



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
MAESTRÍA EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGÍA)
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

EFFECTO DE LA EXPERIENCIA SEXUAL SOBRE EL ESTADO AFECTIVO POSITIVO
INDUCIDO POR LA CÓPULA EN LA HEMBRA.

TESIS

Que para optar por el grado de:
MAESTRO EN CIENCIAS
(NEUROBIOLOGÍA)

PRESENTA:

BIOL. ISID ENRIQUE MIN POBLETE

TUTOR PRINCIPAL

Dr. Raúl G. Paredes Guerrero
Instituto de Neurobiología.

Campus Juriquilla, Querétaro Abril 2017



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.

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Conducta sexual y plasticidad cerebral (D 11) perteneciente al Departamento de Neurobiología Cognitiva y Conductual del Instituto de Neurobiología de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México que me dio nuevamente la oportunidad de desarrollarme profesionalmente con calidad y eficiencia durante la maestría en ciencias (neurobiología) en el Instituto de Neurobiología. De igual forma al Dr. Raúl Paredes que sin sus consejos y guía esta tesis habría sido realizada.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico brindado durante mi estancia en la maestría (Becario No. 330866, CVU No. 580263).

A los financiamientos de DGAPA IN210215 y CONACYT 167101 que hicieron posible este proyecto.

A los sinodales de esta tesis y a mi comité tutor durante la maestría: Dr. José Alonso Fernández Guasti, Dr. Carlos Valverde Rodríguez y Dr. Pavel Ernesto Rueda Orozco, la Dra. María Teresa Morales Guzmán y el Dr. Gonzalo Martínez de la Escalera, gracias a sus consejos objetivos, esta tesis pudo ser realizada.

A la supervisión técnica del M. V. Z. Francisco Javier Camacho: técnico, colega y amigo.

Al posgrado y administrativos del Instituto de Neurobiología: Leonor Casanova y Guadalupe Amador fueron un salvavidas dentro del sistema.

A la biblioteca y a su personal por su eficiente servicio: Dr. Francisco J. Valles Valenzuela y a la Lic. Teresa Soledad Medina Malagón.

Al servicio de Cómputo del Instituto de Neurobiología que siempre brindó una excelente atención: Ing. Sandra Hernández García, ISC. Omar González Hernández, Ing. Ramón Martínez Olvera y M. en C. Alberto Lara Rubalcaba.

La Unidad de video conferencia dirigida por Lic. Lourdes Lara.

Al Bioterio: su encargado Martín García Servín, con asistencia de Alejandra Castilla León.

Los miembros del grupo de trabajo del D11: la Dra. Portillo, Alan, Alejandro, Kevin, Tere, Omar, Yose, Fernanda, Reynaldo, Marie, Marianela, Lucía, Ely, Tania, Gina, Miriam, Rebe, Pau, Edwards y Felipe.

De igual modo quisiera agradecer a mi familia que siempre ha estado pendiente de mí, con su cariño y consejos me han dado ánimos para seguir adelante y nunca rendirme.

A mis veranos: Sandra Manzo y Mauricio Sánchez, no sólo por darme la oportunidad de enseñarles. Además, yo aprendí más de ellos.

A mis amigos y equipo que hicieron mi estancia en el Instituto de Neurobiología más amena y enriquecedora: América, Maricarmen, Melani, Víctor, Poncho, Mayra, Martha, Itza, Lex, Pao, Zeus, Dina, Edna, César, Jaime y Toño.

Y a todas aquellas personas que de una u otra forma me apoyaron solidaria y moralmente.

