



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**Conducta paterna y expresión de receptores α -estrogénicos en el
área preóptica media en el gerbo de Mongolia (*Meriones
unguiculatus*)**

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

B I Ó L O G A

P R E S E N T A:

BRENDA MAGALY GARCÍA SAUCEDO

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. JUANA ALBA LUIS DÍAZ

LOS REYES IZTACALA, TLANEPANTLA, EDO. DE MÉXICO

-2015-





Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

Resumen

En el gerbo de Mongolia (*Meriones unguiculatus*) la testosterona (T) y sus metabolitos estradiol (E_2) y dihidrotestosterona (DHT) están involucrados en la regulación de la conducta paterna; en este roedor la castración seguida de reemplazamiento con T, E_2 y DHT inducen la exhibición de cuidados paternos, en esos machos que en la primera exposición a las crías mostraron infanticidio. Estos resultados sugieren que en este roedor, la T puede regular la conducta paterna, a través de su conversión DHT y E_2 , lo cual podría indicar que tanto los receptores estrogénicos, como los androgénicos están involucrados en la regulación de la conducta paterna. Aunque existen dos subtipos de receptores a estrógenos, los β y los α , únicamente el receptor de estrógenos α ($ER\alpha$) ha sido asociado con la regulación de la conducta materna. Con la finalidad de establecer si, en la regulación de la conducta paterna también participan los $ER\alpha$, el presente estudio tuvo como objetivo investigar si la conducta paterna inducida con T, en el gerbo de Mongolia, está asociada a la presencia de $ER\alpha$ en el área preóptica media (MPOA), una región neural crítica en la regulación de la conducta paterna en los roedores. Se utilizaron 22 machos vírgenes, agresivos o indiferentes hacia las crías que recibieron los siguientes tratamientos: 5, castración + T; 5, se les simuló el tratamiento; 5, sólo fueron castrados. Después del tratamiento los gerbos fueron sometidos a pruebas de conducta paterna y se les extrajeron muestras sanguíneas para la cuantificación de T por RIA. Para la inmunohistoquímica (IH) de $ER\alpha$, 2 machos de cada tratamiento fueron perfundidos, para la obtención de los cerebros. También se analizó la presencia de $ER\alpha$ en el MPOA en 2 machos con conducta paterna espontánea y en 2 machos indiferentes hacia las crías. Estos individuos no recibieron ningún tratamiento. Los gerbos con conducta paterna inducida con T, tuvieron el mismo nivel de inmunoreactividad a $ER\alpha$ en el MPOA, que los gerbos con conducta paterna espontánea ($P > 0.05$), pero significativamente mayor que los machos castrados y los indiferentes hacia las crías, sin tratamiento ($P < 0.05$). Inesperadamente, el nivel de inmunoreactividad a $ER\alpha$ de los machos con conducta paterna inducida con T y espontánea no fue significativamente diferente a la observada en los machos con procedimiento simulado, que mostraron agresión hacia las crías ($P > 0.05$). Estos resultados mostraron que hay una asociación entre la presencia de $ER\alpha$ en el MPOA y la exhibición de cuidados paternos, aunque también se encontró una asociación entre la presencia de estos receptores y la conducta infanticida. Estos hallazgos muestran que tanto en los gerbos paternos, como en los infanticidas, estos receptores están presentes, pero la diferencia en función, posiblemente se deba al estado de activación. La técnica de IH no permite diferenciar entre receptores activados y no activados, por lo cual es necesario realizar más investigaciones, en las que se utilicen técnicas que permitan conocer el estado de activación de estos receptores, en el momento preciso de observación de una conducta.

Índice

| | |
|--|--------|
| Introducción..... | - 1 - |
| Factores que favorecen la presencia de los cuidados paternos | - 2 - |
| Hormonas relacionadas con la conducta paterna | - 7 - |
| Oxitocina | - 7 - |
| Vasopresina | - 9 - |
| Prolactina..... | - 9 - |
| Testosterona | - 11 - |
| Estradiol | - 11 - |
| Progesterona | - 13 - |
| Cortisol | - 13 - |
| Áreas neurales que regulan la conducta paterna | - 14 - |
| Los receptores de estrógenos | - 18 - |
| Los receptores de estrógenos y la conducta paterna | - 25 - |
| Antecedentes | - 30 - |
| El gerbo de Mongolia (<i>Meriones unguiculatus</i>)..... | - 32 - |
| Hipótesis | - 33 - |
| Objetivo general | - 33 - |
| Material y Método | - 33 - |
| Animales | - 33 - |
| Orquidectomías | - 35 - |
| Implantes de T | - 36 - |
| Pruebas de conducta paterna..... | - 36 - |
| Resultados..... | - 39 - |
| Receptores ER α | - 39 - |
| Conducta paterna | - 48 - |
| Concentraciones de testosterona..... | - 48 - |
| Discusión | - 49 - |
| Conclusiones..... | - 50 - |
| Referencias | - 52 - |

| | |
|-------------------|--------|
| Apéndice..... | - 67 - |
| Abreviaturas..... | - 69 - |

*Amo el canto de zenzontle,
pájaro de cuatrocientas voces,
amo el color del jade y el enervante perfume de las flores,
pero más amo a mi hermano: el hombre.
Nezahualcóyotl.*

“La ciencia, muchacho, está hecha de errores, pero es bueno cometer esos errores, ya que ellos llevan poco a poco a la verdad”. Otto Lindendrock, Julio Verne, Viaje al centro de la tierra.

“La ciencia no sólo es compatible con la espiritualidad, es una profunda fuente de espiritualidad.” Carl Sagan.

“El amor por todas las criaturas vivientes es el más noble atributo del hombre”. Charles Darwin.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi padre, el Uno, el Campo de Energía Único, la Conciencia Única, la Fuente Creativa, en la que todos somos Uno, a mi Dios, por la existencia de Él, del todo, de mí y del amor.

Agradezco a mi papá Miguel Guillermo García y a mi mamá Susana Saucedo Romero por la vida, el amor, la educación, los momentos alegres, el apoyo, la comprensión y por crecer juntos.

Agradezco a mi hermana Tania Marisol y a mi hermano Gael Ariel por el amor, los momentos compartidos, la comprensión, los juegos, las risas, las travesuras, las pláticas y por crecer juntos.

Agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México y a la F.E.S Iztacala, por permitirme realizar el sueño de llegar a ser bióloga.

Agradezco a mi asesora, la Dra. Juana Alba Luis Díaz, por el apoyo, la paciencia, la guía, la compañía, la comprensión y compartir el pan de cada día durante la realización de este trabajo.

Agradezco a mis amigos Daniela, Eréndira, Adriana, Johana, Mary Carmen, Rebeca, Gabby, Marysol, Mayan, Javier, Ernesto, Tomas, Juan, Ángel P., Erick A., J. Luis, Miguel y Alberto por su alegría, compañía, pláticas, paciencia y alentarme en los momentos de duda.

Agradezco a mis compañeros de laboratorio Ana, Elva, Berenice, Max, Armando, Adrián, Eduardo, Ariel, Martín y Alejandro por todos los momentos agradable que compartimos en el laboratorio, agradezco a Luis

por su apoyo en la realización de este trabajo e impulsar mi vida personal.

Agradezco a mis revisores el Dr. Jorge Ricardo Gersenowies Rodríguez, el Dr. Rodolfo Cárdenas Reygadas, la Dra. Martha Ofelia Salcedo Álvarez y la M. en C. Carmen Álvarez Rodríguez por sus sugerencias y observaciones.

Agradezco al M. en C. Mario Cárdenas León del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán por apoyarme con la realización de la técnica de RIA.

Agradezco a mis gerbos por ser unas magníficas criaturas y que sin ellos no existiría esta tesis.

ESTE PROYECTO FUE FINANCIADO POR EL PROGRAMA PAPIIT:
IN212113, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUÓNOMA DE MÉXICO:

Dedicatoria

A mi papá por enseñarme el amor a la familia, al trabajo y a seguir adelante a pesar de las dificultades.

A mi mamá por enseñarme a amar, a ser generosa y a seguir mis sueños.

A mi hermana por el amor, el enseñarme a comprender, a escuchar y por compartir conmigo sus ideas.

A mi hermano por el amor, el recordarme los jugos, las travessuras, compartir conmigo sus ilusiones y por mostrarme lo que significa el cuidar y el educar a alguien.

A Eros por acompañarme en todos estos años, a pesar de que lo hago enojar.

A Pituca y Petaca, por su breve y genial compañía.

A todos mis gerbos, por toda su ayuda y por su energía.

A Lucero Fernández por su ayuda en esta parte de mi vida.

Introducción

En la mayoría de los mamíferos las hembras cuidan solas a sus hijos. En estos vertebrados las hembras están adaptadas para dar a su descendencia extensivos cuidados maternos, por lo que la presencia del padre puede ser necesaria para la supervivencia de los hijos. Sin embargo, en aproximadamente el 5% de las especies de mamíferos, el macho permanece con la hembra después del apareamiento y proporciona cuidados paternos (Kleiman y Malcolm, 1981). En varias especies de roedores, cánidos y primates está presente la conducta paterna (Woodroffe y Vicent, 1994). Los machos de estas especies muestran cuidados paternos desde el nacimiento (Gubernick y Albert, 1989) y continúa hasta el desarrollo de sus crías (Bester-Meredith *et al.*, 1999).

La conducta paterna se define como cualquier actividad que realiza el macho en beneficio directo o indirecto de las crías (Clutton-Brock y Harvey, 1991). En los roedores los cuidados paternos se clasifican en directos o indirectos; entre los primeros se incluyen las actividades que tienen un efecto directo sobre las crías, como el abrigo, el olfateo, la recuperación de la cría y el mantenimiento del nido. Los cuidados paternos indirectos no tienen un efecto inmediato en las crías, pero son determinantes en su supervivencia, entre éstos se incluyen la construcción de madriguera, la provisión de alimento y defensa del nido, la descripción de estos cuidados se incluyen en el Cuadro 1 (Elwood, 1983).

Cuadro 1. Cuidados paternos directos en roedores.

| Actividad | Descripción |
|---------------------------|--|
| Abrigo | El macho apoyado en sus cuatro patas, curva la región dorsal para mantener a las crías bajo su cuerpo. |
| Acicalamiento | El macho lame a las crías, principalmente en la región perianal y la cabeza. |
| Olfateo | El macho acerca la nariz lentamente a la cría hasta hacer contacto con ella, mientras mueve rítmicamente las vibrisas. |
| Mantenimiento del nido | El macho mueve con las patas traseras el material de nidación para cubrir a las crías. |
| Recuperación de las crías | El macho toma a las crías por la región dorsal para regresarlas al nido. |

Factores que favorecen la presencia de los cuidados paternos

El despliegue de la conducta paterna depende de diferentes factores y estímulos que afectan a un macho (Brown, 1993).

El sistema de apareamiento, es uno de los factores que influye en la presencia de cuidados paternos; en las especies con sistema de apareamiento monogámico la conducta paterna es más común que en las polígamas (Dewsbury, 1981). En los roedores la monogamia puede ser obligada o facultativa, en el primer caso los cuidados del padre son necesarios para el desarrollo de las crías, mientras que en la monogamia facultativa, la hembra es capaz de cuidar con éxito a sus hijos, sin la participación del macho (Kleiman y Malcolm, 1981). En el hámster enano (*Phodopus campbelli*), especie monógama, se observó que la presencia del macho incrementa la supervivencia de su descendencia, a diferencia del hámster siberiano (*Phodopus sungorus*), especie polígama, en la cual la presencia del macho no es necesaria para el desarrollo de las crías (Wynne-Edwards y Lisk,

1989). El gerbo de Mongolia (*Meriones unguiculatus*) es otro roedor que forma relaciones monógamas, en las que los machos permanecen con las hembras y proporcionan cuidados a las crías (Oliveras y Novak, 1986).

Las condiciones ecológicas adversas pueden incrementar las posibilidades de que los machos proporcionen cuidados paternos a sus crías para aumentar su sobrevivencia; en el ratón de California (*Peromyscus californicus*), las crías de 22 días de edad, que estuvieron con ambos padres en una jaula, tuvieron mejores pesos corporales, en comparación con las crías que se mantuvieron sólo con su madre. Cuando la madre era retirada por 12 h diarias, las crías se desarrollaban mejor, si el padre estaba presente, a diferencia de las crías que permanecieron sin el padre. En este experimento también se observó que las crías que estuvieron con su padre tuvieron temperaturas corporales más altas, que las crías que estuvieron solas. Estos experimentos indican que la presencia del padre mejora el crecimiento y desarrollo de las crías al proporcionarles calor, lo cual es de gran importancia debido a que las crías en las primeras etapas de su desarrollo presentan problemas en la capacidad de mantener su temperatura (Dudley, 1974). Cuando en el ratón de California, la sobrevivencia de las crías es medida en presencia y ausencia del padre, bajo las siguientes condiciones: temperatura cálida, con agua y comida disponibles; temperatura cálida, pero el alimento se consigue girando una rueda y temperatura fría, con comida y agua disponibles. Los resultados mostraron que la presencia del padre mejoró la sobrevivencia de las crías, cuando se mantuvieron bajo temperatura fría y cuando tenían que conseguir el alimento girando la rueda, este efecto no fue observado cuando la temperatura del ambiente fue cálida, con agua y alimento disponibles, lo cual sugiere que la

presencia del padre es un factor determinante en la sobrevivencia de las crías en condiciones naturales (Wright y Brown, 1992).

Cuando los machos de la rata de laboratorio (*Rattus norvegicus*) son expuestos por primera vez a sus crías, pueden mostrar agresión, indiferencia o ser paternas. La manera en que los machos responden ante la presencia de las crías, depende de diferentes factores, como son la exposición previa a éstas y el estatus jerárquico (Soroker y Terkel, 1988). Los machos de las ratas de laboratorio (Sprague-Dawley) que agreden a las crías, cuando son expuestos a éstas, durante un periodo de 5 a 10 días, inhiben su conducta agresiva y despliegan cuidados paternos, a diferencia de los machos que no son sometidos a este tratamiento llamado, sensibilización (Jakubowski y Terkel, 1985).

En el ratón de laboratorio (*Mus musculus*), los machos dominantes, que resultan después de un encuentro agresivo con otro macho, cuando se ponen en contacto con crías ajenas de la especie, son más infanticidas que los machos subordinados (Huck *et al.*, 1982). Los machos del ratón de la cepa CF-I, que durante la primera prueba de conducta paterna fueron agresivos hacia las crías, y cuando posteriormente, en un encuentro con otro macho se define su jerarquía como machos subordinados, en una segunda prueba de conducta paterna, son menos infanticidas que los dominantes. En este experimento también se observó que los machos que copularon con hembras de mayor tamaño y más agresivas que ellos, atacaron menos a las crías, que aquellos que estuvieron con una compañera de menor talla; lo que sugiere que los machos subordinados tienen menor posibilidad de matar a las crías y una mayor facilidad de presentar conducta paterna, y que las hembras que se muestran más agresivas hacia los machos podrían suprimir el infanticidio en éstos (Elwood, 1986).

El olor emitido por las hembras podría influir en la conducta paterna de los machos, debido a que cuando entran en contacto directo con la orina de las hembras, con el olor de su cama de aserrín o sus heces, tienden a ser más paternales; en el ratón de California, los machos que se mantuvieron después del parto con las hembras y sus excrementos, tuvieron mayor facilidad en el despliegue y permanencia de la conducta paterna, a diferencia de los machos expuestos a excretas de hembras vírgenes, en lactancia o a ninguna excreta. Así mismo, el olor de la orina también facilitó esta conducta; cuando a machos que son padres, se les aplican 100 μ l de orina materna en las fosas nasales, dos veces al día, son más paternales que los machos a los que se les aplicó de manera similar agua destilada (Gubernick, 1990).

Los estímulos de las hembras y de las crías podrían facilitar la conducta paterna de los machos, los cuales pueden tener una memoria olfativa del olor de su pareja, y a través de esta memoria reconocer a sus hijos. También podría ser, que las feromonas que emiten las hembras alteren el sistema neuroendocrino del macho, ocasionando el despliegue cuidados paternos (Brown, 1992). Machos vírgenes del ratón de la pradera (*Microtus ochrogaster*), fueron sometidos a diferentes condiciones; cohabitación con una hembra durante 74 horas, expuestos al olor de la orina y excretas de una hembra, mantenidos en aislamiento. Los machos que estuvieron en contacto con la hembra, estos ratones presentaron conducta paterna, mientras que los expuestos a los olores y los aislados, no presentaron cuidados paternos, lo que sugiere que es el contacto y no el olor de las hembras lo que estimula el inicio de la conducta paterna en esta especie (Jean-Baptiste *et al.*, 2008).

La experiencia sexual parece estar relacionada con el inicio de los cuidados paternos (Gubernick y Alberts, 1989). En el gerbo de Mongolia (Elwood, 1980), las ratas Long-

Evans (*Rattus norvegicus*) (Brown, 1986) y los ratones de laboratorio de la cepa CF-1 (Elwood y Ostermeyer, 1984) se observó, que cuando los machos copulan con una hembra y/o cohabitan con ella, muestran más rápidamente conducta paterna, después del nacimiento de sus crías. En contraste con los machos vírgenes que no tuvieron contacto con las hembras. Por tanto, las señales sensoriales emitidas por las hembras podrían ser necesarias para el inicio de esta conducta.

