAROLINA ESQUIVEL FRANCO

DIRECTOR DE TESIS: DR. GABRIEL GUTIÉRREZ-OSPINA  
REVISOR DE TESIS: DR. EDUARDO CALIXTO GONZÁLEZ



MÉXICO, CIUDAD UNIVERSITARIA,  
FEBRERO 2014.

ESTE TRABAJO ES PARTE DE LOS PROYECTOS CONACyT 82879 y  
PAPIIT, UNAM IN215208-3 / IN203912-3 .



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.

## **Dedicatorias**

A Beatriz, mi madre, por absolutamente todo. Por tu amor infinito, tu apoyo en todas y cada una de mis locuras, por estar ahí siempre, en los mejores y en los peores momentos. Sin ti, esto no hubiera sido posible. Te amo.

A mi padre, porque la gran contribución que has hecho en mi formación como persona.

A María Luisa, a mi hermano Rodrigo y a toda mi familia.

A Paul Maidment, por el amor, los momentos y la paciencia.

A Admer, Georgina y Francisco, gracias por su apoyo en esos momentos... Ustedes lo saben mejor que yo. Simplemente mi vida sin ustedes no sería la misma, ¡¡¡los quiero infinitamente!!!. Y a todos mis amigos, sería muy complicado poner a todos y cada uno de ustedes, pero saben que los llevo en mi corazón.

A todos mis compañeros y amigos del lab., en especial a Anita, Ceci, Jonathan, Juan Carlos, Rodrigo, Mariel, Irene y baby, Leonora, Margarita, Daniel, Mirna, Sergio, Gerardo y su anexo de Veterinaria. Gracias por los momentos compartidos.

A mis profesores y amigos: Pablo Valderrama, Raúl Tenorio, Miguel Herrera, Alejandra Valencia y Valentín Rojo, por sus grandes enseñanzas dentro del aula, pero sobre todo, fuera de ésta.

A mi familia postiza: Fam. Chávez Gutiérrez, gracias por haberme adoptado y hacer de la vida un lugar tan cálido y placentero. Los adoro.

Al Dr. Soria por ser una gran inspiración en el camino de la ciencia. Merci.

A mi tutor, profesor, guía y amigo, el Dr. Gabriel Gutiérrez Ospina. Por todas tus enseñanzas, pero sobretodo por creer en mí.

A mi revisor, el Dr. Jaime Eduardo Calixto González, por su apoyo y valiosos comentarios para este proyecto.

A la UNAM, mi alma mater, a quién le debo gran parte de lo que soy.

Y finalmente, a Nano, por enseñarme las cosas más hermosas de la vida, donde quiera que estés, GRACIAS.

A todos, GRACIAS.

“Beyond our ideas of right and wrong,  
there is a field. I'll meet you there”  
Rumi.

## Reconocimientos y Agradecimientos

El presente trabajo fue realizado en el Laboratorio de Biología de Sistemas del Departamento de Biología Celular y Fisiología, y en la Unidad de Microscopía del Instituto de Investigaciones Biomédicas.

Muchas Gracias.





TESIS APOYADA POR EL CONACyT (PROYECTO 82879) y PAPIIT, UNAM  
(IN215208-3 y IN203912-3)



La autora expresa su agradecimiento al Dr. Miguel Tapia Rodríguez por el apoyo y la asesoría técnica brindados durante la realización de las cuantificaciones celulares incluidas en el presente trabajo y al M. en C. Daniel Díaz Espinosa de los Monteros por su apoyo en la realización del análisis estadístico.

RESUMEN.....	4
ABSTRACT.....	6
I. INTRODUCCIÓN.....	7
II. ANTECEDENTES.....	8
A. <i>Conducta copulatoria en la rata macho: Generalidades</i> .....	8
B. <i>Variabilidad de la conducta copulatoria en la rata macho</i> .....	10
C. <i>Variabilidad de la conducta copulatoria masculina: Posibles causas</i> .....	10
D. <i>Sistema somatosensorial</i> .....	12
1. <i>Sistema somatosensorial no humano</i> .....	13
E. <i>Propuesta</i> .....	16
III. JUSTIFICACIÓN:.....	17
IV. Objetivo General.....	17
V. Objetivos Específicos.....	17
VI. HIPÓTESIS.....	18
VII. VARIABLES.....	18
VIII. MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
A. <i>Animales</i> .....	19
B. <i>Protocolos de estimulación y obtención de muestras</i> .....	19
C. <i>Inmunohistoquímica para c-Fos e histoquímica para citocromo oxidasa</i> .....	21
D. <i>Estimación del área de la representación genital cortical y análisis estereológico</i> .....	22
IX. RESULTADOS.....	23
X. DISCUSIÓN.....	27
XI. CONCLUSIONES.....	31
XII. REFERENCIAS.....	32
ANEXO 1.....	40

## RESUMEN

La expresión de la cópula entre las ratas macho tiene gran variabilidad. Aunque el origen de estas diferencias se ha atribuido a las variaciones de la disponibilidad de los receptores de la serotonina, dopamina y estrógenos y de la actividad de la enzima aromatasa en el hipotálamo anterior y la amígdala, el comportamiento copulatorio no sólo depende de regiones que modulan las respuestas autonómicas, sino también de aquellas encargadas del procesamiento de la información sensorial, en particular de las responsables de la integración de la información somatosensorial tal y como lo es la corteza somatosensorial primaria (S1). Una forma de comenzar el estudio de la actividad de la S1 en la individuación de la cópula es evaluar si existen diferencias en el tamaño de la representación cortical de los genitales en las ratas macho. Esta posibilidad está apoyada en el hecho de que existe una estrecha relación entre el tamaño de las regiones cerebrales encargadas de realizar funciones específicas con la eficiencia en el desempeño de dichas funciones por parte del organismo. Desafortunadamente, aún desconocemos la ubicación y dimensiones relativas de la representación genital en las ratas macho. Por ello, en el presente trabajo se instrumentó un procedimiento para mapear la representación de los genitales en la S1 de la rata, mediante la combinación de las técnicas de inmunohistoquímica para c-Fos y la histoquímica para revelar la actividad de la enzima citocromo oxidasa. Nuestros resultados muestran que la S1 en ratas macho contiene una sub-representación de los genitales ubicada en la región dorsomedial de la sub-representación del tronco, cercana a la sub-representación de la pata posterior. La sub-representación genital ocupó entre el 11% y el 28% de área total de la sub-representación del tronco en la población de ratas macho estudiada. Así, nuestros resultados apoyan la existencia de una sub-representación genital en la S1 de la rata macho cuya ubicación relativa es semejante a la reportada para otras especies. Al mismo tiempo, nuestros datos sugieren que la representación cortical genital varía entre individuos por lo que, en el futuro, planeamos evaluar si existe

una relación entre el tamaño relativo de esta representación y la variabilidad individual de la expresión de la conducta copulatoria en las ratas macho.

## **ABSTRACT**

Copulatory behavior differs greatly among male rats. Although these differences may be attributed to individual differences of the availability of serotonin, dopamine and estrogen and of its receptors, as well as of differing levels of aromatase activity in the anterior hypothalamus and amygdala, the copulatory behavior depends also on the processing of sensory information ongoing in the primary somatosensory cortex (S1). One way to begin studying the role of S1 in copulatory behavior is to evaluate whether the size of the S1 genital representation correlates with parameters of the copulatory behavior. This possibility is supported by the reported relationships between the size of brain regions responsible for performing specific functions and efficiency in the performance of such functions by the organism. Unfortunately, we do not yet know the location and relative dimensions of the S1 genital representation in male rats. Therefore, in this thesis we instrumented a procedure to map the S1 genital representation in awake, behaving male rats by combining c-Fos immunohistochemistry and an histochemistry that reveals the activity of the enzyme cytochrome oxidase. Our results showed that the male rat S1 contains a genital sub-representation located in the dorso-medial aspect of the trunk sub-representation near the hind paw sub-representation. The genital sub-representation occupied between 11% and 28% of the total area of the trunk sub-representation among the group of males studied. Thus, our results support the existence of a genital sub- representation in the male rat S1 whose relative location is similar to that reported for other species. At the same time, our data suggest that the S1 genital sub-representation varies among individuals so that in the future, we plan to evaluate whether there is a relationship between the relative size of this sub-representation and individual variability of the expression of copulatory behavior in male rats.

## I. INTRODUCCIÓN

En general, es aceptado que todos los machos de las distintas especies despliegan conducta copulatoria. Sin embargo, estudios recientes han mostrado que la conducta copulatoria masculina varía significativamente entre los individuos de una misma especie (Larsson, 1961; Pattij et al., 2005; Portillo et al. 2006; Breuer et al., 2012). Aunque el origen de estas diferencias es poco claro, se piensa por un lado que podrían resultar de variaciones intrínsecas en la disponibilidad de serotonina, dopamina, receptores para estrógenos y la actividad de la enzima aromatasa en el hipotálamo anterior y en la amígdala (Hull et al, 2004; Olivier et al, 2006; Safarinehad, 2008; Selmanson et al.,1977 ; Roselli et al., 1985, 2003; Portillo et al., 2006). Por otro lado, también se ha propuesto que dichas diferencias pudieran resultar de la experiencia y el aprendizaje (Strassber y Perelman, 2009).