Índice

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
1 INTRODUCCIÓN	3
2 ANTECEDENTES	4
2.1 CICLO ESTRAL DE LA RATA.....	4
2.1.1 <i>Etapas del ciclo estral</i>	4
2.1.2 <i>Bases hormonales del ciclo estral</i>	6
2.2 SEÑALES OLFATORIAS SEXUALMENTE RELEVANTES.....	9
2.3 PATRONES DE CONDUCTA SEXUAL FEMENINA	11
2.3.1 <i>Proceptividad y receptividad</i>	11
2.3.2 <i>Cópula regulada (CR, pacing)</i>	14
2.3.3 <i>La cópula regulada como reforzador</i>	16
2.4 CONDICIONAMIENTO DE PREFERENCIA DE LUGAR Y CÓPULA REGULADA	17
3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	19
3.1 HIPÓTESIS.....	20
3.2 OBJETIVO GENERAL.....	20
3.2.1 <i>Objetivos particulares</i>	20
4 MÉTODO	21
4.1 ANIMALES	21
4.2 GRUPOS EXPERIMENTALES	22
4.2.1 <i>Pruebas Conductuales</i>	23
4.3 PARÁMETROS CONDUCTUALES.....	27
4.4 CONDICIONAMIENTO DE PREFERENCIA DE LUGAR (CPL)	29
4.4.1 <i>Evaluación del estado afectivo positivo por medio del CPL</i>	32
4.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	35
5.1 EXPERIMENTO A. REFORZAMIENTO CADA 5 DÍAS.....	36
5.1.1 <i>Parámetros conductuales</i>	36
5.1.2 <i>Condicionamiento de preferencia de lugar</i>	41
5.2 EXPERIMENTO B. REFORZAMIENTO CADA 2 DÍAS.....	42
5.2.1 <i>Parámetros conductuales</i>	42
5.2.2 <i>Condicionamiento de preferencia de lugar</i>	47
5 RESULTADOS	36
6 DISCUSIÓN	48
7 CONCLUSIÓN	52
8 BIBLIOGRAFÍA	53
9 ÍNDICE DE TABLAS, FIGURAS Y NOMENCLATURA	60
9.1 ÍNDICE DE FIGURAS	60
9.2 ÍNDICE DE TABLAS	60
9.3 NOMENCLATURA	61

Resumen

En condiciones naturales o seminaturales la hembra regula los contactos sexuales, cuando interactúa con un macho. Cuando esto se analiza en condiciones de laboratorio se conoce como cópula regulada (CR). Cuando la rata hembra regula estos contactos se genera un estado afectivo positivo (EAP), inferido por el condicionamiento de preferencia de lugar (CPL). El EAP se ha observado en hembras sin experiencia sexual, pero se desconoce el efecto de esta experiencia sobre la generación del EAP. El objetivo de esta tesis es determinar si en las hembras con amplia experiencia sexual la CR y la no regulada (CNR) generan un EAP. Para ello, se utilizaron ratas hembra ovariectomizadas inyectadas con estradiol y progesterona. Diferentes grupos de hembras copularon una vez por semana, durante 7 semanas, bajo condiciones de CR, CNR y un tercer grupo fue expuesto a un macho sexualmente experto con el que no podían tener contacto físico. Para evaluar el EAP utilizamos el CPL durante 3 sesiones con diferentes intervalos, cada cinco o cada dos días, entre cada sesión de reforzamiento. Los resultados muestran que, las hembras reforzadas cada cinco días generan un EAP cuando regulan o no la cópula, pero no cuando sólo fueron expuestas al macho. Por otro lado, ningún grupo de las hembras reforzadas cada dos días desarrollan un EAP. Estos resultados sugieren que las propiedades reforzantes de la cópula pueden cambiar dependiendo de la experiencia sexual y el intervalo de reforzamiento.

Abstract

When the male rat controls the rate of sexual interactions, this condition is known as non paced mating (no-pacing) by the female. However, it has been shown that the female has the possibility to pace the rate of sexual interactions; this condition is known as paced mating (pacing) by the female. Pacing induces a reward state in the female evaluated by the conditioned place preference (CPP) paradigm. The rewarding state has been observed in sexually naive females, but the effects of sexual experience upon the reward state induced by paced mating are unknown. So, the aim of the present study is to evaluate if after sexual experience, in paced or non-paced mating conditions the females develop a rewarding state, measured by CPP. Wistar female rats were ovariectomized and were injected with estradiol and progesterone. The rewarding sessions of the CPP can be done at different intervals. We made two experiments: A) reinforced every 5 days and B) reinforced every other day. Each experiment had the following groups: paced, non-paced and exposed to a sexually experienced male. As sexual experience the female rats were exposed to seven sexual behavioral tests. Then three sexual behavioral tests more were used as CPP's reinforcements. The results showed that the rewarding state generated by mating depends on the sexual experience and the reinforcement interval. A reinforcement interval every five days produced a rewarding state in the pacing and no-pacing groups. On other hand, when females were rewarded (mated) every other day no rewarding state was generated. These results suggest that the rewarding proprieties of mating can change depending on the animal's sexual experience and the reinforcement interval.