Los cuidados paternos y el infanticidio también se han relacionado con la posición intrauterina de los machos y con los efectos del estrés prenatal; cuando los machos del ratón de laboratorio, se desarrollan entre dos fetos femeninos, están expuestos a altos niveles de estradiol (E_2), lo cual ocasiona que en la etapa adulta, agredan más fácilmente a crías de su especie, a diferencia de los machos que se desarrollan entre otros dos fetos masculinos (vom Saal, 1983). Este mismo fenómeno ha sido observado en los machos de los ratones CF-1 (Perrigo *et al.*, 1989), de ratas (Clemens *et al.*, 1978) y de gerbos (Clark *et al.*, 1992).

En ratas de laboratorio preñadas, que fueron sometidas diariamente a estrés (iluminación intensa por 45 min, tres veces al día), del día 14 al 21 de la gestación, se observó que los fetos masculinos presentaron alteraciones en los niveles de testosterona (T). Esto se atribuyó a que los fetos machos de las hembras control, que no recibieron estrés, tuvieron un aumento de esta hormona en los días 18 y 19, lo cual afectó su conducta paterna en la etapa adulta (Ward y Weisz, 1984). Sin embargo, en otro estudio se observó que los machos de las ratas Long-Evans, que fueron estresados de la misma manera, durante su periodo prenatal, proporcionaron cuidados paternos a sus crías, sin presentar diferencias con los machos hijos de las hembras control (McLeod y Brown, 1988).

Hormonas relacionadas con la conducta paterna

Los machos que presentan cuidados paternos muestran cambios hormonales, que no se observan en machos con cuidados uniparentales (Brown, 1993). Entre las hormonas que han sido asociadas a estos cambios, se encuentran la oxitocina (OT), la vasopresina (VP), la prolactina (PRL), el cortisol (CRT), la progesterona (P₄) y la testosterona (T) (Wynne-Edwards, 2010).

Oxitocina

La OT es una hormona que ha sido relacionada con la creación de vínculos e interacciones sociales; en las hembras vírgenes del ratón de la pradera, se observó que durante su primer contacto con las crías, así como cuando despliegan conducta materna, tienen un aumento en el número de receptores de OT en el núcleo acumbens, a diferencia de las hembras que presentaron infanticidio o ignoraron a las crías. Esto podría indicar que la presencia de los receptores de OT podría facilitar el inicio de la conducta materna en esta especie (Olazábal y Young, 2006). La conducta paterna ha sido también relacionada con los niveles de OT; en el ratón de California, los machos que desplegaron conducta paterna y que permanecieron con sus parejas, durante la preñez, tuvieron niveles de OT significativamente mayores que los machos que no cohabitaron con la hembra y las crías (Gubernick *et al.*, 1995). En el ratón de laboratorio, los machos que tienen niveles elevados de esta hormona no son infanticidas, a diferencia de los machos que proporcionan cuidados a sus crías (McCarthy *et al.*, 1992).

Algunos machos de laboratorio sin experiencia sexual, fueron castrados y divididos en cuatro grupos: en el primero los machos no recibieron ningún tratamiento, en el segundo fueron tratados con T, el tercero con estradiol (E_2) y el cuarto los machos no recibieron ningún tratamiento (grupo control). Después de los tratamientos fueron sometidos a un periodo de sensibilización, en el cual, se expusieron a crías ajenas de la especie, durante 20 minutos, cuatro días consecutivos. Posteriormente, se cuantificó la inmunoreactividad a OT (OT-ir) en las neuronas del núcleo paraventricular del hipotálamo (PVN), observándose que el grupo de machos castrados, que no recibieron ningún tratamiento tuvieron una menor latencia de recuperación y mostraron más conducta paterna que los otros grupos, así como un mayor número de neuronas OT-ir que los grupos tratados con E o T. Los machos tratados con E presentaron una latencia de inicio de conducta paterna menor que los otros grupos, estos machos recuperaron a las crías en un menor tiempo que los machos de los demás grupos, pero con este tratamiento, no se observó OT-ir en la región neural analizada. Los machos tratados con T no exhibieron conducta paterna y tuvieron una disminución en el número de neuronas OT-ir a diferencia de los machos castrados sin tratamiento. Los animales que exhibieron conducta paterna por sensibilización mostraron una marcada recuperación de las crías, estos eventos se correlacionaron con el número de neuronas OT-ir, lo cual sugiere que la OT podría mediar la conducta paterna a través de la acción de las hormonas gonadales (Okabe *et al.*, 2013).

Vasopresina

Otra hormona relacionada con los cuidados paternos es la VP; en el ratón de la pradera (*Microtus ochrogaster*), una especie biparental, los machos a quienes se les colocaron implantes de argenina- VP en el septo lateral, mostraron un aumento en las actividades del cuidado de las crías a diferencia de los machos sin implantes (De Vries *et al.*, 1994). Los machos del ratón de la montaña (*Microtus montanus*), roedores con cuidados unipaternos, no presentaron incrementos en la expresión de los receptores a VP, después del nacimiento de las crías, a diferencia de los machos y hembras del ratón de la pradera, en los cuales ambos sexos tuvieron un aumento en la expresión del receptor de VP, después del nacimiento de sus crías (Liu *et al.*, 2001).

Prolactina

La PRL tiene cerca de 300 actividades biológicas distintas, muchas de ellas están relacionadas con la homeostasis (Bole-Feysot *et al.*, 1998). Entre las múltiples funciones de esta hormona, están por ejemplo, la regulación de la conducta materna y la regulación de la producción de leche (Bridges *et al.*, 1997). Esta hormona también ha sido relacionada con la regulación de la conducta paterna en los mamíferos; los machos del ratón de California, que cohabitaron con su pareja y proporcionaron cuidados a sus crías, tuvieron niveles más altos de esta hormona, que los machos que se mantuvieron aislados (Gubernick y Nelson, 1989). En esta misma especie, se observó que padres prospectivos por primera vez, tienen niveles de PRL significativamente menores que los machos con experiencia paternal (Gubernick, 1990). En el tití cabeza de algodón (*Saguinus oedipus*), los niveles de PRL

fueron significativamente mayores en los machos que desplegaron cuidados paternos, en comparación con los machos sin experiencia paterna (Ziegler y Snowdon, 2001). En los machos del hámster enano, especie biparental, los niveles de PRL aumentaron significativamente en el periodo de lactancia, en comparación con los machos del hámster siberiano, que es una especie unipaternal (Reburn y Wynne-Edwards, 1999). Los machos del tití común (*Callithrix jacchus*), cuando participan en el cuidado de sus crías presentan niveles elevados de PRL, a diferencia de los machos no paternos (Dixson y George, 1982). En el gerbo de Mongolia, los machos que cohabitan con su pareja, durante el parto y después del nacimiento de sus hijos, proporcionándoles cuidados paternos, presentaron un incremento en los niveles de PRL a los 20 días después del nacimiento de sus crías. Esto no se observó en los machos sin pareja, o que solamente se aparearon (Brown *et al.*, 1992). Sin embargo, cuando los machos vírgenes de la rata de laboratorio fueron expuestos a crías de su especie durante 21 días, induciéndoles cuidados paternos por sensibilización, no presentan ningún cambio en los niveles de esta hormona (Soderston y Eneroth, 1984). Por lo que la función de la PRL en la conducta paterna, aún no está determinada (Ziegler *et al.*, 1996).

Entre las hormonas esteroides relacionadas con la conducta paterna se mencionan la T, el E₂ (Trainor y Marler, 2002), la P₄ (Trainor y Marler, 2001) y el CRT (De Vries *et al.*, 1994).

Testosterona

Uno de primeros estudios que reportaron una correlación entre la presencia de cuidados paternos y los niveles periféricos de T fue el realizado en el hámster enano. En este estudio se observó que los niveles de T disminuyen después del nacimiento de las crías (Reburn y Wynne-Edwards, 1999). Una disminución en los niveles de esta hormona también es observada en los hombres cuando se convirtieron en padres (Berg y Wynne-Edwards, 2001). Sin embargo, estudios subsecuentes en el hámster enano, señalaron que los niveles de T no disminuyeron cuando los machos de este roedor participaron en el cuidado de sus crías (Schum y Wynne-Edwards, 2005). En otros mamíferos, como el primate tití cabeza de algodón, los niveles urinarios de T permanecieron elevados, cuando los machos desplegaron conducta paterna (Ziegler y Snowdon, 2001). En el ratón de California, la castración redujo los cuidados paternos, mientras que la administración de T indujo la exhibición y el incremento de esta conducta (Trainor y Marler, 2001). En este roedor, se demostró que la testosterona regula la conducta paterna a través de su conversión a estrógenos (Trainor y Marler, 2002).

Estradiol

La T es convertida a E₂ en sus tejidos blancos, como en el cerebro, por medio de la enzima aromatasa (Figura 1). En machos del ratón de California, en un primer experimento, los machos fueron castrados y divididos en grupos, a cada grupo se le trató con un tipo de implante diferente: T, dihidrotestosterona (DHT), E₂ e implante vacío. Los grupos tratados con T o E₂ estuvieron más tiempo abrigando y acicalando a sus crías que los tratados con

DHT, o los que tuvieron implantes vacíos. En un segundo experimento, a un primer grupo de machos castrados se les colocaron implantes de T, y un segundo grupo de machos castrados recibieron implantes de E₂ más fadrozole (FAD), éste es un inhibidor de la enzima aromatasa, mientras que el tercer grupo de machos castrados fueron implantados con T más FAD. Se encontró que los machos tratados con T y los de E₂ más FAD, estuvieron más tiempo abrigando y acicalando a sus crías. Por lo que se concluye que el E₂ promueve el inicio de la conducta paterna en este roedor (Trainor y Marler, 2002). Cuando los machos de las ratas de laboratorio, son castrados y se les colocan implantes de E₂ y P₄, tienen una menor latencia en la exhibición de cuidados paternos que los machos del grupo control. En otro experimento, en el cual a un grupo de machos castrados de la rata de laboratorio, se les colocaron por estereotaxia implantes de E₂, en el área preóptica media (MPOA) (figura 2); otro grupo de machos castrados recibieron implantes de colesterol en el MPOA y a un tercer grupo de machos, se les inyectó por vía subcutánea benzoato de E₂. Al realizar las pruebas de conducta paterna, los machos con implantes de E₂ tuvieron una menor latencia en la exhibición de conducta paterna en relación con los machos tratados con colesterol, pero sus latencias fueron más largas que los machos inyectados con benzoato de E₂. Los resultados de estos experimentos indican que el MPOA es sensible a la estimulación de los estrógenos, y que está implicada en los mecanismos neuroendocrinos que inician la conducta paterna. Los implantes de E₂ en el MPOA no fueron tan eficientes en la inducción de la conducta paterna como la administración periférica de benzoato de E₂, esto podría sugerir que aunque el MPOA, es una de las principales regiones implicadas en la regulación de la conducta paterna, existen otras áreas cerebrales que participan en la regulación de la misma (Rosenblatt y Ceus, 1998).

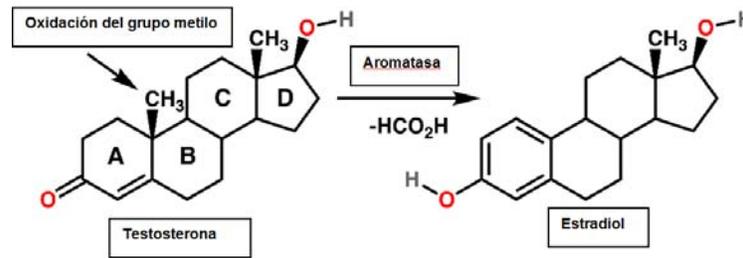


Figura 1. La T es convertida a E₂ por medio de la enzima aromatasa (Tomado de Ghosh *et al.*, 2009).

Progesterona

La conducta paterna se ha relacionado con la P₄; en los machos del ratón de California, los niveles de P₄ disminuyen significativamente cuando estos roedores despliegan conducta paterna, a diferencia de los machos que sólo se encuentran apareados (Trainor y Marler, 2001). En el ratón de laboratorio, los machos “knockout” del receptor de P₄, tienen mayor facilidad para exhibir conducta paterna, que los ratones sin esta condición (Schneider *et al.*, 2003). Por lo que, la disminución de los niveles de P₄ pueden estar involucrados con el inicio o mantenimiento de la conducta paterna (Trainor *et al.*, 2003).

Cortisol

El CRT ha sido relacionado con el estrés y la conducta paterna; los machos del tití cabeza del algodón, que fueron padres por primera vez y presentaron cuidados paternos, tuvieron niveles de CRT significativamente más altos, que los machos con experiencia paterna (Zingler *et al.*, 1996). En el hámster enano y el hámster siberiano, los machos que permanecen con su pareja tienen niveles de CRT bajos, no obstante cuando son separados

de la hembra el nivel de esta hormona puede incrementarse hasta un 50%. En los machos de esta especie los niveles de CRT también se incrementan cuando son expuestos a las crías de su especie (Reburn y Wynne-Edwards, 1999).

Áreas neurales que regulan la conducta paterna

Las bases hormonales de la conducta materna han sido ampliamente estudiadas, así como las regiones neurales, en las cuales actúan estas hormonas (Kirkpatrick *et al.*, 1994). Una de las áreas neurales centrales en la regulación de la conducta materna es el MPOA (Fleming *et al.*, 1983; Numan *et al.*, 1988; Figura 2), tiene extensas conexiones anatómicas, con la región preóptica lateral (Numan *et al.*, 1988), el septum (Fleischer y Slotnick, 1987; Slotnick y Nigrosh, 1975), la habénula (Corodimas *et al.*, 1993) y el núcleo paraventricular del hipotálamo y la amígdala (Numan y Corodimas, 1985).

En la rata de laboratorio, las hembras vírgenes fueron ovariectomizadas y posteriormente tratadas con implantes bilaterales de hormonas, tales como la PRL, lactógeno placentario, P₄ o E₂ en el MPOA, se observó que exhibieron con mayor facilidad conducta materna que las ratas sin ningún tratamiento. Las hembras que fueron tratadas con P₄ y E₂, presentaron una menor latencia en el inicio de la conducta materna, que aquellas que recibieron PRL o lactógeno placentario. Otros sitios del cerebro, como el hipotálamo ventromedial (VMH) y la amígdala fueron sensibles a estos tratamientos; las ratas con cánulas bilaterales de infusiones de PRL en el VMH, tuvieron un retraso en la exhibición de su conducta materna (Bridges y Mann, 2001).

Cuando a ratas lactantes se les lesiona el MPOA con radiofrecuencia o con un tratamiento citotóxico, se observa que la conducta materna disminuye, con respecto a las

controles, en las que se simula la lesión (Numan, 1990). Las hembras de la rata de laboratorio, después del parto de su primera camada, se les lesiona el MPOA con radiofrecuencias, se observa que estas hembras tienen un retraso en el inicio de la conducta materna, este retraso es de cinco a quince días, y la conducta materna se inhibe totalmente (Numan, 1988).

El inicio de la conducta materna requiere que el MPOA sea estimulada por estrógenos, esto se demostró, en ratas de laboratorio hembras con implantes bilaterales de 4-hidroxitamoxifen, agonista del E₂, en esta región neural y se observó que el inicio de la conducta materna fue bloqueada en el posparto o aumentó el tiempo de latencia de inicio en esta conducta (Ahdieh *et al.*, 1987). A hembras vírgenes, de ratas de laboratorio, se les lesionó el MPOA, en el 50 % de estas hembras la conducta materna fue anulada y en el porcentaje restante, todas las actividades maternas fueron alteradas, por lo que el MPOA y sus proyecciones aferentes y eferentes desempeñan un papel importante en la regulación de la conducta materna (Chon y Gerall, 1989).

Entre las regiones neurales que han sido relacionadas con la regulación de la conducta paterna se encuentran el MPOA (Rosenblatt *et al.*, 1996; Rosenblatt y Ceus, 1998), la base del núcleo de la estría terminal (BNST) (Lee y Brown, 2007) y la amígdala media (MeA) (Kirkpatrick *et al.*, 1994).

Cuando se lesiona el MPOA en hembras y machos del ratón de California, la latencia de inicio de la conducta parental es mayor comparada con los ratones, en los que se simuló la lesión. Sin embargo, la conducta de abrigo no varió entre los grupos (Lee y Brown, 2002). Así mismo, en este ratón, lesiones por electrólisis en MPOA, la amígdala basolateral (BA) y el núcleo accumbens (NA); las lesiones en el MPOA, tanto en los

machos como en las hembras, causaron una disminución en las conductas parentales. Lesiones en BA interrumpieron la conducta paterna y en menor grado la conducta materna. Mientras que lesiones en el NA disminuyeron significativamente la recuperación de las crías en los machos, pero en las hembras no tuvieron ningún efecto. Por lo cual se concluye que el MPOA y la BA tienen una función importante en la regulación de los cuidados parentales (Lee y Brown, 2007).