La expresión de la conducta copulatoria en los machos, sin embargo, no sólo depende de la amígdala y del hipotálamo anterior, y de las hormonas que afectan la función de estas regiones (e.g., testosterona), sino de un conjunto de estructuras nerviosas entre las que se encuentran aquellas que procesan información somestésica exteroceptiva (Moore, 1992). En este contexto, aún desconocemos si las regiones sensoriales corticales somestésicas contribuyen a la generación de las diferencias en la expresión de la conducta copulatoria entre diferentes machos en una misma especie (Georgiadis, 2012). Al respecto, debido a que diversos estudios anatómicos han consolidado un principio de correlación directa entre el tamaño relativo de las distintas regiones cerebrales con la calidad y eficiencia de la ejecución de las funciones que de ellas emanan (Purves, 1988), es posible suponer que las diferencias interindividuales en el desempeño copulatorio entre los machos pudiera asociarse con diferencias en el tamaño de la representación cortical de sus genitales.

De esta manera, una forma de empezar a estudiar el papel de la corteza somatosensorial primaria (S1) en la generación de las diferencias individuales de la conducta copulatoria en machos es el tratar de establecer si existen diferencias en el tamaño de la representación cortical de los genitales entre distintos

individuos. Es por ello que en el presente trabajo mapeamos funcionalmente la representación de los genitales en la ratas macho utilizando las técnicas de inmunohistoquímica para la detección de c-Fos, una proteína que se eleva de manera consecutiva a la estimulación neuronal (Filipowski, 2000).

## II. ANTECEDENTES

### A. *Conducta copulatoria en la rata macho: Generalidades*

La conducta copulatoria en la rata macho se expresa como una serie de patrones motores, aparentemente estereotipados, que conducen a la introducción del pene en la vagina. En general se reconocen tres patrones denominados como monta, intromisión y eyaculación. La monta se refiere al momento en que la rata macho se coloca sobre la hembra quedando sus regiones pélvica y perineal apoyada sobre la grupa de la hembra, con las patas delanteras sujetando a la hembra y palpando sus flancos. A su vez, realiza movimientos pélvicos rítmicos que alterna hacia delante y hacia atrás (Lucio, 2008). La sujeción y palpación de los flancos provoca en la hembra el reflejo de lordosis (arqueamiento del dorso que se acompaña de la elevación de la cabeza y grupa y desviación lateral de la cola). Después de realizada la primera monta, el número de éstas que sigue a la primera es variable.

En una segunda fase, y después de realizadas un cierto número de montas exitosas, el macho despliega el patrón copulatorio de intromisión. Éste implica la monta más la inserción del pene en la vagina. La intromisión se identifica cuando el macho realiza un movimiento pélvico de penetración que tiene una duración aproximada de 400 milisegundos, luego se desmonta bruscamente hacia atrás y se acicala el pene. Durante la penetración el macho no realiza movimientos pélvicos y luego de la primera intromisión el macho ejecuta otras montas e intromisiones de manera intercalada (Hull et al., 2007; Lucio, 2008).

Las intromisiones propician que el macho alcance el umbral de eyaculación. En general, en la rata macho este umbral se alcanza entre las 6 y las 12 intromisiones. Durante la eyaculación, el macho monta a la hembra y cuando

despliega el último de los movimientos pélvicos éste tiene la característica de ser más profundo y duradero que el de una simple inserción peneana debido a que en ese momento se expelle y deposita el semen en la vagina. De inmediato el macho eleva la porción superior del cuerpo, extiende las extremidades anteriores hacia los lados y desmonta a la hembra lentamente para acicalarse los genitales, en particular el pene. El conjunto de montas e intromisiones que culminan con la eyaculación se conoce como serie eyaculatoria (Lucio, 2008).

Los patrones copulatorios de monta, intromisión y eyaculación permiten evaluar la conducta copulatoria masculina mediante los parámetros copulatorios conocidos como latencias de monta, intromisión y eyaculación, y el número de montas e intromisiones. La latencia de monta se define como el Intervalo de tiempo que transcurre desde que se encuentran en la hembra y el macho hasta que éste realiza la primera monta. La latencia de monta evalúa la motivación sexual del macho y en este contexto se considera que mientras más corta es la latencia de monta, más motivado se encuentra el macho. La latencia de intromisión es el intervalo de tiempo que transcurre desde que se encuentran la hembra y el macho hasta que éste realiza logra la primera intromisión. Es por ello que este parámetro refleja la rapidez que tiene el macho para presentar la primera erección. Latencia de eyaculación se concibe como el intervalo de tiempo que transcurre entre la primera intromisión y la primera eyaculación. Esta latencia puede ser corta o larga. El número de montas es la frecuencia de montas ejecutadas por el macho en una serie eyaculatoria. Aunque el número de montas puede tener un significado ambiguo ya que si es elevado podría interpretarse como una motivación sexual incrementada, también podría resultar de un decremento en la sensibilidad del pene. Finalmente, se entiende como el número de intromisiones como la frecuencia de intromisiones que ejecuta el macho en una serie eyaculatoria. Este parámetro es considerado como una medida de la sensibilidad para alcanzar el umbral de eyaculación. Sin embargo, no puede decirse que un macho que realiza tres intromisiones antes de eyacular es más o menos potente que otro macho que realiza trece o más intromisiones (Lucio, 2008).



### ***B. Variabilidad de la conducta copulatoria en la rata macho***

La conducta sexual en roedores consta de tres fases. La primera se refiere al deseo sexual que involucra la libido, el cortejo o aspecto apetitivo el cual se caracteriza por las conductas orientadas a que el macho tenga acceso a la hembra. La segunda fase está representada por el desempeño, el aspecto consumatorio o de la potencia, que corresponde a la copula en sí (Sachs, 1988). La tercera fase se relaciona con el periodo refractario. No obstante la aparente universalidad de estos patrones, diversos estudios han mostrado una gran variabilidad en la conducta sexual entre los machos (Waldinger, 2002). Las ratas machos pueden categorizarse como altamente copuladoras, moderadas o no copuladoras (Anderson 1933, citado en Portillo et al, 2006; Larsson, 1961; Pattij et al., 2005).

Los individuos considerados como copuladores altos o moderados muestran latencias de eyaculación corta, media o larga que son características para cada individuo en cada categoría, independientemente del contexto copulatorio en el que se desempeñen (Pattij et al., 2005). También se han descrito rata macho eyaculadoras lentas, normales y rápidas, tomando como base su frecuencia de montas y latencia de eyaculación (Agmo, 1999). La diversidad de la expresión de la conducta copulatoria en machos no es exclusiva de roedores, ésta está bien documentada en machos de diversas especies de mamíferos (gorilas: Breuer, 2012; humanos: Waldinger, 2002; McDonnell 1992, citado en Lucio et al., 2012).

### ***C. Variabilidad de la conducta copulatoria masculina: Posibles causas***

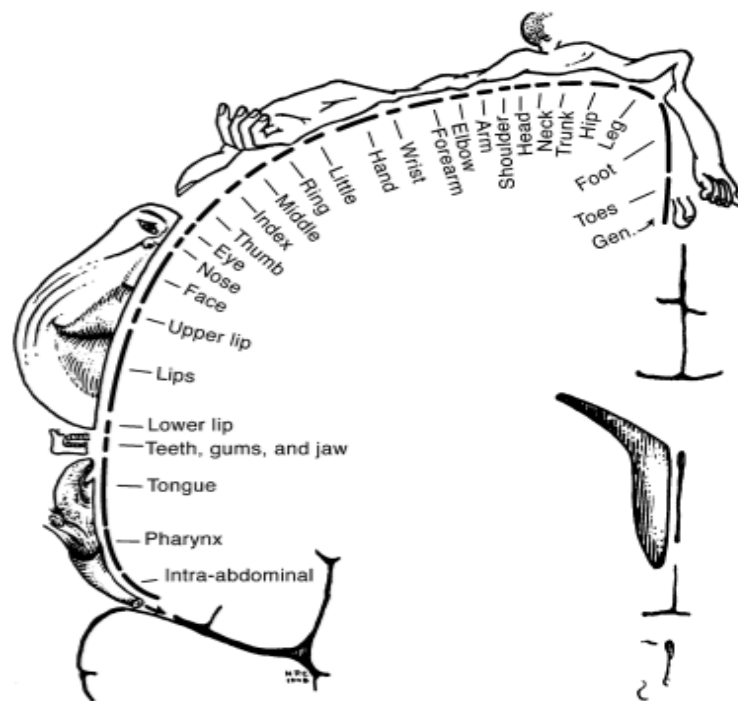
Si bien la existencia de distintos fenotipos sexuales masculinos está bien documentada, el origen de ellos es poco claro. Aunque anteriormente las características conductuales individuales se pensaban especificadas por los genes, en la actualidad existen trabajos que favorecen la idea de que la individuación conductual resulta, en mayor medida, de procesos de plasticidad anatomo-fisiológica neuronal, que ocurren durante el desarrollo (Van der Bergh et

al., 2005; Danese et al., 2009; Oler et al., 2010; Lajud et al., 2012; Schrey et al., 2012). Si esto explica la individuación de la conducta copulatoria es aún poco claro. Sin embargo, evidencia que apoya esta posibilidad es que se han documentado: 1) altas concentraciones y producción de oxitocina hipotalámica en ratas macho sexualmente experimentadas, al ser comparadas con aquellas consideradas como inexpertas (Hillerrgaart et al., 1998), 2) concentraciones elevadas de encefalinas en el hipotálamo de ratas macho sexualmente activos con relación a los machos inactivos (Rodríguez-Manzo et al., 2002), y 3) actividad elevada de la enzima aromatasa en el hipotálamo anterior y de los receptores a estrógenos en la amígdala e hipotálamo de ratas macho copuladoras con respecto a las no copuladoras (Portillo et al., 2006). Las diferencias descritas podrían explicar en parte las diferencias observadas entre los fenotipos copulatorios masculinos al menos en roedores.