Los machos del ratón de California, con lesiones o cortes en las proyecciones del nervio que conecta el MPOA y el septum lateral, tuvieron un periodo más largo de sensibilización en el inicio de la conducta paterna (Koranyi *et al.*, 1988). Machos castrados de las ratas de laboratorio, con lesiones en el MPOA, con ácido aspártico N-metil-DL (NMDA), tratados con P₄ o E₂, presentan una deficiencia en el despliegue de la conducta paterna, con respecto a los individuos, en los cuales se simuló la lesión (Sturgis y Bridges, 1997). Cuando los machos de la rata de laboratorio son sensibilizados, exponiéndolos repetidas veces a crías recién nacidas de la especie, hasta que desarrollaron conducta paterna. Posteriormente, se les lesiona el MPOA, con radiofrecuencia, ellos pierden esta conducta, a diferencia de los machos en los cuales, sólo se les simuló la lesión (Rosenblatt *et al.*, 1996). En otro experimento, en el cual los machos de la rata de laboratorio fueron castrados y enseguida tratados con P₄-E₂ o E₂, se observó que estos tratamientos ocasionaron una disminución en la latencia de inicio de la conducta paterna, en comparación con el grupo control. En un segundo experimento, a un grupo de machos castrados de este roedor, se les colocaron implantes de P₄ y E₂ en el MPOA, mientras que a otro se les inyectó con benzoato de E₂. Se encontró que los machos implantados con P₄ y E₂ tuvieron una menor latencia, en el inicio de la conducta paterna que los machos del grupo

control, a los que se les colocaron implantes de colesterol; sin embargo, las latencias observadas en los tratamientos anteriores fueron mayores, en comparación con las mostradas por los machos que fueron inyectados con benzoato de E₂. Los machos tratados con benzoato de E₂, vía intramuscular, presentaron mayor conducta paterna que los que tratados con implante de E₂, lo cual sugiere que además del MPOA, existen otras regiones neurales que participan en la regulación de la conducta paterna (Rosenblatt y Ceus, 1998).

En el ratón de California, se observó que los machos que son padres tienen una mayor actividad de la aromatasa en el MPOA, la BNST, el hipotálamo ventromedial (HMV) y la MeA, en comparación con los machos apareados y los sexualmente inexpertos. Además, los machos que desplegaron conducta paterna y los sexualmente inexpertos no presentaron diferencias significativas en los niveles de testosterona en plasma (Trainor *et al.*, 2003).

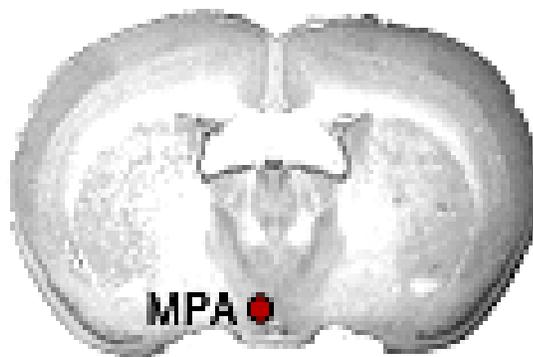


Figura 2. Localización del MPOA en la sección frontal del cerebro de rata (Tomado de Pixón y Watson, 2004).

Los receptores de estrógenos

En varias regiones del cerebro se ha observado que la T es convertida a estrógenos (Ghosh *et al.*, 2009). En los mamíferos, los estrógenos tienen diversas funciones fisiológicas, las cuales ejercen, uniéndose a sus receptores (ER), por ejemplo, regulan los procesos reproductivos, como el desarrollo folicular, la ovulación, la conducta copulatoria y materna, entre otros (Márquez, 2001).

El ER es una proteína que pertenece a la súpergran familia de los receptores nucleares, en la cual se encuentran receptores de hormonas esteroides, los de la vitamina D, retinoides, de la tiroides y receptores huérfanos (Evans, 1988). El ER α , está organizado en 6 dominios denominados por letras de la “A” a la “F” (Figura 3).

La región A/B está localizada en el lado amino terminal de la proteína y es la región menos conservada entre los distintos receptores nucleares. Este dominio contiene una función de activación de la transcripción genética (Función de Activación 1 o AF-1) y varios sitios de fosforilación (Pietras *et al.*, 1995). La región de unión al ADN o dominio C, la más conservada entre los diferentes receptores nucleares. Entre la región de unión al ADN y el dominio E/F, se encuentra la unión a la proteína chaperona de golpe de calor hsp90 (proteína de golpe de calor 90), la cual permanece unida al receptor, mientras éste se encuentre en un estado inactivo. En el extremo carboxilo terminal se encuentra la región E/F o dominio de unión al ligando (LBD), donde se une la hormona (E₂) (Freedman, 1992).

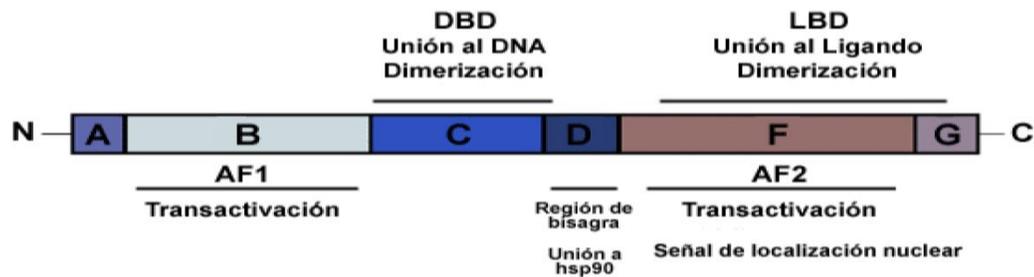


Figura 3. ER y sus dominios funcionales (Tomado de Márquez, 2010).

Los ER actúan regulando los procesos de transcripción; el mecanismo clásico de acción de estos receptores implica la unión de los estrógenos a los ER, estos receptores se dimerizan y se unen a elementos de respuesta de estrógenos (EREs) situados en la región promotora de los genes blanco (Björnström y Sjöberg, 2005). Pero, éste es sólo uno de los mecanismos a través de los cuales, los ER inducen una respuesta en las células. A esta vía se le conoce como clásica o genómica (1). Otras vías son ligando independiente (2), la independiente EREs (3) y la de superficie celular (4), considerada no genómica. Estas vías de señalización se muestran en la Figura 4 (Hall *et al.*, 2001).

Los últimos cuatro mecanismos de acción de los ER permiten regular un mayor número de genes que los regulados por el mecanismo de acción clásico. Las células utilizan las vías de señalización de los ER, dependiendo de las exigencias ambientales de los factores implicados en las diferentes vías, como los EREs, y de las acciones genómicas y no genómicas de los ER. Todos estos factores dependerán de la localización celular, por lo que la magnitud del efecto de la respuesta del E₂ en los genes, es diferente entre las células blanco (Hall *et al.*, 2001).

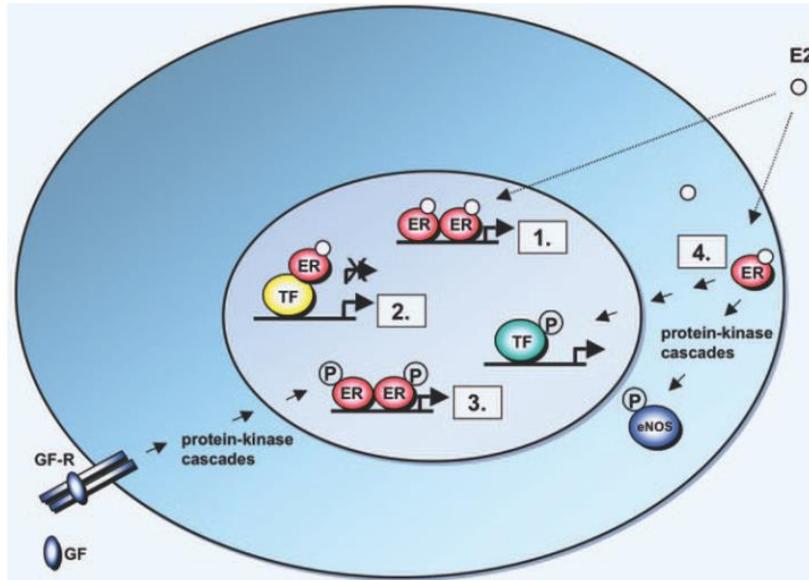


Figura 4. Los mecanismos de acción del complejo ER. 1. El mecanismo clásico de la acción de los ER, consiste en la unión del E₂ con el ER nuclear, este complejo se dimeriza, se une a los EREs y al promotor del gen blanco. 2. El mecanismo de acción genómica independiente de ERE, en este mecanismo el E₂ se une al ER, y a través de una interacción con un complejo de proteína-proteína se une a un factor de transcripción (TF), el cual se une al promotor del gen blanco. 3. El mecanismo del ligando independiente de acción genómica, en el cual un factor de crecimiento (GF) activa la cascada de proteína-quinasa produciendo una fosforilación (P) que activa los EREs y promueve al gen blanco. 4. El mecanismo de acción no genómica, es cuando el E₂ se une a un ER de membrana, lo cual activa la cascada de proteínas-quinasa, que conducen a una alteración de la función de las proteínas del citoplasma, como por ejemplo, la activación de la óxido nítrico sintetasa endotelial eNOS o la regulación de la expresión de genes a través de la fosforilación (P) y activación de un TF que se une al promotor del gen blanco (Tomado de Hall *et al.* 2001).

El mecanismo genómico de señalización de las hormonas esteroides se considera de latencia larga e induce a cambios a largo plazo en la función de las células. La expresión de algunos genes puede ocurrir en quince minutos, pero la proteína biológicamente activa se produce después de varias horas, este retraso en la respuesta celular se ha relacionado con el tiempo en que tardan en restablecerse ciertas conductas. Por ejemplo, la castración en los cobayos ocasiona una disminución en la conducta sexual, pero cuando estos roedores son tratados con T, esta conducta se restablece después de varias semanas (Valenstein y Young, 1955). Sin embargo, el E₂ puede alterar la actividad neuronal en cuestión de segundos, a través de un mecanismo no genómico, esta hormona esteroide puede inducir una rápida respuesta al unirse a receptores en la membrana plasmática sináptica (Towle y Sze, 1983). Los ER α y los ER β se han observado en sitios extracelulares en las espinas dendríticas, los

axones y los sitios terminales de las neuronas (Towart *et al.*, 2003). Los ER que se encuentran en la membrana celular interactúan en varios procesos celulares, como la inducción neuronal rápida y los cambios de conducta, estos procesos se han relacionado con varias interacciones moleculares, entre las que se encuentran la cascada de la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK), que activa la señal extracelular de la fosforilación que regula las quinasas (ERK) (Watters *et al.*, 1997). Cuando el estradiol o un agonista de esta hormona, como GPR30 (receptor 30 acoplado a la proteína G), se administra en las células de los osteocitos, la expresión de MAPK se incrementa (Ren y Wu, 2012), esto sugiere que el estradiol puede actuar a través de GPR30 para activar la cascada de MAPK (Abraham *et al.*, 2004) (Figura 5). Las MAPKs son reguladas por varios ER. Se cree que esta vía de acción no genómica de los estrógenos participa en la regulación de la conducta, pero que estos mecanismos tienen gran influencia de los factores ambientales, como el fotoperiodo (Laredo *et al.*, 2014).

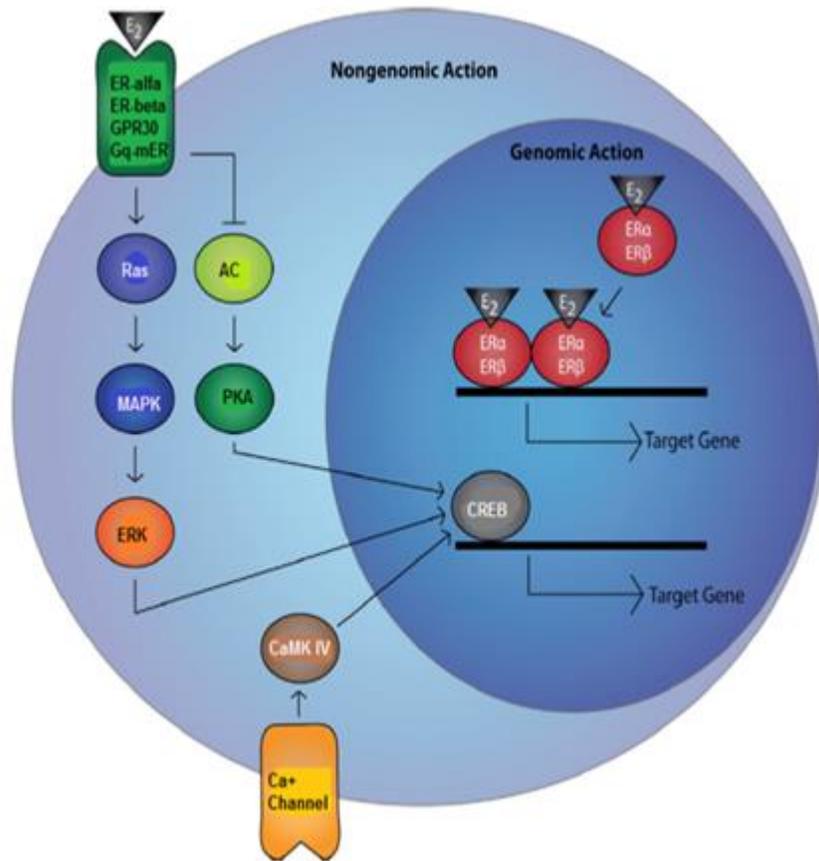


Figura 5. Los estrógenos pueden actuar a través de cascadas genómicas o no genómicas. El E₂ se puede unir a los ERα o ERβ, estos complejos en ambos casos se dimerizan y se unen a los elementos de respuesta (EREs), que promueven la expresión de genes corriente abajo (genómico). El E₂ también puede activar una cascada de señalización más rápida a través de receptores unidos a la membrana, que activan a MAPK y tienen dianas moleculares corriente abajo que incluyen a ERK y CREB (no genómico) (Tomado de Laredo *et al.*, 2014).

Los mecanismos moleculares subyacentes de las acciones genómicas de los estrógenos son específicos de cada tipo de célula. La respuesta a la estimulación de estrógenos puede depender de diversas condiciones, tales como las señales moleculares para la transducción y los objetivos presentes en las células diana, por lo cual las respuestas pueden ser diversas (Laredo *et al.*, 2014).

En el caso de las células del útero, las funciones principales del ER de membrana son la activación de una o más cascadas de señales que pueden facilitar la absorción de compuestos mediada por las hormonas y la posibilidad de que la unión de la hormona a la

membrana represente una manera de transportar el E₂ en vesículas endocíticas hasta el núcleo para su función (Pietras y Szego, 1984).

En las células beta pancreáticas el E₂ puede estimular el incremento de Ca²⁺ intracelular inducido por glucosa y los niveles de GMP cíclico (cGMP) y es un mecanismo que ocurre por la asociación del ER con la guanilato ciclasa (GC) de la membrana celular. En los monocitos, la corriente de C²⁺ después de ser estimulada con E₂, induce la producción de óxido nítrico (NO) (Stefano *et al.*, 1999). En las células endoteliales el estrógeno o el compuesto impermeable a la membrana celular E₂-BSA (E₂ 17β-acoplado a albumina) puede estimular la producción de cGMP y NO, y activar además las quinasas celulares (Chen *et al.*, 1999). El aumento de cAMP ha sido descrito en células de cáncer de mama, células uterinas y músculo liso (Farhat *et al.*, 1996).

El E₂ tiene efectos rápidos que ayudan a preservar el flujo coronario, incluyendo la estimulación del óxido nítrico sintetasa y la consecuente producción de NO y cGMP. El E₂ además inhibe los canales de Ca²⁺ en el músculo liso vascular, reduciendo de esa manera la acción de ciertos vasoconstrictores que actúan a través de este mecanismo. Resultando la vasodilatación y una mejor perfusión del corazón (Nakajima *et al.* 1995).

La deficiencia de estrógenos se ha asociado a la pérdida significativa de hueso. Existen una relación con los estrógenos y los sitios de unión de los osteoblastos y osteoclastos, como los aumentos de Ca²⁺ intracelular y el inositol (Mendelsohn y Karas, 1999).

El E₂ es capaz de preservar las neuronas como el endotelio neurovascular, además de limitar la extensión de lesiones y disminuir su mortalidad (Simpkins, *et al.*, 1997). El

uso de los estrógenos después de la menopausia mejora las funciones cognitivas y reduce la incidencia de la enfermedad de Alzheimer. En la enfermedad de Turner mejora las funciones motoras. En células de pituitaria GH3/B6, es capaz de estimular la secreción de prolactina a través de la inducción de potenciales de acción (Zyzek *et al.*, 1981). Estos son ejemplos de los efectos rápidos del E₂, mediados por los receptores de la membrana, que activan procesos genómicos e inducen o inhiben la expresión de genes (Laredo *et al.*, 2014).

La regulación temprana de los genes *c-fos* por ERs es también medida a través de las acciones genómicas y no genómicas (Duan *et al.*, 1988). Los estrógenos aumentan la eliminación de la lipoproteína de baja densidad (LDL) y baja los niveles de colesterol en plasma en la posmenopausia de las mujeres y éste podría ser el mecanismo por el cual los estrógenos reducen el riesgo de las enfermedades cardiovasculares (Walsh *et al.*, 1991).

Muchos genes son regulados por los ERs y que estos genes son de dos tipos: los que contienen EREs y los que no tienen. Los últimos genes contienen sitios de unión para una variedad de factores heterogéneos de transcripción. Las acciones no genómicas de los estrógenos se dirigen a muchos factores de transcripción tales como AP-1, que participan en las interacciones de proteína-proteína con ERs en el núcleo (Björnström y Sjöberg, 2005).

Es evidente que la regulación de la expresión de los genes por ERs es un proceso multifactorial, en el cual pueden interferir tanto acciones genómicas como no genómicas que a menudo convergen en determinados elementos localizados en los promotores de los genes diana. Las respuestas finales de los genes; sin embargo, depende de un gran número

de condiciones tales como la combinación de los factores de transcripción unidos a los genes promotores específicos, la localización celular de los ERs, los niveles de expresión de varias proteínas correguladoras, los componentes de señales de transducción y la naturaleza del estímulo extracelular. Estas variables son altamente específicas para cada tipo de célula. Los estrógenos pueden utilizar diferentes vías de señalización dependiendo del contexto celular y de esta manera provocar distintas respuestas genéticas en diferentes tipos de células diana (Björnström y Sjöberg, 2005).

Los receptores de estrógenos y la conducta paterna

Los ER se han relacionado con la conducta agresiva, reproductiva, materna y paterna (Márquez, 2001). En ratas de laboratorio adultas se cuantificaron las concentraciones de ER, en varias áreas neuronales, utilizando la técnica de inmunohistoquímica (IH), en machos y hembras en diferente condición reproductiva; machos y hembras vírgenes, hembras nulíparas preñadas y hembras primíparas lactantes. Las regiones neurales analizadas fueron: la materia gris del cerebro medio, la región periventricular lateral y ventral (PVG), el núcleo cortical de la amígdala (CA), el núcleo de la amígdala media (mMeA), el HVM, el núcleo arqueado del hipotálamo (ARC), el área anterior del hipotálamo (AHA) y el MPOA. En las hembras vírgenes, los ER fueron observados en el hipocampo, el córtex periforme entorrinal y el núcleo septal; en las hembras nulíparas preñadas, en amígdala anterior y en la BNST. En las hembras lactantes (día 5 de la lactancia), no se detectaron ER en el hipocampo, en el área anterior de la amígdala, ni tampoco en la corteza entorrinal y periforme. Las hembras preñadas presentaron más áreas neurales con inmunoreactividad a ER que las lactantes. Los machos

también tuvieron una menor cantidad de células marcadas con ER que las hembras lactantes. Estos resultados indican que la cantidad y distribución de las células que son dianas de los estrógenos en las áreas del cerebro, así como la densidad de ER que estas células tienen, cambia a través de los diferentes estados reproductivos (Koch y Ehrh, 1988).

En la rata de laboratorio de los días 16 al 22 de la preñez y en el día uno del postparto fue observada una marcada inmunoreactividad de ER, en áreas como el núcleo preóptico medio (MPN), el HVM, la BNST y la MeA. Sin embargo, en el MPN, la inmunoreactividad a ER sólo fue observada en la preñez, pero no en el postparto. El HVM presentó mayor inmunoreactividad de ER en el día 22 de la preñez en comparación con los días 16 y 1 del postparto. En la BNST, los niveles de inmunoreactividad de ER se incrementaron significativamente el día 1 postparto, en comparación con el día 22 de la preñez. La MeA no tuvo cambios significativos en la inmunoreactividad de ER durante la preñez y el postparto. Los cambios en la expresión de los ER en el MPN y el HVM pueden ser importantes para la exhibición de la conducta materna y sexual durante la preñez y el parto (Wagner y Morrell, 1996).

En ratones machos ERKO (ratones con “knockout” del gen del receptor ER) se ha analizado la función de los ER, en la conducta reproductiva y agresiva de estos roedores. Machos ERKO fueron castrados y tratados con benzoato de estradiol y P₄, después de este tratamiento fueron sometidos a pruebas de conducta copulatoria y agresiva a los 6 y 12 días siguientes. Las conductas observadas en estos ratones fueron comparadas con las de ratones silvestres y ratones heterocigóticos para el gen ER. En la primera prueba de conducta copulatoria, los machos ERKO, presentaron menos montas simples y con intromisiones, que los ratones silvestres y los heterocigóticos. Además, de que fueron

incapaces de eyacular. En la segunda prueba, aunque los ratones ERKO presentaron más montas con intromisiones que los ratones silvestres y los heterocigóticos, no eyacularon. Tanto en la primera como en la segunda prueba de conducta agresiva los machos del ratón ERKO presentaron un nivel más bajo de agresión en comparación con los machos silvestres y los heterocigóticos. Cabe mencionar, que en la segunda prueba de agresión los ratones heterocigóticos desplegaron menor agresión que los silvestres. La IH para ER indicó que los ratones ERKO castrados e intactos tuvieron menos inmunorreactividad de ER en el MPOA que los machos silvestres castrados. La menor cantidad de inmunorreactividad de ER en MPOA en los ratones ERKO, se asoció a una disminución en la conducta reproductiva y agresiva, por lo que se concluye que la expresión de los ER tiene una función importante en la regulación de ambas conductas (Ogawa *et al.*, 1997).

La exhibición de la conducta paterna está asociada a la presencia de ER en diversas áreas del cerebro; en los machos del ratón de laboratorio, sensibilizados, que desplegaron conducta paterna se observó la presencia de inmunorreactividad de ER en la BNST, el hipocampo, el núcleo del septum lateral, la corteza entorrinal, además de un aumento del número de estos receptores en el MPOA y en el ARC, así como una disminución de estos receptores en la materia gris media paraventricular del cerebro, en comparación con los machos del grupo control, en los que la distribución y número de receptores fue diferente. Estos resultados indican que la conducta paterna está regulada por el número de ER y su distribución en las distintas regiones cerebrales (Ehret *et al.*, 1993).

Existen básicamente dos tipos de receptores a estrógenos, los alfa ($ER\alpha$) y los beta ($ER\beta$), estos receptores son generalmente intracelulares, aunque también existen receptores

a estrógenos en la membrana celular (Koch y Ehret, 1988; Korach, 1994; Hall *et al.*, 2001; Laredo *et al.*, 2014).

En las hembras de ratones con “knockout” del gen de ER α se realizó un estudio para observar la relación de este receptor con la exhibición de las conductas reproductiva, agresiva y materna, estas conductas fueron comparadas con las exhibidas por hembras silvestres y heterocigóticas. Hembras intactas ERKO presentaron trastornos en la conducta sexual, atribuidas a la falta de la expresión de los receptores ER α . Cuando las hembras ERKO, las silvestres y las heterocigóticas fueron ovariectomizadas y tratadas con benzoato de estradiol y P₄, se observó que las hembras ERKO y las heterocigóticas no presentaron ningún cambio en la conducta sexual, a diferencia de las silvestres, en las cuales se registró un aumento de la lordosis. En las hembras intactas de ERKO y las silvestres, la conducta agresiva fue mayor que en las hembras heterocigóticas; la ovariectomía y el tratamiento con benzoato de estradiol y P₄ disminuyó la conducta agresiva en las hembras ERKO y la inhibió en las hembras silvestres. Las hembras intactas silvestres y heterocigóticas exhibieron mayor conducta materna que las hembras ERKO, las cuales mostraron una latencia mayor en el inicio de esta conducta y menor recuperación de las crías, en comparación con las hembras de los otros grupos. Las hembras intactas ERKO presentaron más infanticidios que las hembras silvestres, mientras que las hembras heterocigóticas no mostraron infanticidio. La ovariectomía y el tratamiento hormonal, no alteraron la conducta materna en los tres grupos de hembras, pero sí disminuyó el infanticidio en las hembras ERKO, mientras que en los otros grupos de hembras, no hubo cambios en la conducta infanticida. Cabe señalar, que las hembras silvestres mostraron ER α en el MPOA,

a diferencia de las ERKO, en las cuales no fue observada inmunorreactividad de ER α (Ogawa *et al.*, 1998).

Hembras adultas de la ratas Log-Evans dependiendo del tiempo que dedican al acicalamiento de sus crías, fueron organizadas en tres grupos: en el primero se incluyeron hembras que dedican gran cantidad de tiempo acicalar, en el segundo, hembras que dedican menos tiempo y en el tercer grupo, hembras que no invirtieron tiempo en esta actividad materna. En estos grupos se analizó la expresión de ER α y ER β , a través de IH e hibridización de mRNA, en el MPOA. Este proceso se repitió con las hijas de la primera camada de estas hembras. En las hembras que dedicaron más tiempo a acicalar, se observó una expresión ER α en el MPOA, significativamente más alta, comparada con las hembras de los otros grupos. En las hembras adultas y vírgenes, descendientes de las madres que dedicaron más tiempo a acicalar, también se observó una expresión más alta de ER α en el MPOA, que en las hijas de las madres que dedican menos tiempo al acicalamiento. En todos los grupos de hembras y sus hijas no se observaron diferencias en la expresión de ER β en el MPOA. Asimismo, la expresión de los genes *c-Fos*, cuya expresión se utiliza como marcador de la actividad neural, en el núcleo ventral anterior del MPOA, fue más alta en las hembras tratadas con benzoato de E₂ y las que dedicaron más tiempo acicalando comparadas con las hembras que invirtieron menos tiempo en el acicalamiento. Estos resultados muestran que los cambios en la expresión de los ER α en el MPOA, están relacionados con la exhibición de la conducta materna (Champagne *et al.*, 2003).

Machos de ratones ERKO de ER α , heterocigóticos y silvestres fueron sometidos a pruebas de conducta sexual, agresiva y paterna. Después de estas pruebas fueron castrados y tratados con T, y se sometieron nuevamente a pruebas conductuales. Los resultados

indicaron que los ratones ERKO intactos no despliegan agresión a diferencia de los heterocigóticos y silvestres. La castración y el tratamiento con T, restableció la conducta agresiva en los machos silvestres y heterocigóticos, pero no en los machos ERKO. En los machos intactos ERKO, a diferencia de los heterocigóticos y silvestres, no se observó conducta sexual. Después del tratamiento, castración y reemplazo con T, los ratones ERKO no cambiaron su conducta sexual, mientras que los heterocigóticos y silvestres esta conducta fue normal. En las pruebas de conducta paterna, los machos ERKO mostraron mayor infanticidio que los machos heterocigóticos y silvestres. Después de la castración y el tratamiento con T, el infanticidio disminuyó en los machos ERKO y los silvestres, pero en los ratones heterocigóticos la conducta no cambió. Los ratones ERKO no presentaron ni acicalamiento, ni recuperación de las crías, a diferencia de los ratones de los otros grupos. Con estos experimentos se mostró que los receptores ER α , desempeñan una función muy importante en la regulación de la conducta agresiva, sexual y paterna (Ogawa *et al.*, 1998).

Antecedentes

Varios trabajos han señalado la importancia de los ER α , en la regulación de la conducta materna, algunos de éstos han sido ya citados. Sin embargo, poco se conoce de la función que desempeñan estos receptores en la regulación de la conducta paterna. En el topillo mandarín (*Microtus mandarinus*) se observó la presencia de ER α en hembras y machos adultos, que durante la etapa neonatal recibieron cuidados biparentales o fueron privados de los cuidados del padre (el macho fue separado de su familia). Cuando los topillos alcanzaron la vida adulta y se reprodujeron, se realizaron observaciones de sus

conductas parentales. Los machos que recibieron cuidados biparentales dieron significativamente más cuidados a sus hijos, y presentaron significativamente mayor número de neuronas inmunorreactivas de ER α en la BNST, el MPOA, el HVM y el ARC, que los machos privados del cuidado paterno (Jia *et al.*, 2011).

En los machos del topillo mandarín, se analizó la presencia de ER α , en machos apareados, que antes del apareamiento fueron sensibilizados, a través de la exposición repetida a crías ajenas de la especie, padres primerizos, machos vírgenes y machos que sólo se aparearon. Los machos apareados con sensibilización a las crías y los padres primerizos presentaron significativamente mayor conducta paterna en comparación con los machos vírgenes y machos que sólo permanecieron apareados. Los padres primerizos mostraron significativamente menor inmunoreactividad de los ER α en la BNST y el MPOA, y un número significativamente mayor de neuronas con inmunoreactividad a este receptor en el HVM y en el núcleo central de la amígdala, que los otros grupos de machos. Los machos apareados con sensibilización a las crías tuvieron significativamente más ER α en las neuronas del ARC que los machos vírgenes, pero significativamente menos que los padres primerizos. Los resultados muestran que la exposición a las crías y la conducta paterna están relacionadas con la presencia ER α (Song, *et al.*, 2010). En este contexto el presente estudio tiene como finalidad contribuir al conocimiento de la función que desempeñan los receptores ER α en la regulación de la conducta paterna, utilizando como modelo al gerbo de Mongolia.

El gerbo de Mongolia (*Meriones unguiculatus*)

El gerbo de Mongolia es un roedor monógamo, que presenta cuidados paternos naturales (Elwood, 1975), por lo cual constituye un excelente modelo de estudio para comprender los mecanismos neuroendocrinos que regulan la conducta paterna.

El gerbo de Mongolia es originario del Medio Oriente y de las regiones áridas de Asia Central, se le puede ubicar en África y Europa Oriental. Este roedor mide de 6 a 12 cm, sin contar la cola. De cabeza a cola puede medir de 18 a 24 cm, su peso es de 70 a 90 gr. Su período de gestación de 21 a 25 días, puede tener de 4 a 8 crías por camada, sus crías nacen con los conductos auditivos y los ojos cubiertos por membranas y no tienen capacidad de mantener su temperatura corporal, por lo cual dependen del calor que les proporcionan sus padres, hasta que tienen de 17 a 20 días, edad a la que adquieren esta capacidad (Cohen, 1981). El macho de esta especie, proporciona a sus crías los mismos cuidados que las hembras, a excepción de la lactancia (Figura 6) (Elwood, 1975; Dewsbury, 1981).



Figura 6. El Gerbo de Mongolia exhibe cuidados paternos (Tomado de Warren, 2011).

Hipótesis

Si una de las vías a través de la cual la T regula la conducta paterna en el gerbo de Mongolia (*Meriones unguiculatus*), es a través de su conversión a E₂, entonces se espera que la exhibición de cuidados paternos esté asociada a la presencia de ER α en el MPOA.

Objetivo general

Determinar si la exhibición de la conducta paterna en el gerbo de Mongolia (*Meriones unguiculatus*), está asociada con la presencia de ER α en el MPOA.

Material y Método

Animales

En este estudio se utilizaron 22 machos vírgenes del gerbo de Mongolia, con una edad de 120 a 150 días de edad, procedentes de una colonia establecida en el Laboratorio de Biología de la Reproducción, FES Iztacala, UNAM. Estos animales se mantuvieron bajo un fotoperiodo invertido 12:12 luz-oscuridad, debido al ciclo circadiano de los animales, que presentan más actividad durante la fase oscura. La temperatura ambiente varió entre 17 y 21°C. Los gerbos fueron alimentados con nutricubos para roedores pequeños (Laboratorio Harlan) y agua corriente *ad libitum*. En este estudio, dos o tres gerbos del mismo sexo fueron colocados en cajas de policarbonato (37x27x15 cm), con una cama de aserrín.

Los animales de este estudio fueron seleccionados por su agresividad o indiferencia hacia las crías, a través de pruebas de conducta paterna. Cada macho fue colocado en una

jaula, con las mismas características de la jaula hogar, después de 15 minutos de adecuación, se introdujeron 2 crías ajenas de la especie y se observó la conducta de los machos hacia las crías (agresivos, indiferentes o paternos). El criterio para clasificar la conducta de los machos fue: machos agresivos, que olfatean y atacan a las crías con movimientos violentos, las muerden, cuando esto ocurre las crías son inmediatamente retiradas. Los machos paternos, olfatean, acicalan y abrigan a las crías y también pueden construir nido. Los machos indiferentes solamente olfatean a las crías.

Veinte machos fueron sometidos a pruebas preliminares de conducta paterna, de los cuales 10 fueron agresivos, 5 fueron indiferentes y 5 fueron paternos. Los machos agresivos e indiferentes fueron asignados azarosamente, a los siguientes tratamientos; 5 machos fueron castrados bilateralmente, en 5 se simuló la castración y recibieron implantes vacíos, 5 machos fueron castrados bilateralmente y se les colocaron implantes de T. Los animales se castraron y después de una semana se les colocaron los implantes, la segunda exposición a las crías para las pruebas de conducta paterna se realizaron a los 8 días de haberles colocado el implante. Los 5 machos paternos se utilizaron como control positivo de la conducta paterna. Después de las pruebas de conducta paterna (segunda exposición a las crías) se extrajeron muestras sanguíneas de los machos de todos los grupos, incluyendo los machos con conducta paterna espontánea. A los dos machos indiferentes no se les extrajeron muestras sanguíneas.