Los distintos fenotipos copulatorios masculinos podrían también estar asociados a diferencias en la organización y fisiología de estructuras neurales sub-telencefálicas e incluso de estructuras distintas al sistema nervioso. En apoyo a esta posibilidad se han publicado datos que documentan diferencias morfológicas de los núcleos medulares que controlan la erección y eyaculación asociados con un mejor desempeño copulatorio en ratas macho (Lenz y Sengealaub, 2006, 2010). Además, Borgdorff et al. (2009) encontraron que en el caso de las ratas macho catalogadas como eyaculadoras rápidas, existe una diferencia en la latencia de eyaculación producida en el centro espinal generador de la eyaculación. Finalmente, Pichardo et al. (2011) mostraron que los machos copuladores presentan concentraciones mayores de serotonina en el testículo y el epidídimo al ser comparados con los no copuladores. Toda esta evidencia apoya la idea de que los distintos fenotipos copulatorios masculinos también pudiesen incluir rasgos característicos a nivel de la médula espinal, de la innervación periférica y de los órganos genitales.

#### D. Sistema somatosensorial

Existe una representación corporal en el cerebro del ser humano, simbolizada por el homúnculo de Penfield. Esta representación se encuentra localizada en las cortezas pre-central y post-central del cerebro (Penfield y Boeldry, 1937; Penfield y Rasmussen, 1950; Komisaruk et al., 2013).



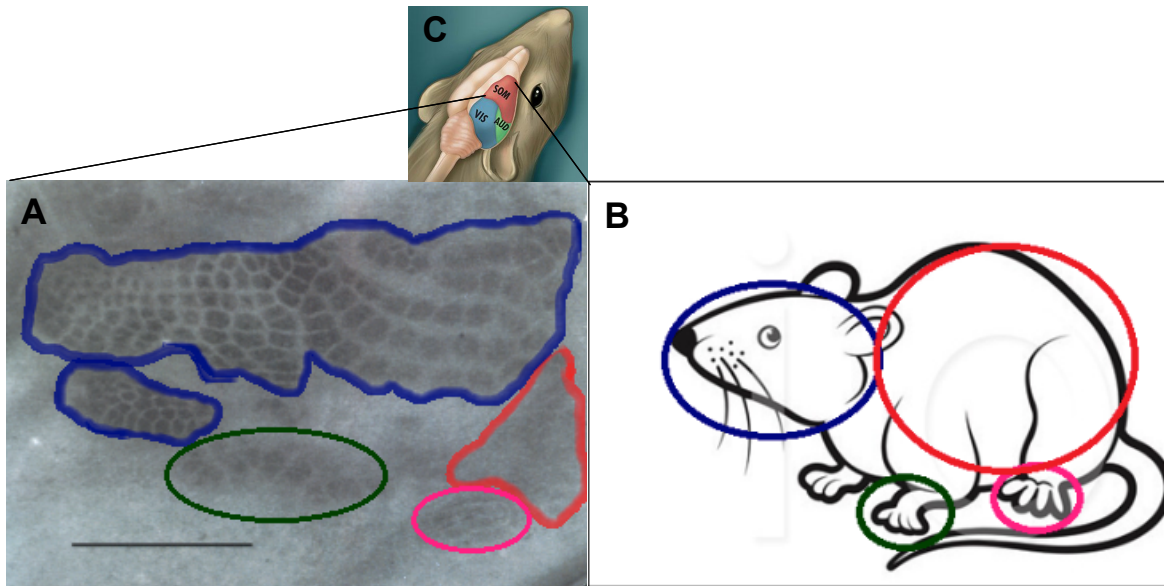
**Fig.1.** Homúnculo somatosensorial de Penfield. Representaciones corticales de varias partes del cuerpo como fueron mapeadas en el giro pre-central y post-central en la corteza parietal de humanos. Los genitales se encuentran localizados profundamente dentro de la pared medial. Modificado de Penfield y Rasmussen (1950), tomado de Di Noto et al., 2012.

De acuerdo al mapeo que realizó Penfield del cuerpo en la corteza somatosensorial, los órganos genitales masculinos se encuentran ubicados en la convexidad del hemisferio, muy cerca de los pulgares de pies y manos en el giro post-central, en un área que se empalma con la representación de la pared abdominal baja (Penfield y Rasmussen, 1950).

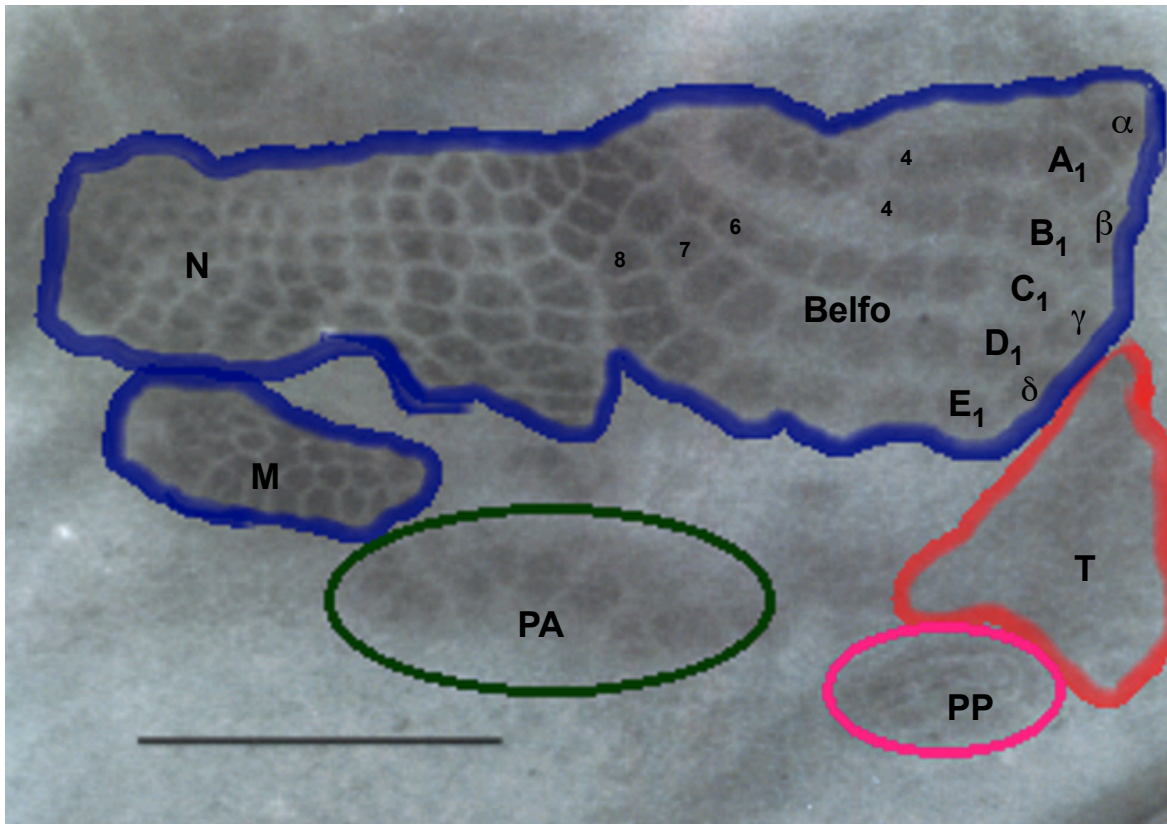
## 1. *Sistema somatosensorial no humano*

La representación somatosensorial del cuerpo ha sido mapeada en diversos mamíferos como: chimpancés, gibones y macacos por diferentes métodos de mapeo funcional, como registros fisiológicos (Woosley, 1964). Se ha encontrado que la representación referente a los genitales en machos se encuentra a lado de la representación del pie o de la pata. En su estudio con macacos hembra y machos, Rothmund (2002) mapeo la representación cortical de los genitales y los glúteos, encontrándolos en una secuencia que va de lo medial a lo lateral, respectivamente. Dicho estudio coincide con lo propuesto por Penfield quien sugiere que los genitales están localizados en el mismo sitio cortical tanto en machos como hembras.

La corteza somatosensorial primaria (S1) ocupa aproximadamente el tercio medio de la extensión rostro caudal de los hemisferios cerebrales en roedores (Killackey, 1983). En las ratas, esta área cortical posee una representación corporal conocida como ratúnculo (Fig. 1) (Welker, 1972,1976; Killackey, 1983; Riddle et al., 1992-1993; Sarko et al., 2011). En esta especie, el ratúnculo está constituido por unidades citoarquitectónicas (i.e., barriles) ubicadas en el 4º estrato de S1 (Fig. 2). Cada una de estas unidades representa colecciones de mecanorreceptores localizados por debajo de la superficie corporal. Si bien el mapa corporal en la rata se tiene bien definido y sus componentes generales ubicados (Riddle et al., 1992), aún se desconoce la localización y dimensiones de la representación genital en el ratúnculo .