De cada uno de los grupos antes mencionados, 2 machos fueron sacrificados para la obtención de los cerebros, en el caso de los machos con el tratamiento simulado, se seleccionaron a 2 machos agresivos, estos machos se utilizaron en la IH de ER α . Además,

también se monitoreo la presencia de receptores ER α en el MPOA, en 2 machos vírgenes que mostraron indiferencia hacia las crías.

Todos los experimentos se realizaron de acuerdo con la guía ética de la Norma Oficial Mexicana, que regula la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, 2001) y por American Society of Mammalogists (Animal Care and Use Committee, 1998).

Orquidectomías

Los gerbos fueron anestesiados con 3 mg/kg de xilacina y 50 mg/kg de pentobarbital sódico, antes de la cirugía y colocación del implante. Posteriormente, se les depiló el área escrotal-abdominal y se mantuvo en completa asepsia, enseguida se le realizó una incisión en la línea media y los testículos fueron expuestos, se ligaron las arterias espermáticas y los testículos fueron removidos. La incisión fue suturada, tejidos internos con cat-gut y externos con seda, calibre 6 ceros. En los gerbos en los cuales se simuló la castración, los testículos fueron expuestos 2 minutos y enseguida se colocaron nuevamente en la cavidad escrotal, finalmente se suturó. Después de las cirugías se les proporcionó ácido acetilsalicílico ~100 mg/kg, efervescente, el cual fue disuelto en el agua de tomar. El área escrotal-abdominal fue cerrada suturando los tejidos internos con hilo cat-gut y los externos con seda. Después de 24 horas fueron regresados a su jaula hogar.

Implantes de T

Los implantes fueron hechos con tubo silástico (Silastic Laboratory Tubing, i.d. 1.47 o.d. 1.96 mm, Down Corning), fueron llenados con 10 mg de propionato de testosterona (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA), los extremos fueron sellados con adhesivo de silicón. Los implantes fueron colocados una semana después de la orquidectomía, en la región dorsal superior, cercana a la nuca, subcutáneamente.

Pruebas de conducta paterna

Las pruebas de conducta paterna fueron realizadas de 8 a 10 días siguientes a la colocación de los implantes de T, cada macho fue puesto en una jaula de policarbonato (con las mismas dimensiones de jaula hogar), siguiendo el método descrito en las pruebas de selección. Después de 15 minutos de adecuación fueron introducidas 2 crías ajenas de la especie de 1 a 4 días de edad. Las crías utilizadas para las pruebas de conducta paterna fueron obtenidas de los animales de colonia. Un sólo observador registró la latencia de inicio de la conducta paterna (tiempo que transcurre desde que la cría es introducida hasta que es olfateada por el macho), el tiempo que el macho invirtió en el abrigo y acicalamiento de las crías, así como la frecuencia de olfateo. Los machos fueron clasificados según su conducta en: machos agresivos, que olfatean y muerden a las crías, cuando esto ocurre las crías son inmediatamente retiradas, aunque en algunos casos el ataque es muy rápido y se cometen infanticidios. Los machos paternos, olfatean, acicalan y abrigan a las crías y también pueden construir nido. Los machos indiferentes solamente olfatean a las crías.

Obtención de muestras sanguíneas

Después de la segunda prueba de conducta paterna, a cada uno de los machos (castrados, con castración simulada, castrados con reemplazamiento de T y conducta paterna espontánea) se les extrajeron muestras sanguíneas del seno retro-orbital, con capilares heparinizados. Antes de este procedimiento los gerbos fueron anestesiados. El plasma fue centrifugado 12 minutos, a 3500 revoluciones y almacenado a una temperatura de -70 °C, hasta su procesamiento para RIA. La cuantificación de T se realizó a través de radioinmunoensayo (RIA). T fue medida, utilizando un kit Siemens kit para T total, marcada con ^{125}I (Coat-A-Count, Siemens Medical Solutions Diagnostics, Los Angeles, CA, USA), con una sensibilidad de 4 pg/ml. Los coeficientes de variación intra e interensayo fueron de 2.7% and 5.6%, respectivamente.

Inmunohistoquímica

Los gerbos que azarosamente fueron designados a perfusión fueron anestesiados con xilazina y pentobarbital sódico, con las dosis antes mencionadas. La perfusión se realizó por vía intracardiaca con paraformaldehído al 4% en PBS. Después de la perfusión se extrajo el cerebro, el cual fue post fijado durante 18 horas, en el mismo fijador. Posteriormente, este tejido fue procesado histológicamente por la técnica de parafina. Se realizaron cortes coronales de 30 μ de grosor, entre el segundo y tercer tercio en el plano sagital del cerebro. La localización del MPOA se realizó por comparación con el atlas estereotáxico de rata (Paxinos y Watson, 2004).

Para la inmunodetección de ER α en MPOA, se utilizó como anticuerpo primario IgG de conejo policlonal (Santa Cruz Biotechnology), en una dilución de 1:50, y como

segundo anticuerpo se usó el incluido en el kit de Vectastain Elite ABC Kit (Rabbit IgG). Se utilizó como control negativo de este procedimiento cortes de pulmón y como control positivo oviducto. También se procesaron laminillas de MPOA sin el anticuerpo primario. Se tomaron fotografías con el microscopio Motic BA400.

Para el conteo de las marcas de inmunorreactividad de los ER α , las fotografías fueron tomadas a 40x, que se imprimieron en hojas (27.2 x 20.9cm). De cada gerbo se seleccionaron 5 fotografías, sobre cada fotografía fue sobrepuesta una hoja de acetato cuadrículada, en la que cada cuadro de 1.22cm² equivalió a 1 μ ², esta equivalencia se calculó conociendo el área de campo del microscopio, dependiendo del aumento del objetivo en que se tomó cada fotografía, en este caso 40x, el área de campo es de 450 μ ² (Meek *et al.*, 1997). Finalmente, se encontró que cada cm² de la fotografía equivalía a 1 μ ². Se seleccionaron 5 cuadros al azar, por cada fotografía, en cada cuadro se cuantificaron las marcas de los ER α . Con los datos obtenidos se obtuvo un promedio del número de marcas de ER α , por cada grupo de gerbos.

Análisis estadístico

Como los gerbos de los grupos de machos castrados y con procedimiento simulado no presentaron conducta paterna, sólo fueron contrastados los datos obtenidos del abrigo y el acicalamiento exhibidos por los grupos de machos con conducta paterna inducida con T y los paternales espontáneos. Este contraste se realizó aplicando la prueba no paramétrica U de Mann –Whitney, debido a que los datos no presentan una distribución normal, presentarse en grupos independientes y de variables continuas.

Los datos obtenidos del conteo de marcas inmunorreactivas de ER α de cada grupo: castrados, castrados +T, con procedimiento simulado, paternales espontáneos e indiferentes (sin tratamiento), fueron analizados aplicando la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, debido al comportamiento no normal de los datos. El análisis *post hoc* fueron realizados aplicando la corrección de Bonferroni, P = 0.005.

Los datos obtenidos de la cuantificación de T en plasma de cada grupo: castrados, castrados +T, con procedimiento simulado y paternales espontáneos fueron analizados aplicando la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. El análisis *post hoc* fueron realizados aplicando la corrección de Bonferroni, P = 0.0083.

Resultados

Conducta paterna

Los machos castrados y en los que se simuló el procedimiento experimental no cambiaron su conducta hacia las crías; antes y después del tratamiento continuaron mostrando agresión o indiferencia hacia las crías. El 100% de los machos tratados con T exhibieron conducta paterna (Tabla 1), presentaron abrigo, acicalamiento y construcción de nido. Estas actividades paternales también fueron observadas en los machos con conducta paterna espontánea. Los machos agresivos y algunos indiferentes sólo olfatearon a las crías.

Tabla 1

| Pruebas de conducta paterna antes del tratamiento | | | | | Tratamiento | Pruebas de conducta paterna después del tratamiento | | | | |
|---|---------|---------------|--------|----------------------|-------------------------------------|---|---------------|--------|----------------------|----------------------------|
| Conducta | Olfateo | Acicalamiento | Abrigo | Construcción de nido | | Olfateo | Acicalamiento | Abrigo | Construcción de nido | Conducta |
| Paternales | 100 % | 100% | 80% | 20% | Sin tratamiento N=5 | 100% | 100% | 80% | 0% | Paterna |
| Agresivos/ Indiferentes | 40% | 60% | 0% | 0% | Castrados con tratamiento N=5 | 100% | 100% | 100% | 20% | Paterna |
| Agresivos/ Indiferentes | 80% | 40% | 0% | 0% | Castrados N=5 | 40% | 40% | 0% | 0% | Agresivos/ Indiferentes |
| Agresivos/ Indiferentes | 100% | 20% | 0% | 0% | Simulados N=5 | 80% | 60% | 0% | 0% | Agresivos/ Indiferentes |

Tabla 1. Conductas observadas en el gerbo de Mongolia antes y después de los tratamientos.

Los machos castrados tratados con implantes de T, presentaron una latencia de inicio de la conducta paterna (contacto con la cría), con una mediana de 16 minutos y un rango de 3 a 26 minutos. Estos valores fueron comparativamente mayores a los observados en los machos con conducta paterna espontánea, quienes tuvieron una latencia de inicio de 12 minutos, con un rango de 1 a 15 minutos. Sin embargo, la diferencia no fue significativa ($W=19.0$, $P > 0.05$).

El tiempo invertido en el abrigo por los machos con conducta paterna inducida con T, no difirió significativamente del que invirtieron los machos con conducta paterna espontánea ($W=41.0$, $P > 0.05$, Figura 7). Tampoco se encontraron diferencias significativas en el tiempo que dedicaron, los machos con conducta paterna inducida al acicalamiento, respecto a los machos con conducta paterna espontánea ($W=49.0$, $P > 0.05$, Figura 8). Los machos castrados con procedimiento simulado no exhibieron abrigo, ni acicalamiento (Figura 7, Figura 8).

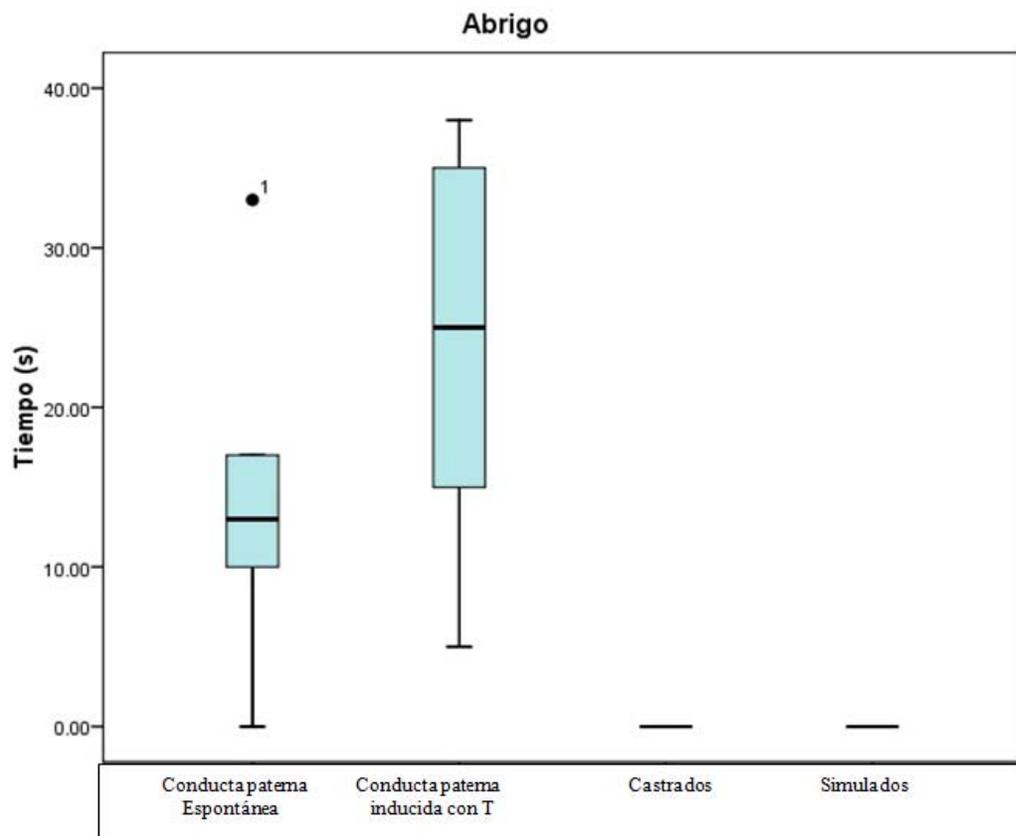


Figura 7. El tiempo invertido en el abrigo de los machos con conducta paterna inducida con T y esos con conducta paterna espontánea, no difirió significativamente ($P > 0.05$). Los machos castrados y con castración simulada no exhibieron

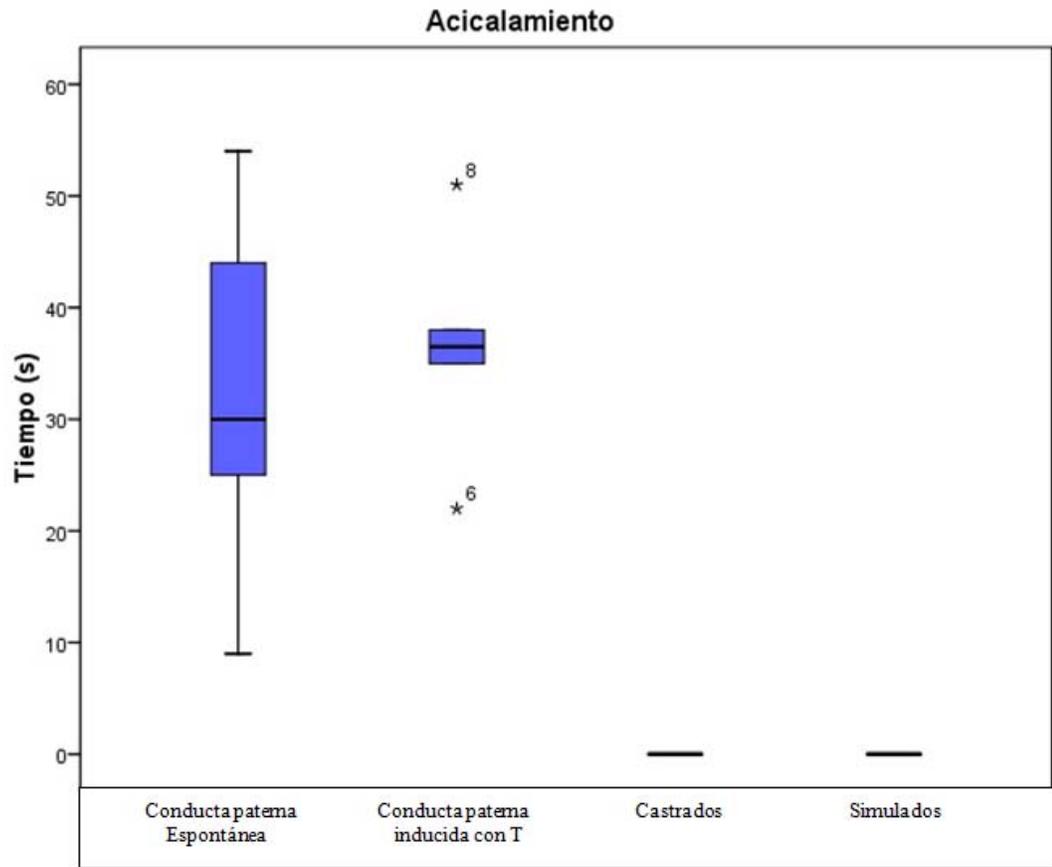


Figura 8. El tiempo invertido en el acicalamiento de los machos con conducta paterna inducida con T y esos con conducta paterna espontánea, no difirió significativamente ($P > 0.05$). Los machos castrados y con castración simulada no exhibieron acicalamiento.

Receptores ER α

El número de marcas inmunorreactivas de ER α en el MPOA difirió significativamente entre los grupos ($H=90.54$, $GL=4$, $P < 0.01$, Figura 9). La presencia de ER α en el MPOA de los machos con conducta paterna inducida con T fue significativamente mayor que en los machos castrados y los indiferentes hacia las crías ($P < 0.05$, Figura 9, Figura 10, Figura 11, Figura 12). No se encontraron diferencias significativas en el número de marcas inmunorreactivas entre los machos con conducta paterna inducida con T y los machos con conducta paterna espontánea ($P > 0.05$, Figura 9, Figura 13). Sorprendentemente, el número de marcas inmunorreactivas de ER α observado, en los machos con procedimiento simulado no difirió significativamente de los observados en los machos con conducta paterna inducida con T y los machos con conducta paterna espontánea ($P > 0.05$, Figura 10, Figura 14).

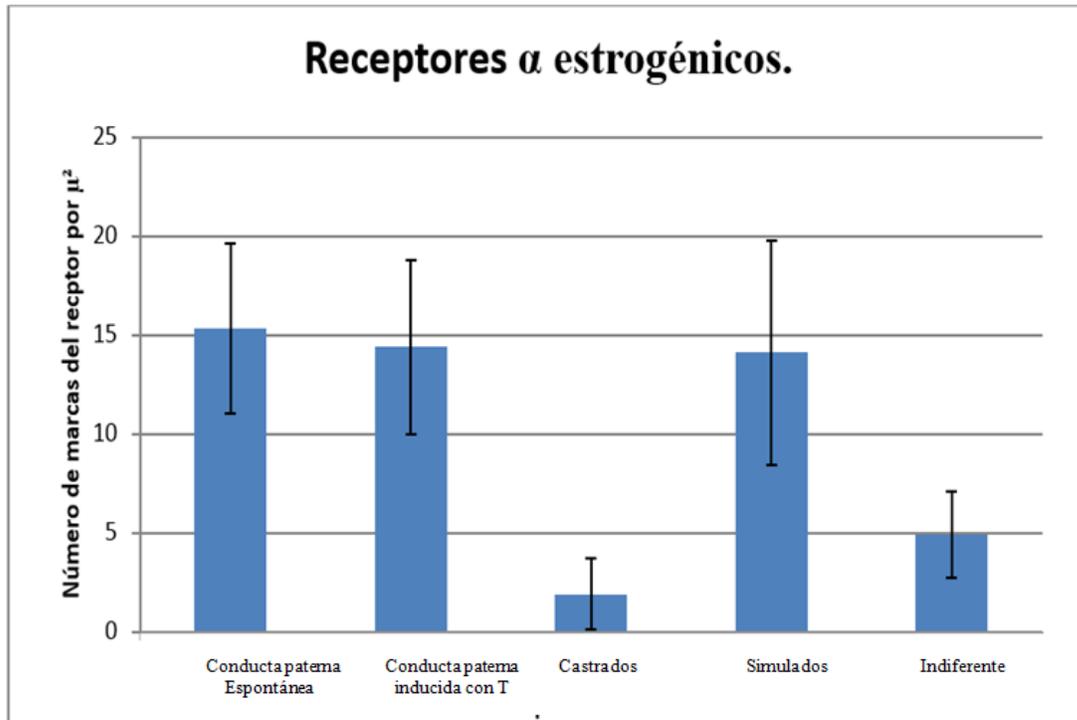
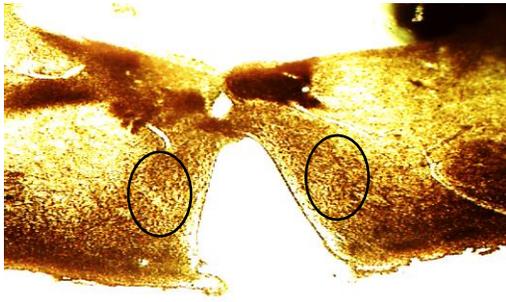
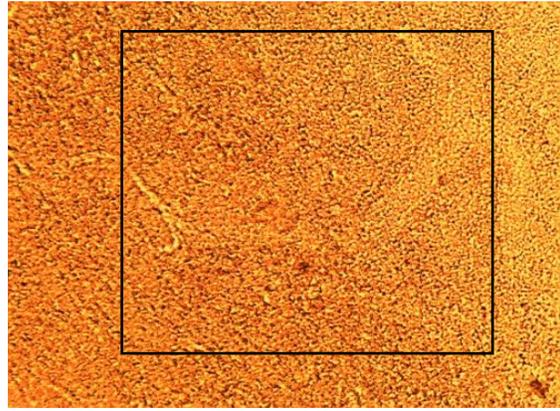


Figura 9. El número de marcas de los ER α en $1\mu^2$ en el MPOA entre machos con conducta paterna inducida con T, paterna espontánea y agresivos con procedimiento simulado no difirió ($P > 0.05$). Sin embargo, estos grupos de machos tuvieron mayor inmunoreactividad de ER α ($P < 0.05$) que los fueron indiferentes hacia las crías y los castrados.

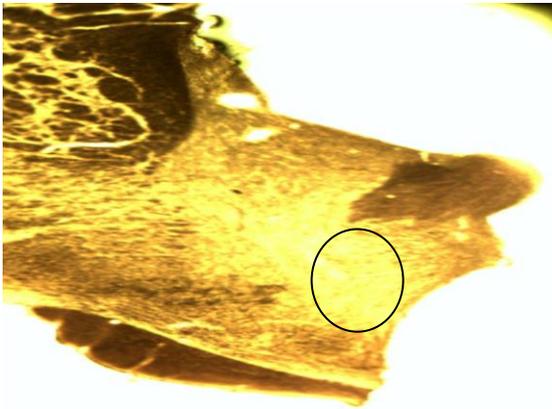


a)

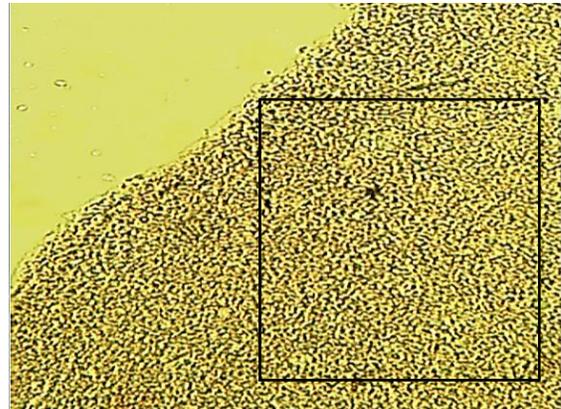


b)

Figura 10. El MPOA con marcas de inmunoreactividad de ER α de un macho agresivo con conducta paterna inducida por T, a: 10X; b: 40X.

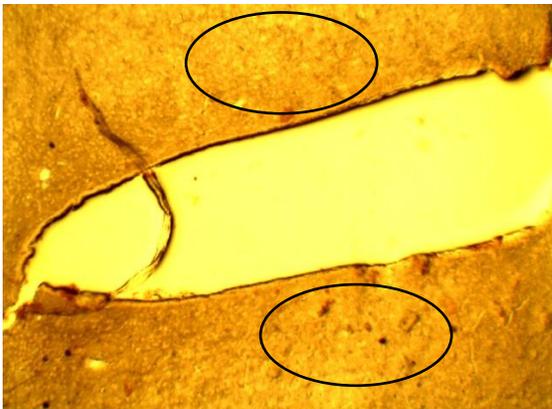


a)

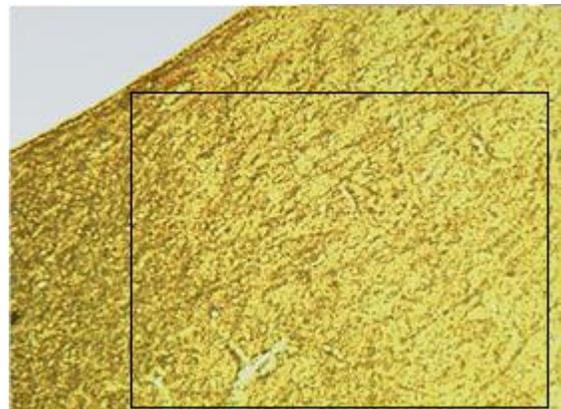


b)

Figura 11. Inmunoreactividad de ER α en MPOA de un macho castrado, a: 10X; b: 40X.



a)

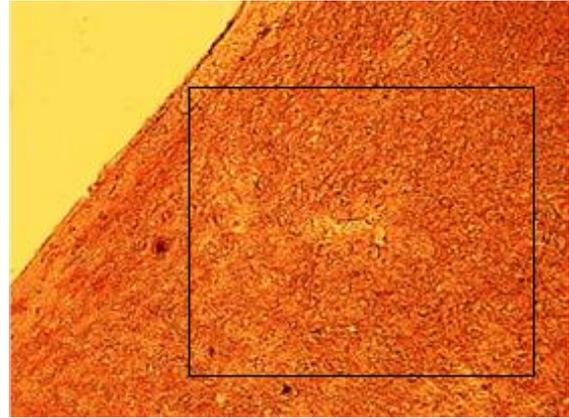


b)

Figura 12. El MPOA con marcas de inmunoreactividad de ER α de un macho indiferente, a: 20X; b: 40X.

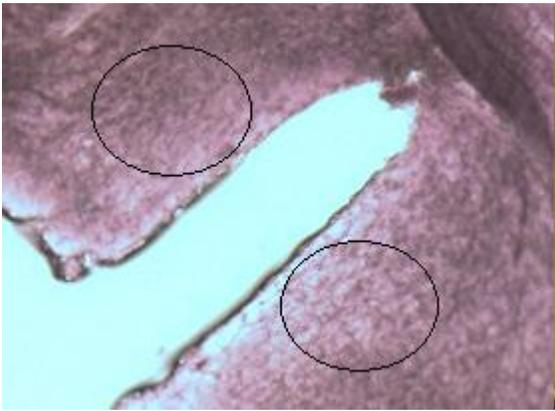


a)

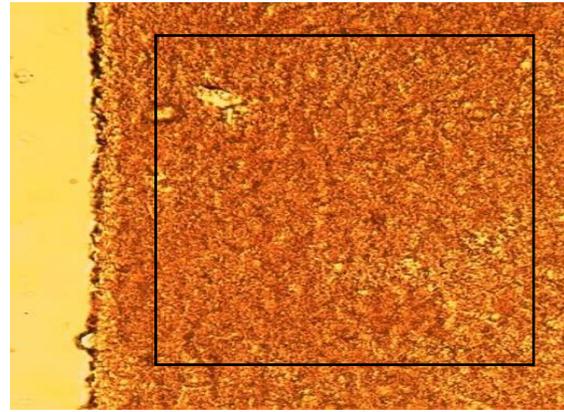


b)

Figura 13. El MPOA con marcas de inmunorreactividad de ER α de un macho con conducta paterna espontánea, a: 10X; b: 40X

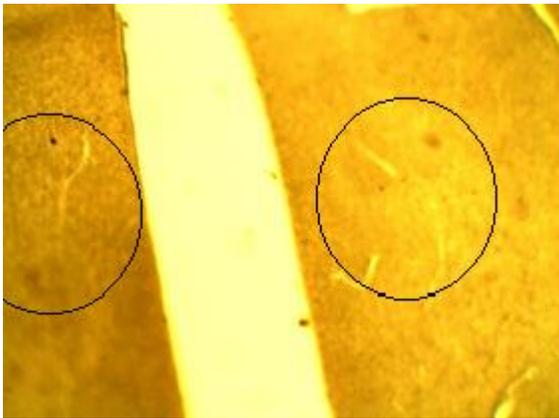


a)

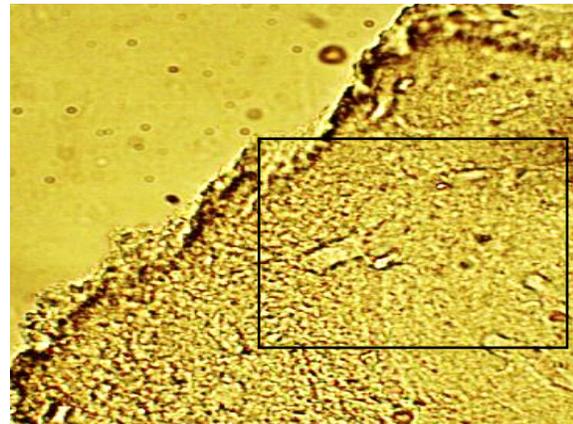


b)

Figura 14. El MPOA con marcas de inmunorreactividad de ER α de un macho agresivo, simulado, a:20X;b: 40X.



a)



b)

Figura 15. El MPOA sin marcas de inmunorreactividad de ER α , corte sin anticuerpo primario, a: 20X; b: 40X.

Concentraciones de testosterona

Los niveles de T en plasma entre los machos con conducta paterna inducida, espontánea y castrados difirieron significativamente ($H= 13.22$, $GL=3$, $P < 0.05$, Figura 16).

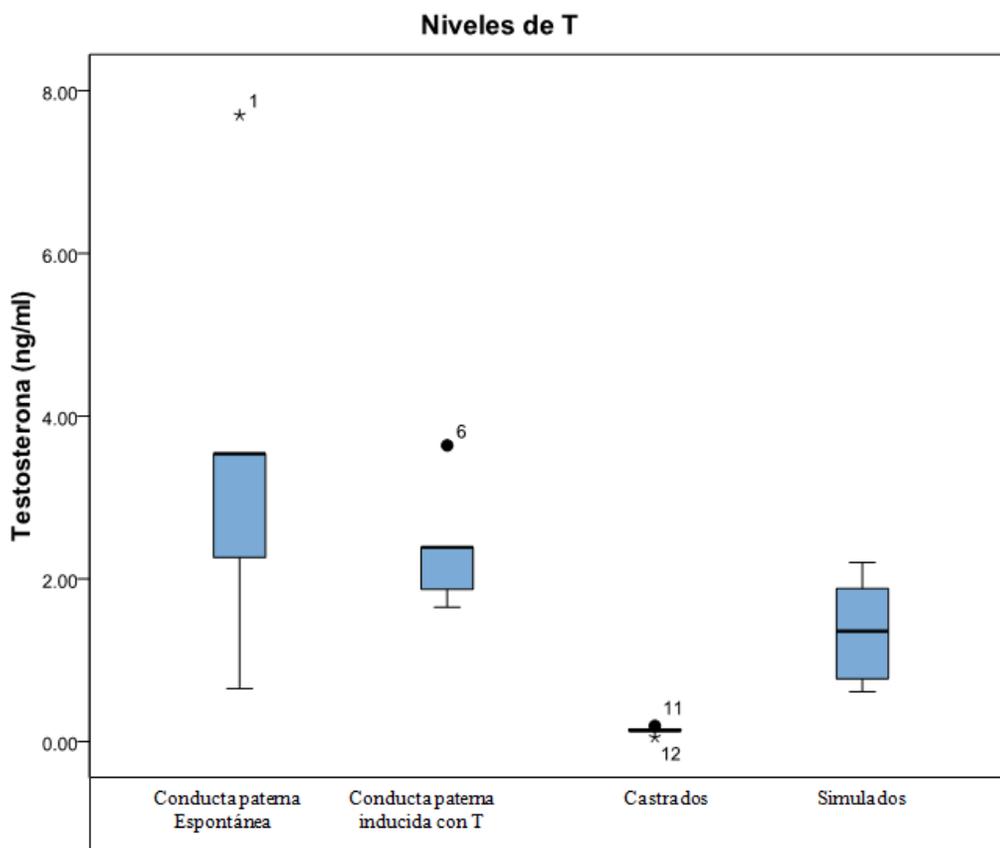


Figura 16. Niveles de T en plasma no fueron significativamente diferentes entre machos con conducta paterna inducida, con conducta paterna espontánea y con procedimiento simulado.

Discusión

Los resultados aquí encontrados mostraron que los machos con conducta paterna espontánea y los machos con conducta paterna inducida tuvieron significativamente una mayor cantidad de ER α en el MPOA, que los machos indiferentes. Estos hallazgos sugieren que los ER α desempeñan una función importante en la regulación de la conducta paterna del gerbo de Mongolia. Otros estudios se ha mostrado que los ER α participan en la regulación de la conducta paterna y materna (Koch y Ehrt, 1988; Wagner y Morrell, 1996; Champagne *et al.*, 2003). En los machos del ratón de laboratorio la presencia de cuidados paternos también está asociada con un aumento en la inmunoreactividad de ER en el MPOA, en comparación con los machos indiferentes (Ehret *et al.*, 1993). Como ya se mencionó, en el topillo mandarín la exhibición de cuidados paternos también está relacionada con una mayor inmunoreactividad de ER α en el MPOA (Jia *et al.*, 2011). Sin embargo, en el hámster enano, roedor que también proporciona cuidados a sus crías, se ha señalado que no hay cambios en la inmunoreactividad de ER α en el MPOA, durante su ciclo reproductivo. Es decir, no se encontró ninguna relación entre la presencia de ER α y la exhibición de cuidados paternos (Timoni *et al.*, 2008). En el topillo mandarín, cuando se compara la inmunorreactividad de ER α en el MPOA, entre dos poblaciones geográficamente separadas: Xinzheng y Chengcun en China; los machos de Xinzheng son más agresivos que los de Chengcun, en esta última los machos acicalan más a las crías que los de Xinzheng. En los machos del Xinzheng se observó una alta inmunoreactividad de ER α en el MPOA en comparación de los de Chengcun (Wu *et al.*, 2010).

Sorprendentemente, los resultados de este estudio mostraron que los machos con procedimiento simulado, que fueron agresivos hacia las crías, presentaron una

inmunorreactividad de ER α , similar a la de los machos paternos. Este resultado es difícil de interpretar, debido a que se esperaba que los machos infanticidas presentaran una menor inmunorreactividad de ER α , que los machos paternos. Además, hasta lo revisado de la literatura, no encontré ningún reporte a este respecto. No obstante, es probable que el MPOA, no sólo forma parte del circuito neural que regula la conducta parental, sino también de la conducta infanticida. Entonces, es posible que el infanticidio y la conducta paterna sean regulados por el mismo circuito neural, en el cual los ER α desempeñen una función en ambas conductas, pero que factores como variaciones pequeñas en los niveles de hormonas, como la T, que regulan esta conducta, o inclusive estímulos procedentes de las crías abran la compuerta hacia la exhibición de cuidados paternos o el infanticidio. Newman (1999), ha planteado que el circuito neural que regula conductas sociales, como la conducta sexual, la agresiva y la parental se sobrelapan, y que estructuras como el MPOA/BST, MeA y LS participan en la regulación de estas conductas, y que dependiendo del estímulo que acceda a ese circuito, se producirá una u otra conducta (Newman, 2002).