**Figura 1.** **A.** Microfotografía que ilustra un corte tangencial de la S1 teñido con la tinción deshidrogenasa succínica. El mapa corporal está dividido en 4 sub-representaciones, en azul se delinea la representación de la cabeza, en rojo la representación del cuerpo, en verde la de la pata anterior y en rosa la de la pata posterior. **B.** Esquema que muestra los segmentos corporales representados en S1, delineados con los colores correspondientes. **C.** Esquema que ilustra la posición relativa de S1 en el cerebro de la rata. (A) Modificado de Riddle et al., 1993.



**Fig. 2.** Microfotografía que muestra la organización de S1 en la rata. La representación de las vibrisas esta organizada en filas denominada con A, B, C, D y E. A lo largo de las filas cada barril se numera en orden progresivo a partir del número 1 en dirección a la representación de la nariz. Cada fila esta constituida por distinto número de barriles numerados consecutivamente. Belfo: región facial en la que se disponen las vibrisas; N: nariz; M: mandíbula; PA: pata anterior; PP: pata posterior; T: tronco. Sección delineada por medio de la tinción de deshidrogenasa succínica. Modificado de Riddle et al., 1993.

## *E. Propuesta*

Si bien existe evidencia que apoya que la variabilidad interindividual de la conducta copulatoria en las ratas macho se asocia con variaciones intrínsecas bioquímicas cerebrales y con aspectos aprendidos de la conducta, no se ha evaluado el papel del sustrato anatómico que procesa de forma primaria a la información sensorial, particularmente la somestésica, elemento promotor de la individuación de la conducta copulatoria. Al respecto, el cuerpo provee de instrucciones que organizan el cerebro a través de las relaciones que se establecen mediante la innervación periférica (Purves, 1988). Se sabe, por ejemplo, que la densidad de innervación de un segmento corporal determina el tamaño de su representación en el cerebro (Purves, 1988). Por otro lado, existe una correlación directa entre el tamaño relativo de las distintas regiones cerebrales con la calidad y eficiencia en la ejecución de las funciones que de ellas emanan (Purves, 1988). Así por ejemplo, en roedores y humanos, se ha reportado que un mayor tamaño del hipocampo se traduce en un mejoramiento de las habilidades de navegación espacial (Iaria, 2008), mientras que regiones corticales auditivas de mayor tamaño se asocian con mejores habilidades musicales (Pantev et al., 1998; Schneider et al., 2002; Fujikoa, 2006). Una idea aún inexplorada, es la que sostiene que las diferencias entre los fenotipos copulatorios en mamíferos macho pudieran coligar con diferencias en el tamaño de la representación cortical de los genitales. Sin embargo, para poder evaluar esta posibilidad, primero tenemos que localizar y definir las dimensiones relativas del área de representación de los genitales en la S1; este último fue el objetivo central de la presente tesis. Para ello se instrumentó un protocolo de mapeo que combinó técnicas de inmunohistoquímica para c-Fos y de histoquímica para citocromo oxidasa, junto con un análisis estereológico de microscopia y los resultados fueron analizados por medio de la prueba estadística de Kruskal-Wallis. Nuestros resultados indican que la representación de los genitales se encuentra en un área cercana a la pata posterior y el área del tronco.

### **III. JUSTIFICACIÓN:**

Con el objeto de establecer si existe una relación entre el tamaño de la representación de los genitales en S1 con el desempeño de la conducta copulatoria en las ratas macho, es necesario establecer la ubicación y el tamaño relativo de aquella. Desafortunadamente, no se cuenta con datos sobre la localización y tamaño relativo de los órganos genitales en la S1 de las ratas macho. Es por ello que este trabajo se enfocó a mapear funcionalmente y establecer la dimensión relativa de la sub-representación de los genitales en la S1 en una población de ratas macho.

### **IV. Objetivo General**

Mapear el área de la representación de los genitales en la S1 de ratas adultas macho.

### **V. Objetivos Específicos**

- Localizar la representación de los genitales en la S1 de ratas adultas macho mediante el uso combinado de técnicas de inmunohistoquímica para c-Fos e histoquímica para la enzima Citocromo Oxidasa.
- Establecer la dimensión de la representación cortical de los genitales mediante el uso combinado de técnicas de inmunohistoquímica para c-Fos y morfometría digital en ratas adultas macho.
- Cuantificar el número de núcleos inmunopositivos a c-Fos en el área de representación de los genitales en la S1.



## **VI. HIPÓTESIS**

1. Existe una sub-representación cortical de los genitales en la S1 de las ratas macho.
2. La sub-representación cortical genital varía significativamente entre los individuos

## **VII. VARIABLES**

- V. A<sub>1</sub>. Ubicación de la sub-representación genital en cada individuo.
- V. A<sub>2</sub>. Valor porcentual del área relativa ocupada por la sub-representación genital en cada individuo.

## VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

### A. Animales

Se utilizaron ratas macho (n=19, dividida en 4 subgrupos) sin experiencia sexual de la cepa Wistar con un peso aproximado de 300 – 400 gr (3 meses de edad aprox.). Los animales fueron mantenidos en cajas de acrílico (46cm x 32cm x 20cm) agrupados en cohortes de 2 individuos, en el bioterio a 21°C ( $\pm 1$ ), con un ciclo de iluminación 12:12 (6:00 a 18:00 hr.), y con agua y comida *ad libitum*. Todos los procedimientos cuentan con la aprobación de la comisión de ética para el manejo de los animales de experimentación del Instituto de Investigaciones Biomédicas (para ver la lista de materiales con mayor detalle, ir al Anexo 1).

### B. Protocolos de estimulación y obtención de muestras

Grupo 1: los animales (n=9) no recibieron anestesia, permanecieron en la caja donde fueron estimulados en la región genital con una pequeña brocha (o pincel grueso), frotando manualmente de manera continua por 20 minutos. Posteriormente, la estimulación fue interrumpida y se dejó al animal en reposo por aproximadamente 40 minutos después de la estimulación. El animal fue sacrificado al concluir una hora de haber iniciado el experimento; esto ocurrió aproximadamente entre 30 y 40 minutos después de la manipulación. Estudios previos han mostrado que este periodo es suficiente para detectar la inmunoreactividad nuclear para c-Fos de manera consecutiva a la aplicación de un estímulo sensorial (Morgan y Curran, 1991). La rata fue sacrificada mediante la aplicación de una dosis letal de pentobarbital sódico, administrado vía intra peritoneal (I.P.) y fue entonces perfundida vía intracardiaca con NaCl 0.15 M (300 ml) y paraformaldehído (4%; PFA; 300 ml) amortiguado (solución de fosfatos; PB; 0.1M, pH. 7.4). Una vez perfundidos los animales, el cerebro fue retirado y ambas cortezas fueron disecadas y mantenidas en PFA, aplanadas entre dos portaobjetos separados por 2mm, por 2 horas en el mismo fijador a 4°C.

Finalizado este periodo, las cortezas se mantuvieron aplanadas hasta por 72 hr en PB a 4°C. Este grupo tuvo la finalidad de poder localizar el área de representación de los genitales en S1, ante un estímulo sensorial táctil.

Grupo 2: los animales (n=3), fueron anestesiados con pentobarbital sódico (40mg/1000g de peso corporal) administrado vía I.P. Una vez anestesiados, fueron estimulados en la región genital con una pequeña brocha (o pincel grueso), frotando manualmente por 20 minutos. Posteriormente, se interrumpió la estimulación y el sujeto fue sacrificado al concluir una hora de haber iniciado el experimento; esto ocurrió aproximadamente entre 30 y 40 minutos después de la manipulación. La rata fue sacrificada y perfundida como se mencionó anteriormente. El cerebro fue retirado y ambas cortezas fueron disecadas y en mantenidas en PFA, aplanadas entre dos portaobjetos separados por 2mm, durante 2 horas en el mismo fijador. Finalizado este periodo, las cortezas se mantuvieron aplanadas hasta por 72 horas en PB a 4°C. Este grupo tuvo la finalidad de servir como control para el grupo uno, y poder así ubicar el área de representación de los genitales en S1, ante un estímulo sensorial táctil, en el grupo experimental.

Grupo 3: las vibrisas derechas de animales (n=4) no anestesiados fueron estimuladas con una pequeña brocha (o pincel grueso), frotando por 20 minutos. Posteriormente la estimulación fue interrumpida y el animal fue sacrificado, y su cerebro obtenido y procesado como se describió en las secciones precedentes. La finalidad de este grupo fue mostrar que la técnica de estimulación utilizada nos proporcionó un método de evaluación específico de las zonas de representación somatosensorial donde se presenta inmunomarcaje para c-Fos.

Grupo 4: las vibrisas derechas de animales (n=3) anestesiados, fueron estimuladas con una pequeña brocha (o pincel grueso), frotando por 20 minutos. Posteriormente la estimulación fue interrumpida y el animal fue sacrificado, y su

cerebro obtenido y procesado como se describió en las secciones precedentes. La finalidad de este grupo fue servir como control del grupo 3.