Los estrógenos se han relacionado con varias conductas sociales; los receptores nucleares de ER están presentes en las redes neurales, que involucran interconexiones entre el hipotálamo y el núcleo límbico, los cuales participan en la regulación de una variedad de comportamientos sociales (Newman, 1999; Goddson, 2005; O'Connell y Hofmann, 2011). (Björnström y Sjöberg, 2005). La conducta que presenta un organismo ante un estímulo podría ser diferente debido a múltiples factores relacionados con la regulación de los ER y la respuesta de los genes ERs.

Por parte, estos resultados corroboran que la T está involucrada en los mecanismos neuroendocrinos que inhiben el infanticidio y facilitan la exhibición de cuidado paternos,

debido a que como ya fue antes señalado, la administración de T a gerbos agresivos hacia las crías, los convierte en paternales (Martínez *et al.*, 2015). Esto también ha sido observado en otros mamíferos, como el primate tití cabeza de algodón, que muestra niveles urinarios de T elevados, cuando los machos desplegaron conducta paterna (Ziegler y Snowdon, 2001); o el ratón de California, en los cuales machos castrados, tratados con T exhibieron más cuidados paternos (Trainor y Marler, 2001).

Los niveles de T en plasma de los machos con conducta paterna inducida y de aquellos con castración simulada no difirieron significativamente. Estos resultados difieren de lo observado en este roedor, por Martínez *et al.*, 2015, quienes encontraron diferencias significativas en los niveles de esta hormona, entre machos implantados con T y machos con procedimiento simulado. Posiblemente, en este estudio la T del implante, no se liberó en suficientes cantidades para sobrepasar los niveles de los gerbos con castración simulada. No obstante, la cantidad de T liberada fue suficiente para cambiar la conducta agresiva a paternal. También pudo suceder, que la liberación máxima del implante ocurriera, en un momento anterior, al de la toma de la muestra.

Finalmente, se sugiere realizar más investigaciones, en las que se utilicen técnicas que permitan conocer el estado de activación de los ER α , en el momento en el que sea desplegada la conducta paterna.

Conclusiones

- La presencia de ER α en el MPOA está asociada con la exhibición de la conducta paterna en el gerbo de Mongolia.
- El infanticidio también se asoció con la presencia de ER α en el MPOA en el gerbo de Mongolia.
- La T está implicada en la inhibición del infanticidio y la facilitación de los cuidados paternos en el gerbo de Mongolia.

Referencias

- Abraham, I.M., Todman, M.G., Korach, K.S., and Herbison, A.E., 2004. Critical *in vivo* roles for classical estrogen receptors in rapid estrogen actions on intracellular signaling in mouse brain. *Endocrinology*, 145: 3055-3061.
- Ahdieh, H.B., Mayer, A. D., and Rosenblatt, J.S., 1987. Effects of brain antiestrogen implants on maternal behavior and postpartum estrus in pregnant rats. *Neuroendocrinology*, 46: 522-531.
- Berg, J.S., and Wynne-Edwards, E.K., 2001. Changes in testosterone, cortisol and estradiol levels in men becoming fathers. *Clinic Proceedings*, 76: 582-592.
- Bester-Meredith, J.K., Young, L.J., and Marler, C.A., 1999. Species differences in paternal behavior and aggression in *Peromyscus* and their associations with vasopressin immunoreactivity and receptors. *Hormones and Behavior*, 36: 25-38.
- Björnström, L., and Sjöberg, M., 2005. Mechanisms of estrogen receptor signaling: convergence of genomic and nongenomic actions on target genes. *Molecular Endocrinology*, 19: 833-842.
- Bole-Feysot, C., Goffin, V., Edery, M., Binart, N., and Kelly, P.A., 1998. Prolactin (PRL) and its receptor: actions, signal transduction pathways and phenotypes observed in PRL receptor knockout mice. *Endocrine Reviews*, 19: 225-268.
- Bridges, R.S., and Mann, P.E., 2001. Lactogenic hormone regulation of maternal behavior. *Progress in Brain Research*, 133: 251-262.
- Bridges, R.S., Robertson, M.C., Shiu, R.P., Sturgis, J.D., Henriquez, B.M., and Mann, P.E., 1997. Central lactogenic regulation of maternal behavior in rats: steroid dependence, hormone specificity, and behavioral potencies of rar PRL, and rat lactogen. *International Endocrinology*, 138: 756-763.

- Brown, R.E., 1986. Social and hormonal factors influencing infanticide and its suppression in adult male Long-Evans rats (*Rattus norvegicus*). *Journal of Comparative Psychology*, 100: 155-161.
- Brown, R.E., 1992. Responses of dominant and subordinate male rats to the odors of male and female conspecifics. *Aggressive Behavior*, 18: 129-138.
- Brown, R.E., 1993. Hormonal and experiential factors influencing paternal behavior in male rodents: an integrative approach. *Behavioural Processes*, 30: 1-28.
- Brown, R.E., Murdoch, T., Murphy, P., and Moger, W., 1992. Hormonal changes over the reproductive cycle of male Mongolian gerbils (*Meriones unguiculus*) housed in monogamous pairs. *Hormones and Behavior*, 43: 549-553.
- Champagne, F. A., Weaver, I. C. G., Diorio, J., Sharma, S., and Meaney, M.J., 2003. Natural variations in maternal care are associated with estrogen receptor α expression and estrogen sensitivity in the medial preoptic area. *Endocrinology*, 144: 4720-4724.
- Chen, Z., Yuhanna, I. S., Galcheva, Z. G., Karas, R. H., Mendelsohn, M. E., and Shaul, P.W., 1999. Estrogen receptor alpha mediates the nongenomic activation of endothelial nitric oxide synthase by estrogen. *Journal of Clinical Investigation*, 103: 401-406.
- Clark, M.M., vom Saal, F.S., and Calef, B.C., Jr., 1992. Intrauterine positions and testosterone levels of adult male gerbils are correlated. *Physiology Behavior*, 51: 957-960.
- Clemens, L.G., Cladue, B.A., and Coniglio, L.P., 1978. Prenatal endogenous androgenic influences on masculine sexual behavior and genital morphology in male and female rats. *Hormones and Behavior*, 10: 40-53.
- Clutton-Brock, T.H., and Harvey, P.H., 1991. *The evolution of paternal care*. Princeton University Press, 352 pp.

- Cohen, B.J. 1981. Mammalian models for Research on aging. National Academy Press, 587 pp.
- Cohn, J., and Gerall, A.A., 1989. Pre- and postpubertal medial preoptic area lesions and maternal behavior in the rat. *Physiology Behavior*, 46: 333-336.
- Corodimas, K.P., Roseblatt, J.S., Canfield, M.E., and Morrell, J.I., 1993. Neurons in the lateral subdivision of the habenula complex mediate the hormonal onset of maternal behavior in rats. *Behavioral Neuroscience*, 107: 827-843.
- Cushing, B. S., Razzoli, M., Murphy, A. Z., Epperson, P. M., Le, W. W., and Hoffman, G. E., 2004. Intraspecific variation in estrogen receptor alpha and the expression of male sociosexual behavior in tow populatioons of prairie voles. *Brain Research*, 1016: 247-254.
- De Vries, Z., Wang, X., and Ferris, C. F., 1994. The role of septal vasopressin innervation in paternal behavior in prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91: 400-404.
- Dewsbury, D.A., 1981. An exercise in the prediction of monogamy in the field from laboratory data on 42 species of muroid rodents. *The Biologist*, 63: 138-162.
- Dixson, A.F., and George, L., 1982. Prolactin and parental behaviour in a male New World primate. *Nature*, 299: 551-553.
- Duan, Q., Sorooshian, S., and Ibbitt, R.P., 1988. A maximum likelihood criterion for use with data collected at unequal time intervals. *Water Resources Res*, 24: 1163-1173.
- Dudley, D., 1974. Contributions of paternal care to the growth and development of the young in *Peromyscus californicus*. *Behavioral Biology*, 11: 155-166.
- Ehret, G., Jürgens, A., and Koch, M., 1993. Oestrogen receptor occurrence in the male mouse brain: modulation by paternal experience. *Neuroreport*, 4:1247-1250.
- Elwood, R.W., 1975. Paternal and maternal behaviour in the Mongolia gerbil. *Animal Behaviour*, 23: 722-766

- Elwood, R.W., 1980. The development, inhibition and disinhibition of pup-cannibalism in the Mongolian gerbil. *Animal Behaviour*, 28: 1188-1194.
- Elwood, R.W., 1983. Paternal care in rodents. *Paternal care in rodents*. Ed. R. W. Elwood, 257 pp.
- Elwood, R.W., 1986. What makes male mice paternal? *Behavioral and Neural Biology*, 46: 54-63.
- Elwood, R.W., and Ostermeyer, M.C., 1984. Does copulation inhibit infanticide in male rodents? *Animal Behaviour*, 32: 293-294.
- Evans, R. M., 1988. The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Science*, 240: 889-895.
- Farhat, M.Y., Abiyounes, S., Dingaan, B., Vargas, R., and Ramwell, P.W., 1996. Estradiol increases cyclic adenosine monophosphate in rat pulmonary vascular smooth muscle cells by a nongenomic mechanism. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 276: 652-657.
- Fleischer, S., and Slotnick, B.M., 1978. Disruption of maternal behavior in rats with lesions of the septal area. *Physiology Behavior*, 21: 189- 200.
- Fleming, A.S., Miceli, M. and Moretto, D. 1983. Lesions of the medial preoptic area prevent the facilitation of maternal behavior produced by amygdala lesions. *Physiol. Behav.*, 31: 503-510
- Freedman, L. P., 1992. Anatomy of the steroid receptor zinc finger region. *Endocrinology*, 13: 129-145.
- Getz, L.L, Carter, C.S., and Gavish, L., 1981. The mating system of the prairie vole, *Microtus ochrogaster*: field and laboratory evidence for pairbonding. *Behaviour Ecology Sociobiology*, 8: 189-194.

- Getz, L.L., and Carter, C.S., 1996. Monogamy and the prairie vole, *Scientific American*, 268: 100-106.
- Ghosh, D., Griswold, J., Erman, M., and Pangborn, W., 2009. Structural basis for androgen specificity and oestrogen synthesis in human aromatase. *Nature*, 457: 219-23.
- Giordano, A., Whyte, P., Harlow, E., Franza, B. R., Beach, Jr., D., and Draetta, G., 1989. A 60 kdc2-associated polypeptide complexes with the El A proteins in adenovirus-infected cells. *Cellular*, 58: 981-990.
- Goodson, J.L., 2005. The vertebrate social behavior network: evolutionary themes and variations. *Hormones and Behavior*, 48: 11-22.
- Gubernick, D.J., 1990. A maternal chemosignal maintains paternal behavior in the biparental California mouse, (*Peromyscus californicus*). *Animal Behaviour*, 39: 936-942.
- Gubernick, D.J., and Alberts, J.R., 1989. Postpartum maintenance of paternal behaviour in the biparental California mouse, (*Peromyscus californicus*). *Animal Behaviour*, 37: 656-664.
- Gubernick, D.J., and Nelson, R.J., 1989. Prolactin and paternal behavior in the biparental California mouse, (*Peromyscus californicus*). *Hormones and Behavior*, 23: 203-210.
- Gubernick, D.J., Winslow, J.T., Jensen, P., Jeanotte, L., and Bowen, J., 1995. Oxytocin changes in males over the reproductive cycle in the monogamous, biparental California Mouse, *Peromyscus californicus*. *Hormones and Behavior*, 29: 59-73.
- Hall, J. M., Couse, J. F., and Korach, K. S., 2001. The multifaceted mechanisms of estradiol and estrogen receptor signaling. *The Journal of Biological Chemistry*, 276: 36869-36872.

- Huck, U.W., Soltis, R.L., and 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. *Animal Behaviour*, 30: 1158-1165.
- Jakubowski, M., and Terkel, J., 1985. Transition from pup killing to parental behavior in male and virgin female albino rats. *Physiology Behavior*, 34: 683-686.
- Jean-Baptiste, N., Terleph, T.A., and Bamshad, M., 2008. Changes in Paternal Responsiveness of Prairie Voles (*Microtus ochrogaster*) in Response to Olfactory Cues and Continuous Physical Contact with a Female. *Ethology*, 114: 1239-1246.
- Jia, R., Tai, F., An, S., and Zhang, X., 2011. Neonatal paternal deprivation or early deprivation reduces adult parental behavior and central estrogen receptor α expression in mandarin voles (*Microtus mandarinus*). *Behavioural Brain Research*, 224: 279-289.
- Kirkpatrick, B., Carter, C.S., Newman, S.W., and Insel, T.R., 1994. Axon-sparing lesions of the medial nucleus of the amygdala decrease affiliative behaviors in the prairie vole (*Microtus ochrogaster*): behavioral and anatomical specificity. *Behavior Neurociencias*, 108: 501-513.
- Kirkpatrick, B., Kim, J. W., and Insel, T.R., 1994. Limbic system *fos* expression associated with paternal behavior. *Brain Research*, 658: 112-118.
- Kleiman, D.G., and Malcolm J.R., 1981. The evolution of male parental investment in mammals. *Parental care in mammals*. Eds. Gubernick, D.J., Klopfer, P. H., 387 pp.
- Koch, M., and Ehret, G., 1988. Immunocytochemical localization and quantitation of estrogen-binding cells in the male and female (virgin, pregnant, lactating) mouse brain. *Brain Research*, 489: 101-112.
- Korach, K.S., 1994. Insights from the study of animals lacking functional estrogen receptor. *Science*, 266: 1524-1527.

- Koranyi, L., Yamanouchi, K., and Arai, Y., 1988. Neural transection between preoptic area and septum inhibits maternal behavior in female and male rats. *Neuroscience Research*, 6: 167-173.
- Laredo, S. A., Villalon, R. L., and Trainor, B. C., 2014. Rapid effects of estrogens on behavior: Environmental modulation and molecular mechanisms. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 35: 447-458.
- Lee, A.W., and Brown, R.E., 2002. Medial preoptic disrupt parental behavior in both male and female California mice (*Peromyscus californicus*). *Behavior Neuroscience*, 116: 968-975.
- Lee, A.W., and Brown, R.E., 2007. Comparison of medial preoptic, amygdala, and nucleus accumbens lesions on parental behavior in California mice (*Peromyscus californicus*). *Behavioral Neuroscience*, 92: 617-628.
- Liu, M. M., Albanese, C., Anderson, C. M., Hilty, K., Webb, P., Uht, R. M., Price Jr., R.H., Pestell, G.R., and Kushner, P.J., 2002. Opposing action of estrogen receptors alpha and beta on cyclin D1 gene expression. *Journal of Biological Chemistry*, 277: 24353–24360.
- Lonstein J. S., 2005. Reduced anxiety in postpartum rats requires recent physical interactions with pups, but is independent of suckling and peripheral sources of hormones. *Hormones and Behavior*, 47: 241-255.
- Márquez, D. C., 2001. Receptor de estrógeno: bases moleculares aplicadas a medicina. Univ. De California, Escuela de Medicina, División de Hematología y Oncología, 13 pp.
- Martínez, A., Ramos, G., Martínez-Torres, M., Nicolás, L., Carmona, A., Cárdenas, M., and Luis, J., 2015. Paternal behaviour in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*) estrogenic and androgenic regulation. *Hormones and Behavior* (En proceso de publicación)

- McCarthy, M.M., Kow, L.M., and Pfaff, D.W., 1992. Speculations concerning the physiological significance of central oxytocin in maternal behavior. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 652: 70-82.
- McLeod, P.J., and Brown, R.E., 1988. The effects of prenatal stress and postweaning housing conditions on parental and sexual behavior of male Long-Evans rats. *Psychobiology*, 16: 372-380.
- Meek, L. R., Romeo, R. D., Novak, C. M., and Sisk, C. L. 1997. Actions of testosterone in prepubertal and postpubertal male hamsters: dissociation of effects on reproductive behavior and brain androgen receptor immunoreactivity. *Hormones and Behavior*, 31:75-88.
- Mendelson, M. E., and Karas, R.H., 1999. The protective effects of estrogen on the cardiovascular system (review). *New England Journal of Medicine*, 340: 1801-1811.
- Nakajima, T., Kitazawa, T., Hamada, E., Hazama, H., Omata, M., and Kurachi, Y., 1995. 17β -Estradiol inhibits the voltage-dependent L-type Ca^{2+} currents in aortic smooth muscle cells. *European Journal of Pharmacology*, 294: 625-635.
- Newman, S.W., 1999. The medial extended amygdala in male reproductive behavior: a node in the mammalian social behavior network. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 877: 63-72.
- Newman, S.W., 1999. The medial extended amygdala in male reproductive behavior. A node in the mammalian social behavior network. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 877: 242-257.
- Numan, M., 1988. Maternal Behavior. In: Knobil, E., Neill, J., Ewing, L., Greenwald, G., Markert, C., Pfaff, D. (Eds.), *The Physiology of reproduction*. Raven Press, New York, 1569-1654. pp.
- Numan, M., 1990. Neural control of maternal behavior. *Mammalian parenting: Biochemical, neurobiological determinants*. (Ed) Roberts. Oxford University, 502 pp.

- Numan, M., and Corodimas, K.P., 1985. The effects of paraventricular hypothalamic lesions on maternal behavior in rats. *Physiology and Behavior*, 35: 417-425.
- Numan, M., Corodimas, K. P., and Piers, W. D. 1988. Axon-sparing lesions of the preoptic region and substantia innominata disrupt maternal behavior in rats. *Behavior Neuroscience*, 102: 381-396.
- Numan, M., Corodimas, K.P., Numan, M.J., Factor, E.M., and Piers, W.O., 1988. Axon-sparing lesions of the preoptic region and substantia innominate disrupt maternal behavior in rats. *Behavioral Neuroscience*, 102: 381-396.
- O'Connell, L.A., and Hofmann, H.A., 2011. The vertebrate mesolimbic reward system and social behavior network: a comparative synthesis. *Journal of Comparative Neurology*, 519: 3599-3639.
- Ogawa, S., Lubahn, D.B., Korach, K.S., and Pfaff, D.W., 1997. Behavioral effects of estrogen receptor gene disruption in male mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 1476-1481.
- Ogawa, S., Washburn, T.F., Taylor, J., Lubahn, D.B., Korach, K.S., and Pfaff, D.W., 1998. Modifications of testosterone-dependent behaviors by estrogen receptor- α gene disruption in male mice. *Endocrinology*, 139: 5058-5069.
- Okabe, S., Kitano, K., Nagasawa, M., Mogi, K., and Kikusui, T., 2013. Testosterone inhibits facilitating effects of parenting experience on parental behavior and the oxytocin neural system in mice. *Physiology and Behavior*, 118: 159-164.
- Olazábal, D.E., and Young, L.J., 2006. Oxytocin receptors in the nucleus accumbens facilitate "spontaneous" maternal behavior in adult female prairie voles. *Neuroscience*. 141: 559-568.

- Oliveras, D., and Novak, M., 1986. A comparison of paternal behaviour in the meadow vole *Microtus pennsylvanicus*, the pine vole *M. pinetorum* and the prairie vole *M. ochrogaster*. *Animal Behaviour*, 34: 51 V-526.
- Paxinos, G., and Watson C., 2004. The rat brain in stereotaxic coordinates. Eds. El Sivier. Halasz, P. y Tsalis, L., 367 pp.
- Perrigo, G., Bryant, W.C., and vom Saal, F.S., 1989. Fetal, hormonal and experiential factors influencing the mating-induced regulation of infanticide in house mice. *Physiology Behavior*, 46: 121-128.
- Pietras, R. J., and Szego, C. M., 1980. Partinal purification and characterization of oestrogen receptors in subfractions of hepatocyte plasma membranes. *Biochemical Journal*, 191: 743-760.
- Pietras, R. J., Arboleda, J., Reese, D. M., Wongvipat, N., Pegram, M. D., Ramos, L., Gorman, C. M., Parker, M. G., Sliwkowski, M. X., and Slamon, D. J., 1995. HER-2 tyrosine kinase pathway targets estrogen receptor and promotes hormone-independent growth in human breast cancer cells. *Oncogene*, 10: 2435-2446.
- Reburn, C.J., and Wynne-Edwards K.E. 1999. Hormonal changes in males of a naturally biparental and a uniparental mammal. *Hormones and Behavior*, 35: 163-176.
- Ren, J., and Wu, J.H., 2012. 17Beta-estradiol rapidly activates calcium release from intracellular stores via the GPR30 pathway and MAPK phosphorylation in osteocyte-like MLO-Y4 cells. *Calcified Tissue International*, 90: 411-419.
- Roberts, R.L., Cushing, B.S., and Carter, C.S., 1998. Intraspecific variation in the induction of female sexual receptivity in prairie voles. *Physiology and Behavior*, 64: 209-212.
- Rosenblatt, J.S., and Ceus, K., 1998. Estrogen implants in the medial preoptic area stimulate maternal behavior in male rats. *Hormones and Behavior*, 33: 23-30.

- Rosenblatt, J.S., Hazelwood, S., and Poole, J., 1996. Maternal behavior in male rats: Effects of medial preoptic area lesions and presence of maternal aggression. *Hormones and Behavior*, 30: 201-215.
- Rosenblatt, J.S., Wagner, C.K., and Morrell, J.I. 1994. Hormonal priming and triggering of maternal behavior in the rat with special reference to the relations between estrogen receptor binding and ER mRNA in specific brain regions. *Psychoneuroendocrinology*, 19: 543-52.
- Schneider, J.S., Stone, M.K., Wynne-Edwards, K.E., Horton, T.S., Bert O'Malley, J.L., and Levine, J.E., 2003. Progesterone receptors mediate male aggression toward infants. *The National Academy of Sciences*, 100: 2951-2956.
- Schum, J.E., and Wynne-Edwards, K.E. 2005. Estradiol and progesterone in paternal and non-paternal hamsters (*Phodopus*) becoming fathers: conflict with hypothesized roles. *Hormones and Behavior*, 47: 410-8.
- Slotnick, B.M., and Nigrosh, B.J., 1975. Maternal behavior of mice with cingulate, cortical, amygdala, or septal lesions. *Journal Comparative and Physiological Psychology*, 88: 118-127.
- Sodersten, P., and Eneroth, P., 1984. Effects of exposure to pups on maternal behaviour, sexual behaviour and serum prolactin concentrations in male rats. *Journal Endocrinology*, 102: 115-119.
- Song, Z., Tai, F., Yu, C., Wu, R., Zhang, X., Broders, H., He, F., and Guo, R., 2010. Sexual or paternal experiences alter alloparental behavior and the central expression of ER α and OT in male mandarin voles (*Microtus mandarinus*). *Behavioural Brain Research*, 214: 290-300.

- 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 Behaviour*, 36: 1275-1281.
- Stefano, G. B., Prevot, V., Beauvillain, J. C., Fimiani, C., Welters, I., Cadet, P., Breton, C., Pestel, J., Salzet, J., and Bilfinger, T. V., 1999. Estradiol coupling to human monocyte nitric oxide release is dependent on intracellular calcium transients: evidence for an estrogen surface receptor. *Journal of Immunology*, 163: 3758-3763.
- Sturgis, J. D., and Bridges, R. S., 1997. N-methyl-DL-aspartic acid lesions of the medial preoptic area disrupt ongoing parental behavior in male rats. *Physiology and Behavior*, 62: 305–310.
- Timonin, M.E., Cushing, B.S., and Wynnw-Edwards, K.E., 2008. In three brain regions central to maternal behavior, neither male nor female *Phodopus* dwarf hamsters show changes in oestrogen receptor alpha distribution with mating or parenthood. *Journal of Neuroendocrinology*, 20: 1301-1309.
- Towart, L.A., Alves, S.E., Znamensky, V., Hayashi, S., McEwen, B.S., and Milner, T.A., 2003. Subcellular relationships between cholinergic terminals and estrogen receptors in the dorsal hippocampus. *Journal of Comparative Neurology*, 463: 390-401.
- Towle, A.C., and Sze, P.Y., 1983. Steroid binding to synaptic plasma membrane: differential binding of glucocorticoids and gonadal steroids. *Journal of Steroid Biochemistry*, 18: 135-143.
- Trainor, B. C., and Marler, C.A., 2002. Testosterone promotes paternal behaviour in a monogamous mammal via conversion to oestrogen. *Proceedings of the Royal Society.*, 269: 823-829.

- Trainor, B.C., and Marler, C.A., 2001. Testosterone, paternal behavior, and aggression in the monogamous California mouse (*Peromyscus californicus*) uniparental mammal. *Hormones and Behavior*, 35: 163-176.
- Trainor, B.C., Bird, I.M., 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: 36-44.
- Valenstein, E.S., and Young, W.C., 1955. An experimental factor influencing the effectiveness of testosterone propionate in eliciting sexual behavior in male guinea pigs. *Endocrinology*, 56: 173-185.
- vom Saal, F.S., 1983. Variation in infanticide and parental behavior in male mice due to prior intrauterine proximity to female fetuses: Elimination by prenatal stress. *Physiology Behavior*, 1983: 655-681.
- Wagner, C.K., and Morrel, J.L., 1996. Levels of estrogen receptor immunoreactivity are altered in behavioral-relevant brain regions in female rats during pregnancy. *Brain Research*, 42: 328-336.
- Walsh, B. T., 1991. Treatment of bulimia nerviosa with antidepressant medication. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 11: 231-232.
- Ward, I.L., and Weisz, J., 1984. Differential effects of maternal stress on circulating levels of corticosterone, progesterone, and testosterone in male and female rat fetuses and their mothers. *Endocrinology*, 114: 1635-1644.
- Warren, J., 2011. Fecha de consulta: 2015. www.warrenphotographic.co.uk
- Watters, J.J., Campbell, J.S., Cunningham, M.J., Krebs, E.G., and Dorsa, D.M., 1997. Rapid membrane effects of steroids in neuroblastoma cells: effects of estrogen on mitogen activated protein kinase signalling cascade and c-fos immediate early gene transcription. *Endocrinology*, 138: 4030-4033.

- Woodroffe, R. and Vicent, A., 1994. Mother's little helpers: patterns of male care in mammals. *Trends in Ecology and Evolution*, 9: 294-297.
- Wright, S.L., and Brown, R.E., 1992. The importance of paternal care for pup survival and development in two species of mice (*Mus musculus* and *Peromyscus californicus*). Paper presented at the 24th Conference on Reproductive Behavior, Halifax, N.S., June.
- Wu, R., Yuan, A., Yuan, O., Guo, R., Tai, F., Song, Z., and Yu, C. 2010. Comparison of sociability, parental care and central estrogen receptor alpha expression between two populations of mandarin voles (*Microtus mandarinus*). *Journal of Comparative Physiology*, 197: 267-277.
- Wynne-Edwards, K.E., 2010. Parental behavior and hormones in mammals. In: Breed D. M., Moore J. (Eds). *Encyclopedia of animal behavior*. Elsevier, 657-663 pp.
- Wynne-Edwards, K.E., and Lisk, R.D., 1989. Differential effects of paternal presence on pup survival in two species of dwarf hamster (*Phodopus sungoris* and *Phodopus campbelli*). *Physiology and Behavior*, 45: 465-469.
- Ziegler, T.E., and Snowdon, C.T., 2001. Preparental hormone levels and parenting experience in male cotton-top tamarins (*Saguinus oedipus*). *Hormones and Behavior*, 38: 59-167.
- Ziegler, T.E., Wegner, F.H., and Snowdon, C.T., 1996. Hormonal responses to parental and Nonparental Conditions in Male Cotton Top Tamarins, *Saguinus oedipus*, a New World Primate. *Hormones and Behavior*, 30: 287-297.
- Zyzek, E., Dufy, B. L., Dufy, B., and Vincent, J.D. 1981. Short-term effect of estrogen on release of prolactin by pituitary cells in culture. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 102: 1151-7

Apéndice

Niveles de T de gerbos de receptores α

Prueba de Kruskal-Wallis: C2 vs. C1

Prueba de Kruskal-Wallis en C2

| C1 | N | Mediana | Clasificación del promedio | Z | |
|---------|----|---------|-------------------------------|-------|------------|
| 1 | 5 | 3.5300 | 15.0 | 1.96 | Paternales |
| 2 | 5 | 2.3860 | 14.4 | 1.70 | Con T |
| 3 | 5 | 0.1300 | 3.0 | -3.27 | Castrados |
| 4 | 5 | 1.3560 | 9.6 | -0.39 | Simulados |
| General | 20 | | 10.5 | | |

H = 13.22 GL = 3 P = 0.004

H = 13.25 GL = 3 P = 0.004 (ajustados para los vínculos)

P de Bonferroni:

P=0.0083

Receptores α estrogénicos

Prueba de Kruskal-Wallis en C2

| C1 | N | Mediana | Clasificación del promedio | Z | |
|---------|-----|---------|-------------------------------|-------|--------------|
| 1 | 26 | 14.911 | 94.7 | 4.42 | Paternales |
| 2 | 26 | 14.843 | 95.4 | 4.53 | Con T |
| 3 | 26 | 1.288 | 16.8 | -7.37 | Castrados |
| 4 | 26 | 12.268 | 79.9 | 2.18 | Simulados |
| 5 | 26 | 5.208 | 40.7 | -3.76 | Indiferentes |
| General | 130 | | 65.5 | | |

H = 90.54 GL = 4 P = 0.000

H = 90.55 GL = 4 P = 0.000 (ajustados para los vínculos)

P de Bonferroni:

P=0.005

Receptores α de gerbos

Prueba de Mann-Whitney

P=paternales espontáneos

T=tratamiento con T

C=Castrados

S=Simulados

I=Indiferentes

N Mediana

p 26 14.911
T 26 14.843

La estimación del punto para ETA1-ETA2 es -0.136
95.1 El porcentaje IC para ETA1-ETA2 es (-2.304,1.898)
W = 682.0
Prueba de ETA1 = ETA2 vs. ETA1 no es = ETA2 es significativa en 0.9053
La prueba es significativa en 0.9053 (ajustado por empates)

| | | | | |
|---------|----|--------|------|-------|
| 17.0800 | 1 | 10.573 | 2.0 | -1.53 |
| 17.8933 | 1 | 21.147 | 25.0 | 1.53 |
| 19.3844 | 1 | 14.640 | 11.5 | -0.27 |
| 20.1978 | 1 | 15.996 | 18.0 | 0.60 |
| 20.4689 | 1 | 12.878 | 7.0 | -0.87 |
| 20.7400 | 1 | 11.116 | 3.0 | -1.40 |
| 23.3156 | 1 | 12.607 | 6.0 | -1.00 |
| 25.2133 | 1 | 20.062 | 24.0 | 1.40 |
| General | 26 | | 13.5 | |

| | N | Mediana |
|---|----|---------|
| T | 26 | 14.843 |
| C | 26 | 1.288 |

La estimación del punto para ETA1-ETA2 es 13.513
95.1 El porcentaje IC para ETA1-ETA2 es (11.794,14.776)
W = 1025.0
Prueba de ETA1 = ETA2 vs. ETA1 no es = ETA2 es significativa en 0.0000
La prueba es significativa en 0.00001 (ajustado por empates)

| | N | Mediana |
|---|----|---------|
| T | 26 | 14.843 |
| S | 26 | 12.268 |

La estimación del punto para ETA1-ETA2 es 2.711
95.1 El porcentaje IC para ETA1-ETA2 es (0.136,5.276)
W = 804.5
Prueba de ETA1 = ETA2 vs. ETA1 no es = ETA2 es significativa en 0.0353
La prueba es significativa en 0.0353 (ajustado por empates)

| | N | Mediana |
|---|----|---------|
| T | 26 | 14.843 |
| I | 26 | 5.208 |

La estimación del punto para ETA1-ETA2 es 9.910
95.1 El porcentaje IC para ETA1-ETA2 es (8.133,11.816)
W = 1008.0
Prueba de ETA1 = ETA2 vs. ETA1 no es = ETA2 es significativa en 0.0000
La prueba es significativa en 0.00001 (ajustado por empates)

P de Bonferroni=0.005

Abreviaturas

| | |
|---|---|
| AHA: Área anterior del hipotálamo | ERK: elemento de fosforilación que regulan las quinasas |
| ARC: Núcleo arqueado del hipotálamo | ER α : Receptores estrogénicos alfa |
| BA: Amígdala basolateral | ER β : Receptores estrogénicos beta |
| BNST: Base del núcleo de la estría terminal | FAD: Fadrozole |
| BSTd: Base dorsal de la estría terminal | GC: Guanilato ciclasa |
| BSTv: Base ventral de la estría terminal | HVM: Núcleo ventromedial del hipotálamo |
| CA: Núcleo cortical de la amígdala | IH: Técnica de inmunohistoquímica |
| cGMP: GMP cíclico | LDL: Lipoproteína de baja densidad |
| CRT: Cortisol | MAPK: Proteína quinasa activada por mitógenos |
| DHT: Dihidrotestosterona | MeA: Amígdala media |
| E: Estrógenos | MeApd: Amígdala media posterodorsal |
| E ₂ : Estradiol | mMeA: Núcleo de la amígdala media |
| E2-BSA: Estradiol 17 β -acoplado a albumina | MPN: Núcleo preóptico medio |
| ER: Receptores de estrógeno | MPOA: Área preóptica media |
| EREs: Elementos de respuesta de estrógenos | NA: Núcleo accumbens |
| | NMDA: Ácido aspártico N-metil-DL |

OT: Oxitocina

OT-ir: Inmunoreactividad a OXT

P₄: Progesterona

PRL: Prolactina

PVG: Región periventricular lateral y ventral

PVN: Núcleo paraventricular del hipotálamo

T: Testosterona

VMH: Hipotálamo ventromedial

VP: Vasopresina