C. *Inmunohistoquímica para c-Fos e histoquímica para citocromo oxidasa*

Las cortezas se cortaron (50 $\mu$ m) en una orientación paralela a la superficie de la corteza (i.e., tangenciales) en un vibratomo y las rebanadas fueron recolectadas en cajas de 24 pozos con PB. Las rebanadas fueron procesadas por flotación mediante el protocolo de inmunohistoquímica para c-FOS. Para ello, ellas recibieron tres lavados con PB adicionado con Triton X-100 0.3%, cada lavado con una duración de 15 minutos, posteriormente fueron incubadas con anticuerpos primarios obtenidos en conejo y dirigidos contra cFOS de humano (Santa Cruz, 1:6000 en PB) por 3 días a 4°C. Después de tres lavados con PB adicionado con Triton X-100 0.3%, las rebanadas fueron incubadas con anticuerpos secundarios obtenidos en burro y dirigidos contra inmunoglobulinas de conejo (Millipore 1:2500) por 90 minutos a temperatura ambiente. Las rebanadas se lavaron nuevamente (3 lavados de 15 min. cada uno) en PB e incubaron con el complejo avidina-biotina peroxidasa por 90 minutos a temperatura ambiente en concordancia con el protocolo sugerido por el fabricante (VECTOR). Finalmente, después de tres lavados en PB (3 lavados de 15 min. cada uno), la actividad de peroxidasa en los cortes fue revelada utilizando una solución de diaminobencidina (DAB) intensificada con níquel durante aproximadamente 2 minutos a temperatura ambiente.

Una vez finalizado el procedimiento de inmuno-tinción, los cortes fueron contra-teñidos mediante la histoquímica diseñada para revelar la actividad de la enzima citocromo oxidasa, que es utilizada como método de marcaje de la S1 en roedores (Nachlas y cols. 1957, citado en Riddle y cols, 1992; Riddle y cols., 1993). Para ello los cortes fueron incubados con una solución amortiguada de fosfatos (PB) que contienen 2,2-diaminobencidina (1.38 mM), citocromo C (12.1 $\mu$ M), sacarosa (116.8 mM) y catalasa (200 $\mu$ g/ml) por aproximadamente 3-5 horas a 37°C. Finalizado este procedimiento, los cortes fueron colocados sobre

portaobjetos cubiertos con gelatina, desecados al aire libre y cubiertos con medio de montaje (Cytoseal).

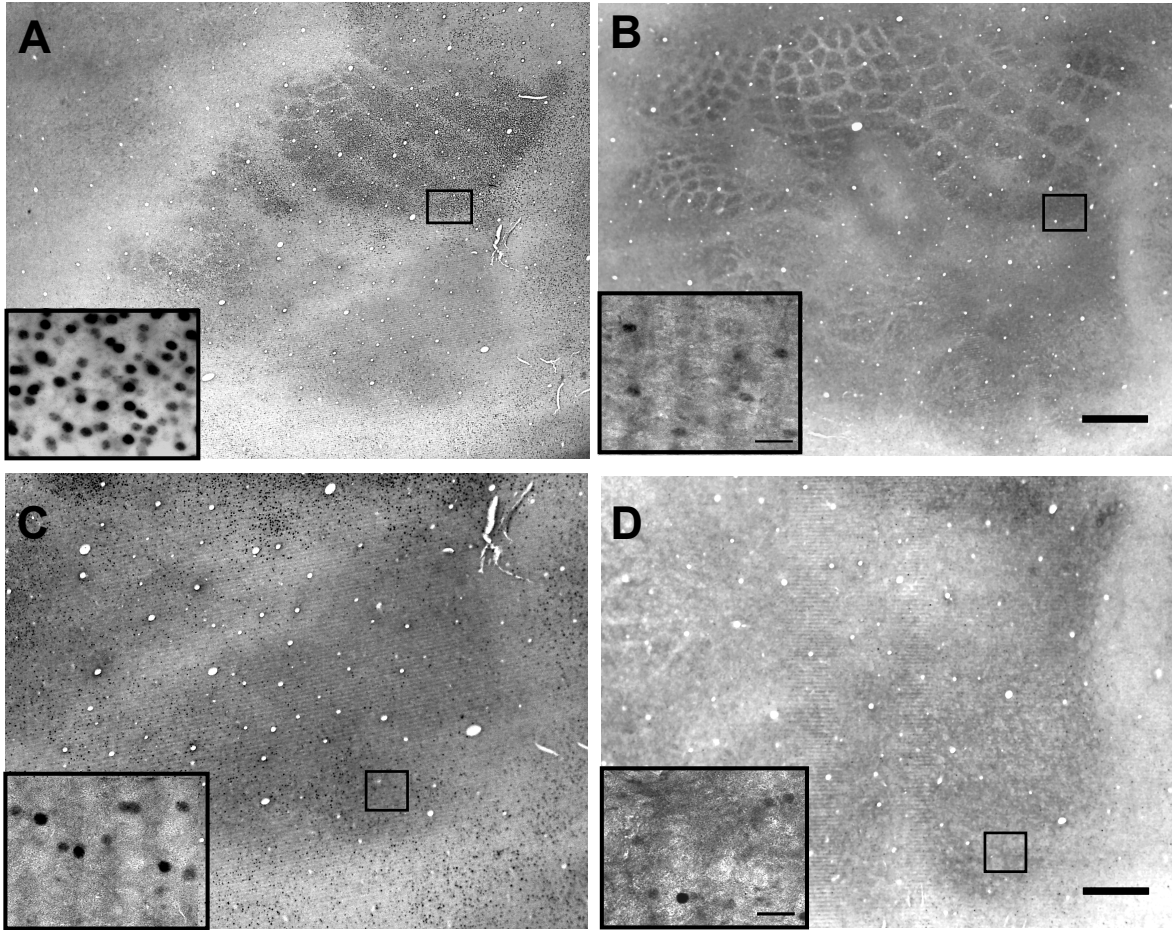
Las laminillas fueron utilizadas para identificar al mapa corporal y la ubicación relativa de la sub-representación genital con ayuda de un microscopio óptico de campo claro.

#### D. Estimación del área de la representación genital cortical y análisis estereológico

Para estimar el área ocupada por la representación genital cortical, se tomaron microfotografías digitales a un aumento de 12.5x bajo un estereomicroscopio Leica EZ4 HD. Esta magnificación permitió ubicar en S1 las zonas de activación neuronal en respuesta a la estimulación de las vibrisas o de los genitales. El área ocupada por las neuronas activadas en la zona de los genitales fue delineada siguiendo los bordes externos de la zona de activación con la ayuda del programa Image J (NIH) y se obtuvo el porcentaje que esta área ocupaba con respecto al tamaño de la sub-representación del tronco. Posteriormente, se contaron el número de núcleos inmunoreactivos para c-Fos, en la zona genital o en su área homóloga en los animales estimulados y anestesiados/estimulados utilizando un microscopio Olympus DSU, a un aumento de 40x, con el programa Stereoinvestigator (MicroBrightField Inc; Williston, USA). El conteo se realizó serialmente, ya que la estructura de interés es muy pequeña (periodicidad promedio de 5 cortes), con una malla de 300 x 300  $\mu\text{m}$  ó 110 x 110  $\mu\text{m}$  y un marco de conteo de 90 x 90  $\mu\text{m}$ , con una zona de guarda del 10% y una red de muestreo de 21 $\mu\text{m}$ . Los núcleos que tocaron la zona inferior o lateral izquierda de los límites de la zona de guarda fueron descartados de nuestros conteos. Los datos obtenidos fueron comparados entre grupos utilizando la prueba estadística de Kruskal-Wallis, seguida de la prueba de comparación múltiple de Dunn; estableciendo la significancia estadística de la prueba en un valor de  $p < 0.01$ , por medio del programa estadístico GraphPad Prisma.

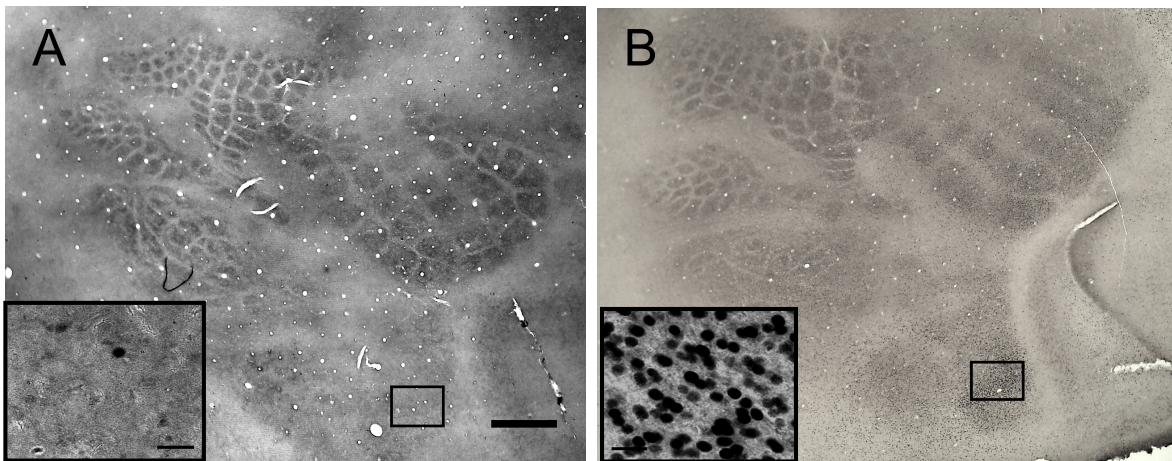
## **IX. RESULTADOS**

Con la finalidad de mostrar que la técnica de estimulación proporciona un método de evaluación específico de las zonas de representación somatosensorial en donde se presentó inmunomarcaje para C-Fos, se utilizó un grupo estimulado en las vibrisas como control positivo de la técnica. En los animales no anestesiados, la estimulación aplicada en las vibrisas condujo una activación neuronal prominente dentro de los barriles posteriores (Fig. 3A). En contraste, la estimulación de vibrisas bajo la condición de anestesia (Fig. 3B), no activó la misma cantidad de neuronas con respecto al grupo no anestesiado. Por otra parte, para determinar que el inmunomarcaje era región-específica para la zona estimulada, se muestra un acercamiento de la zona de representación del tronco dentro del ratúnculo en los animales no anestesiados (Fig. 3C) y en condiciones de anestesia (Fig. 3D). En estas imágenes no se aprecian diferencias cualitativas en la cantidad de núcleos marcados, debido a que la zona de estimulación fueron las vibrisas. Así, los resultados anteriores le dan validez a nuestra técnica de estimulación y mapeo.



**Figura 3.** Microfotografías que muestran una imagen representativa de la inmunotinción para c-Fos a lo largo de la representación corporal de la S1 (A) y en la sub-representación del tronco (C) en ratas macho no anestesiadas que recibieron estimulación en el área de las vibrisas. Las magnificaciones corresponden a los recuadros indicados en la imagen de menor aumento. Nótese la elevada cantidad de núcleos celulares inmunopositivos para c-Fos en la representación de las vibrisas (A) pero no en la del tronco (C). Escala en A=1mm. Escala en C=50 $\mu$ m. Escala en magnificaciones= 25 $\mu$ m. Microfotografías que muestran una imagen representativa de la inmunotinción para c-Fos a lo largo de la representación corporal de la S1 (B) y en la sub-representación del tronco (D) en ratas macho anestesiadas, estimuladas en el área de las vibrisas. Nótese la escasa cantidad de núcleos celulares inmunopositivos para c-Fos en ambas regiones, vibrisas (B) y tronco (D). Las magnificaciones corresponden a los recuadros indicados en la imagen de menor aumento. Escala en B=1mm; Escala en D=50 $\mu$ m; Escala en magnificaciones= 25 $\mu$ m.

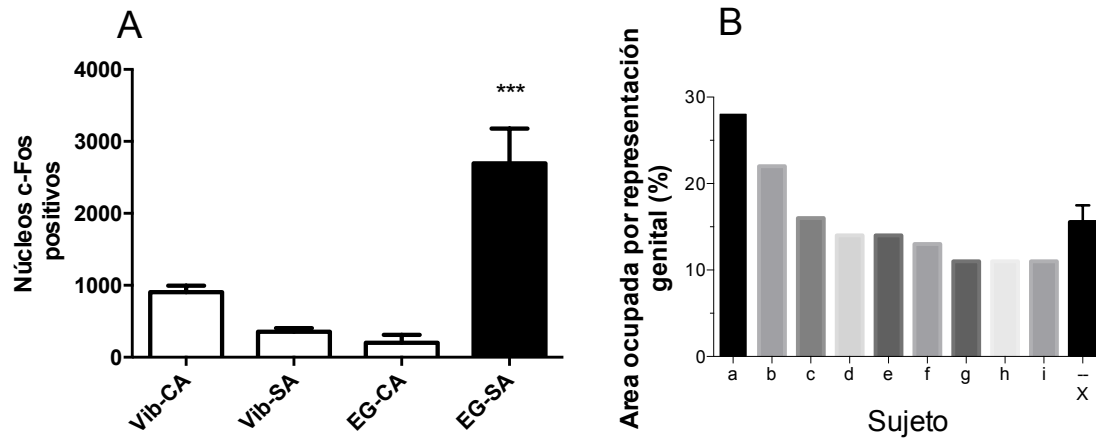
Con la finalidad de localizar el área de representación de los genitales en la S1, se utilizó un grupo de ratas cuyos genitales fueron estimulados. En los animales no anestesiados la estimulación de los genitales se asoció con una activación neuronal prominente dentro una región localizada en la representación baja del tronco cercana a origen de la sub-representación de la pata posterior (Fig. 4A). En contraste, la estimulación de los genitales bajo la condición de anestesia esencialmente no produjo activación neuronal en la zona correspondiente con respecto al grupo no anestesiado (Fig. 4B).



**Figura 4.** Fotomicrografías que muestran una imagen representativa de la inmunotinción para c-Fos en el área que corresponde a la sub-representación de los genitales bajo condiciones de anestesia (A) y sin anestesia (B), en ratas macho cuyos genitales fueron estimulados. Nótese el incremento de la marca nuclear y en la cantidad de núcleos marcados en el área dorso-medial de la sub-representación del tronco en las ratas estimuladas (comparar magnificaciones en A y B obtenidas de los recuadros correspondientes). Escala en A y B= 1mm. Escala en magnificaciones= 25µm.



Adicionalmente para comparar los cuatro grupos de animales, se evaluó el número de núcleos inmunopositivos a c-Fos en el área de representación genital. Los resultados muestran diferencias significativas ( $K=28.09$ ;  $p < 0.0001$ ) entre los animales estimulados genitualmente sin anestesia y el resto de los grupos: estimulado genitualmente con anestesia, estimulado de vibrisas con anestesia y estimulado de vibrisas sin anestesia (Fig. 5A). Por último, los resultados nos muestran que el área ocupada por la representación genital alcanza entre el 11 y el 28% de área total del tronco (Fig. 5B).



**Figura 5.** (A) Gráfica de barras que presenta el número estimado de núcleos inmunopositivos a c-Fos en sub-representación genital de la S1 bajo las diferentes condiciones experimentales. Los grupos se compararon mediante la prueba estadística de Kruskal-Wallis  $p < 0.0001$ , seguida de la prueba de comparación múltiple de Dunn. (B), Gráfica de barras que muestra el porcentaje de área ocupada por la representación genital con respecto al tronco en cada rata no anestesiada y estimulada genitualmente. (Mediana  $\pm$  SEM) (Grupos: EG-SA, animales estimulados en la región genital sin anestesia; EG-CA, animales estimulados en la región genital bajo condiciones de anestesia; Vib-CA animales con estimulación en la región de las vibrisas bajo condiciones de anestesia y Vib-SA, animales con estimulación en la región de las vibrisas sin anestesia.)

## **X. DISCUSIÓN**

Las ratas macho difieren significativamente en la expresión de su conducta copulatoria individual. Si bien, como fue comentado en los antecedentes, parte de esta diversidad pudiese deberse a diferencias en la disponibilidad de algunos neurotransmisores, hormonas, receptores y enzimas involucradas con la transformación de testosterona en ciertas zonas del cerebro (Selmanoff et al., 1977; Roselli et al., 1985-2003; Hull et al., 2004; Olivier et al., 2006; Portillo et al., 2006; Safarinehad, 2008), la posibilidad de que las regiones neuronales destinadas al procesamiento de información somatosensorial influyan en la variación de la conducta copulatoria entre las ratas macho no ha sido aún evaluada.

Desafortunadamente, no existen estudios que hayan mapeado la representación de los genitales en la S1 de la rata. Es por ello que en el presente trabajo identificamos la sub-representación genital en la S1 de ratas macho combinando técnicas de mapeo funcional. Una manera de inferir la participación de la S1 en las variaciones interindividuales de la conducta copulatoria en las ratas macho es explorar si existen diferencias interindividuales en el tamaño de la sub-representación de los genitales en la S1; se ha documentado que hay una relación directa entre el tamaño de una estructura neural con la eficiencia de la función que desempeña (Purves, 1988). Nuestros resultados mostraron que la sub-representación de los genitales en la S1, ocupa el área dorsomedial de la sub-representación del tronco, cercana a la correspondiente de la pata posterior. Esta ubicación es similar a la reportada en primates (macacos: Rothmund et al., 2002; humanos: Penfield y Rassmussen, 1950; Penfield y Jasper, 1954; Kell et al., 2005). El hecho de que en los linajes animales tan distantes filogenéticamente la ubicación relativa de la sub-representación de los genitales se encuentre en regiones cerebrales semejantes, sugiere que esta zona ha sido conservada durante la evolución. Reconocemos, sin embargo, que el presente estudio aún es preliminar debido a que se requiere de incrementar el tamaño muestral. Desafortunadamente, la producción animal del bioterio institucional se vio afectada durante la realización de esta tesis, restringiendo el número de animales

disponibles destinados para la misma. Por ello, convendrían mayores estudios con una muestra de mayor tamaño, así como estudios en otros organismos con el fin de evaluar los méritos de la idea enunciada.

El segundo hallazgo importante en este trabajo tiene que ver con las variaciones interindividuales del tamaño de la sub-representación de los genitales en la S1 de las ratas macho. Al respecto nuestros resultados mostraron que un 33% de las ratas estimuladas tuvieron una sub-representación genital que abarcó alrededor del 11%, otro 44% en el rango de 13 a 16% y el resto por arriba del 22% del área ocupada por la sub-representación del tronco en la S1. Estos resultados indican que existe una heterogeneidad en las dimensiones de la sub-representación genital entre las ratas macho. Si bien la consecuencia conductual de este hallazgo debe ser evaluada en estudios ulteriores, es interesante que una distribución parecida ha sido reportada para poblaciones de ratas macho clasificadas como copuladoras lentas, normales y rápidas por Pattij et al. (2005).

Es importante considerar que las diferencias interindividuales en el tamaño de la representación cortical genital pudiesen deberse a variaciones en la intensidad de la estimulación aplicada. Aunque no podemos descartar esta posibilidad, consideramos que esta situación no repercute en nuestros datos pues tanto los experimentos llevados a cabo en animales anestesiados estimulados genitalmente, como aquellos que recibieron estimulación en la región de las vibrisas con o sin anestesia, no mostraron diferencias entre los individuos. De cualquier forma, estudios posteriores deberán establecer si los machos que poseen las sub-representaciones genitales de mayor tamaño despliegan una mejor conducta copulatoria y si esto se asocia con una mayor eficacia reproductiva, esta última estimada objetivamente por el número de crías vivas fértiles que estos machos son capaces de engendrar. Dada la plasticidad del sistema nervioso, también se tendrá que estudiar si el tamaño de la sub-representación no se modifica con la práctica, el reforzamiento u otro tipo de aprendizaje y/o depende de los rangos sociales que cada rata experimenta.

Finalmente, otra área de especulación tienen que ver con el origen de las diferencias en el tamaño de la sub-representación genital entre las ratas macho.

Al respecto, es posible que el mayor o menor flujo de información a lo largo del nervio dorsal del pene (rama del nervio pudendo; Hull et al., 2007) que lleva información sensorial de la piel del pene y del glande hacia el médula espinal y luego hacia la corteza cerebral a través de la vía espino-talámica (Hull et al., 2007), pudiese promover el mayor o menor crecimiento, respectivamente, de la sub-representación genital en distintos machos. En apoyo a esta posibilidad, se ha observado que, al menos en roedores, la estimulación anogenital provista por la madre durante la etapas del desarrollo postnatal temprano mejora en el adulto la expresión de la conducta sexual en los machos (Moore, 1992) y promueve la maduración del núcleo medular espinal del músculo bulbo-cavernoso, estructura que controla la erección del pene en la rata adulta (Lenz et al., 2008, 2010). Además, Riddle et al. (1993) mostraron que el crecimiento diferencial del mapa corporal en la S1 de la rata se relaciona a diferencias en la actividad eléctrica y metabólica de las distintas sub-representaciones que constituyen dicho mapa siendo las de mayor actividad aquellas que crecen más. Claramente, estudios subsecuentes deberán abordar la posibilidad de que el origen de las diferencias en el tamaño de la sub-representación de los genitales en S1 de la rata macho sean producidas por incrementos en la actividad neuronal asociada con el uso.

Uno de los aspectos interesantes para comentar con respecto a los resultados obtenido en la tesis está relacionado con su utilidad e importancia en el área de la psicología. Es bien conocido que médicos y psicólogos consideran a algunas variantes de la conducta copulatoria en el ser humano como disfunciones, atribuyendo una etiología fundamentalmente psicosociológica a ellas. Por ejemplo, la eyaculación precoz considerada como la disfunción sexual de mayor prevalencia en hombres (30%; Bravo, 2005), se ha asociado tradicionalmente a problemas en el manejo de los niveles de ansiedad, actitudes pasivo agresivas y/o una practica reducida de la actividad sexual (Strassber y Perelman, 2009). Estudios como el nuestro, orientados a explorar las bases neurofisiológicas de las variantes de la conducta sexual, pudiesen ayudar a los profesionales de la salud

formados en distintas disciplinas consideren a los factores biológicos como elementos que influyen en la expresión de la conducta sexual.

## **XI. CONCLUSIONES**

Este es primer trabajo que mapea los genitales en la corteza somatosensorial primaria (S1) en la rata macho.

La representación de los órganos genitales en la corteza somatosensorial primaria de la rata macho, ocupa el área dorso-medial de la sub-representación del tronco, cercana a la correspondiente a la pata posterior, en la S1.

El 33% de los animales estimulados tuvieron una sub-representación genital que abarcó alrededor del 11%, 44% en el rango de 13 a 16% y el resto por arriba del 22% del área ocupada por la sub-representación del tronco en la S1. Por lo tanto, el área que ocupan los genitales en la corteza, corresponde a un 11% y 28% del área del tronco.

## XII. REFERENCIAS

- Agmo, A. (1999). Sexual Motivation: an inquiry into events determining the occurrence of sexual behaviour. *Behavioural Brain Research*, 105, 129 - 150.
- Borgdorff, A., Rössler, A., Clément, P., Bernabé, J., Alexandre, L. & Giuliano, F. (2009). Differences in the spinal command of ejaculation in rapid ejaculating rats. *Journal of Sexual Medicine*, 6, 2197 - 2205.
- Bravo, C., Carreño, J., Ramírez, S., Gómez, M. (2005). Disfunciones Sexuales masculinas y femeninas: comparación de género en una muestra de la Ciudad de México. *Salud Mental*, 28(1),74 - 80.
- Breuer, T., Robbins, A., Boesch, C. & Robbins, M. (2012). Phenotypic correlates of male reproductive success in western gorillas. *Journal of Human Evolution*, 62, 466 - 472.
- Danese, A., Moffitt, T., Harrington, H., Milne B., Polanczyk, G., Pariante, C., Poulton, R. & Caspi, A. (2009). Adverse Childhood Experiences and Adult Risk Factors for Age-Related Disease Depression, Inflammation, and Clustering of Metabolic Risk Markers. *Formerly Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine*, 163(12), 1135 - 1143.
- Di Noto, Paula M; Newman, Leorra; Wall, Shelley; Einstein, Gillian. (2012). The hermunculus: what is known about the representation of the female body in the brain? *Cerebral cortex*, 23(5), 1005 - 13.

- Filipkowski, R., Rydz, M., Berdel, B., Morys, J. & Kaczmarek, L. (2000). Tactile experience induces c-fos expression in rat barrel cortex. *Learning Memory*, 7, 116 - 122.
- Fujioka, T., Bernhard, R., Kakigi, R., Pantev, C. & Trainor, L. (2006). One year of musical training affects development of auditory cortical-evoked fields in young children. *Brain*, 129, 2593 - 2608.
- Georgiadis, J. (2012). Doing it... wild? On the role of the cerebral cortex in human sexual activity. *Sociaffective Neuroscience & Pshycology*, 2, 1 - 6.
- Hillegaart, V. & Ahlenius, S. (1998). Facilitation and inhibition of male rat ejaculatory behaviour by the respective 5-HT<sub>1a</sub> and 5-HT<sub>1b</sub> receptor agonists 8-OH-DPAT and arpipintoline, as evidenced by use of the corresponding new and selective receptor antagonists NAD-299 and NAS-181. *British Journal of Pharmacology*, 125, 1733 - 1743.
- Hull, E., Muschamp, J. & Sato, S. (2004). Dopamine and Serotonine: influences on male sexual behaviour. *Psysiology and Behaviour*, 83, 291 - 307.
- Hull, E. & Domínguez J. (2007). Sexual Behavior in male rodents. *Hormones and Behavior*, 52, 45-55.
- Iaria, G., Lanyon, L., Fox, C., Giaschi, D. & Barton, J. (2008). Navigational Skills Correlate With Hippocampal Fractional Anisotropy in Humans. *Hippocampus*, 18, 335 - 339.
- Killackey, H. (1983). The somatosensory cortex of the rodent. *Trends in Neuroscience*, 6, 425 - 429.



- Lajud, N., Roque, A., Cajero, M., Gutiérrez-Ospina, G. & Torner, L. (2012). Periodic maternal separation decreases hippocampal neurogenesis without affecting basal corticosterone during the stress hyporesponsive period, but alters HPA axis and coping behavior in adulthood. *Psychoneuroendocrinology*, 37, 410 - 420.
- Larsson, K. (1961). Duration of Facilitatory Effects of Ejaculation of Sexual Behaviour in The male Rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 54(1), 63 - 67.
- Lenz, K. & Senegelaub, D. (2006). Maternal licking influences dendritic development of motoneurons in a sexually dimorphic neuromuscular system. *Brain Research*, 1092, 87 - 99.
- Lenz, K. & Senegelaub, D. (2010). Maternal care effects on the development of a sexually dimorphic motor system: the role of spinal oxytocin. *Hormones and Behaviour*, 58, 575 - 581.
- Lucio, R. & Tlachi, J. (2008). *Análisis de la copula y el eyaculado en la rata albino. (Rattus norvegicus). Manual de Laboratorio*. Góngora Ediciones. Tláxcala, México.
- Lucio, R., Cruz, Y., Pichardo, M., Fuentes-Morales, M., Fuentes-Farías, L., Molína-Cerón, L. & Gutiérrez-Ospina, G. (2012). The physiology and ecology of ejaculation. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 15(1), 113 - 127.
- Kell, C., Kriegstein, K., Rosller, A., Kleinschmidt, A. & Lauf, H. (2005). The sensory cortical representation of the human penis: Revisating somatotopy in the male homunculus. *Journal of Neuroscience*, 25, 5984 - 5987.

- Komisaruk, B., Allen, K., Wise, N., Frangos, E. & Birbano, W. (2013, Noviembre) Men's genital structures mapped on the sensory cortex: fMRI evidence. Poster presentado al congreso Internacional de Neurociencias 2013, San Diego, Estado Unidos de Norte América.
- Moore, C. (1992). The role of maternal stimulation in the development of sexual behaviour and its neural basis. *Annals New York Academy of Science* , 662, 160-177.
- Morgan, J. & Curran, T. (1991). Stimulus-transcription coupling in the nervous system: involvement of the inducible proto-oncogenes fos and jun. *Annual Review of Neuroscience*, 14, 421 - 451.
- Oler, J., Fox, A., Shelton, S., Rogers, J., Dyer, T., Davidson, R., Shelledy, W., Oakes, T., Blangero, J., y Kalin, N. (2010). Amygdalar and hippocampal substrates of anxious temperament differ in their heritability. *Nature*, 466 (7308), 864 - 868.
- Olivier, B., Chan, J., Pattij, T., De Jong, T., Oosting, R., Veening, J. & Wandinger, W. (2006). Psychopharmacology of male rat sexual behavior: Modeling human sexual dysfunctions. *International Journal of Impotence Research*, 18, S14 - S23.
- Pantev, C., Oostenveld, R., Engelien, A., Ross, B., Roberts, L. & Manfred Hoke. (1998). Increased auditory cortical representation in musicians. *Nature*, 392, 811 - 814.
- Pattij, T., De Jong, T., Uitterdijk, A., Waldinger, M., Veening, J., Cools, A., Hein van der Graaf, P. & Olivier, B. (2005). Individual differences in male rat

ejaculatory behaviour: searching for models to study ejaculation disorders. *European Journal of Neuroscience*, 22, 724 - 734.

- Penfield, W. & Rasmussen, T. (1950). *The cerebral cortex of the man*. New York: Macmillan.
- Penfield, W. & Jasper, H. (1954). *Epilepsy and the functional anatomy of the human brain*. London: J & A Churchill.
- Pichardo, A., Tlachi-López, J., Jiménez-Trejo, F., Fuentes-Farías, A., Báez-Saldaña, A., Molina-Cerón, M., Manjarréz, G., Gutiérrez-Ospina, G. & Lucio R. (2011). Increased serotonin concentration and tryptophan hydroxylase activity in reproductive organs of copulator males: a case of adaptive plasticity. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 2, 75 - 84.
- Portillo, W., Díaz, N., Cabrera, E., Fernández-Guasti, A. & Paredes, R. (2006). Comparative Analysis of immunoreactive cells for androgen receptors and oestrogen receptor a in copulating and non copulating male rats. *Journal of Neuroendocrinology*, 18, 168 - 176.
- Portillo, W., Castillo, C., Retana-Márquez, S., Roselli, C. & Paredes, R. (2006). Neuronal Activity of aromatase enzyme in non-copulating male rats. *Journal of Neuroendocrinology*, 19, 139 - 141.
- Purves D. (1988). *Body and Brain: A Trophic Theory of neural connections*. 1<sup>st</sup> edition. Cambridge, Massachusetts and London, England: Harvard University Press.
- Riddle, D., Richards, A., Zsuppan, F. & Purves, D. (1992). Growth of the rat somatic sensory cortex and its constituent parts during postnatal development. *The Journal of Neuroscience*, 12(9), 3509 - 3524.

- Riddle, D., Gutiérrez, G., Zheng, D., White, L., Richards, A. & Purves, D. (1993). Differential metabolic and electrical activity in the somatic sensory cortex of juvenile and adult rats. *The Journal of Neuroscience*, 13(10), 4193 - 4213.
- Rodríguez-Manzo, G., Asai, M. & Fernández Guasti, A. (2002). Evidence for changes in brain enkephalin contents associated to male rat sexual activity. *Behavioural Brain Research*, 131, 47 - 55.
- Roselli, C., Horton, L. & Resko, J. (1985). Distribution and regulation of aromatase activity in the rat hypothalamus and limbic system. *Endocrinology*, 117(6), 2471 - 2477.
- Roselli, C., Cross, E., Poonyagariyagorn, H., & Stadelman, H. (2003). Role of aromatization in anticipatory and consummatory aspects of sexual behavior in male rats. *Hormones and Behavior*, 44, 146 –151.
- Rothmund, Y., Qi, H., Collins, C. & Kaas, J. (2002). The genitals and gluteal skin are represented lateral to the foot in anterior parietal somatosensory cortex of macaques. *Somatosens Mot Res*, 19, 302 -315.
- Sachs, B.D. & Meisel, R.L. (1988). The physiology of male sexual behavior. In: Knobil E. and Neill, J.D. (eds.). *The Physiology of Reproduction*. Raven Press, New York. 1393-1485.
- Safarinejad, M. (2008). Evaluation of endocrine profile and hypothalamic-pituitary-testis axis in selective serotonin reuptake inhibitor-induced male

sexual dysfunction. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 28(4), 418 - 423.

- Sarko, D., Leitch, D., Girard, I., Sikes, R. & Kenneth, C. (2011). Organization of somatosensory cortex in the northern grasshopper mouse (*Onychomys leucogaster*), a predatory rodent. *The Journal of Comparative Neurology*, 519(1), 69 – 74.
- Schneider, P., Scherg, M., Günter, H., Specht, H., Gutschalk, A. & Rupp, A. (2002). Morphology of Heschl's gyrus reflects enhanced activation in the auditory cortex of musicians. *Nature Neuroscience*, 5(7), 688 - 694.
- Schrey, A., Richards, C., Meller, V., Sollars, V. & Ruden, D. (2012). The role of epigenetics in evolution: The extended Synthesis. *Genetics International Research*, 2012, 1 - 3.
- Selmanoff, M., Brodtkin, L., Weiner, R. & Siiteri, P. (1977). Aromatization and 5 $\alpha$ -Reduction of Androgens in Discrete Hypothalamic and Limbic Regions of the Male and Female Rat. *Endocrinology*, 101(3), 841 - 848.
- Strassberg, D. S., Perelman, M. A. (2009). Sexual dysfunctions. In P. H. Blaney & T. Millon (Eds.), *Oxford textbook of psychopathology* (2nd ed.), (pp. 399–430). NY: Oxford University Press
- Van der Bergh, B., Mulder, E., Mennes, M. y Glover, V. (2005). Antenatal maternal anxiety and stress and the neurobehavioural development of the fetus and child: links and possible mechanisms. A review. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 29, 237 - 258.
- Waldinger, M. (2002). The neurobiological approach to premature ejaculation. *The Journal of Urology*, 168, 2359 - 2367.

- Welker, C. & Sinha, M. (1972). Somatotopic Organization of Smll cerebral neocortex in albino rat. *Brain Research*, 37, 132 - 136.
- Welker, C. (1976). Receptive fields of Barrels in the somatosensory neocortex of the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 166(2), 173 - 190.
- Woosley, C. (1964). Cortical localization as defined by evoked potential and electrical stimulation studies. En: Schaltenbrand, G. y Woosley, C. (Eds.), *Cerebral localization and organization*, (pp. 17 -26). Madison, WI: University of Wisconsin.

## **ANEXO 1**

### **MATERIAL**

#### **ALMACENAMIENTO DE ANIMALES**

Cajas de acrílico para rata (46cm x 32cm x 20cm)  
Rejilla para cajas para rata  
Bebederos  
Alimento para rata  
Aserrín

#### **PRUEBAS CONDUCTUALES**

Jeringas de 5ml  
Agujas para jeringa (21G y 27G)  
Jeringas de 1ml  
Tina de perfusión  
Rejilla para perfusión  
Bomba de perfusión  
Sanitas  
Balanza

#### **PROCESAMIENTO DE MUESTRAS Y TÉCNICAS INMUNOHISTOLÓGICAS**

Clips  
Portaobjetos  
Separadores de vidrio de 2 mm  
Cinta teflón  
Vibratomo  
Base para cortar en vibratomo  
Tubos Corning para centrifuga de 15 y 50 ml  
Tubos Ependorf de 2, 1 y 0.5 ml  
Vasos de precipitados Pyrex de 1000, 500, 200 y 80 ml.  
Agitadores Magnéticos  
Pipetas Gilson (200-1000 $\mu$ l, 50-200 $\mu$ l y 2-20 $\mu$ l)  
Puntas Axygen (1000 $\mu$ l, 200 $\mu$ l y 10 $\mu$ l)  
Cajas para puntas Axygen  
Agitadores  
Cajas para cultivo Corning de 24 pozos  
Portaobjetos KnittelGlass  
Cubreobjetos (22x50mm, 22x40mm, 22x30mm, 22x22mm)  
Parafilm  
Pinceles  
Sanitas  
Navajas de costilla

Navajas Gillette de doble filo  
Pegamento Cola-Loca  
Charolas para pesar  
Espátulas  
Pinzas de disección  
Costotomo

### **SUSTANCIAS**

Pentobarbital sódico  
Cloruro de Sodio 0.15M (NaCl)  
Paraformadehído al 4% (PFA)  
Buffer fosfatos 0.1M (PB)  
Buffer fosfatos tritón al 0.3% (PBT)  
Diaminobencidina (DAB)  
Anticuerpo primario para cFOS Santa Cruz (sc-52L)  
Anticuerpo biotinilado Donkey vs Rabbit  
Citocromo C (Cyt C)  
Catalasa  
Sacarosa