1 Introducción

Desde un punto de vista evolutivo la función reproductiva es fundamental para la supervivencia de las especies. Sin embargo, para el individuo la conducta sexual no tiene un propósito, más que, su propia ejecución (Agmo y col., 2004). En la conducta sexual de los mamíferos, se pueden distinguir dos etapas: La primera etapa es la motivacional, en la cual el individuo comienza la interacción con la hembra. La segunda etapa es de ejecución, en la cual se presentan una serie de conductas fácilmente identificables (Agmo, 1999).

En la rata hembra el despliegue de la conducta sexual es altamente dependiente de las hormonas esteroides: estradiol y progesterona. El control de las concentraciones de estas hormonas depende del parte del eje hipotálamo-hipófisis-ovario. En las hembras, la concentración de estas hormonas varía en un ciclo reproductivo, conocido como ciclo estral. El ciclo estral tiene una duración de 4 a 5 días, pasando por 4 estados, caracterizados por una citología vaginal particular. El ciclo estral se elimina si se retiran los ovarios. Pero, se puede expresar la conducta sexual en una rata ovariectomizada siempre y cuando se inyecten las concentraciones adecuadas de estradiol y progesterona (Freeman, 2006).

Se ha descrito que, la rata hembra puede regular la estimulación vagino-cervical que recibe aumentando la posibilidad de quedar preñada y aumentando el número de crías, en comparación con las hembras que no regulan la conducta (Erskine, 1989). Aunado a esto, cuando la hembra regula los contactos copulatorios se genera un estado afectivo positivo inferido por el condicionamiento de preferencia de lugar (Paredes y Alonso, 1997). No obstante, los efectos que tiene la experiencia sexual sobre el estado afectivo positivo generado por el control de la estimulación sexual en las hembras se desconocen. Así mismo, se desconoce si la experiencia sexual puede generar un estado afectivo positivo, en las ratas hembras que no pueden regular la frecuencia de los contactos copulatorios. Por lo que, el presente estudio tiene como objetivo indagar el efecto de la experiencia sexual sobre las propiedades reforzantes de la cópula cuando la hembra regula los contactos copulatorios o cuando el macho es el que regula la estimulación sexual. El estado afectivo positivo fue inferido por medio del condicionamiento de preferencia de lugar.

2 Antecedentes

2.1 Ciclo estral de la rata

2.1.1 Etapas del ciclo estral

En las hembras de los mamíferos los ciclos reproductivos tienen diferente duración, según la especie de la cual se esté hablando. Estos ciclos reproductivos pueden ser catalogados como anuales, menstruales o estacionales. En los monos, simios y seres humanos se describen ciclos menstruales. Por otro lado, en los roedores se habla de ciclos estrales (Schwartz, 2000). La palabra estro es una adaptación de la palabra *oistros* que significa frenesí y fue utilizada por primera vez por Heape (1900), para describir el periodo en el que la rata hembra se encuentra sexualmente receptiva a una rata macho. Se utiliza el término *anestrus* para el periodo de no reproducción, cuando aparentemente los ovarios y los otros órganos reproductores están en estado latente. Heape (1900) describió los estadios del ciclo e identificó cuatro etapas, caracterizadas por la citología vaginal: el proestro, el estro, el metaestro y el diestro (Freeman, 2006).

Se le llama proestro a la etapa en el que la hembra es receptiva a un macho. El proestro abarca las horas anteriores y posteriores al valor máximo en la concentración de gonadotropinas, la siguiente fase es llamada estro. Durante las primeras horas del estro, ocurre el desprendimiento del ovocito de folículo maduro, este fenómeno es conocido como ovulación. En caso de que no ocurra fecundación, las hembras entran en un período de recuperación llamado metaestro o diestro-1. El siguiente estadio del ciclo es conocido como diestro o diestro-2, cuya duración varía dependiendo de la especie. Posterior a esta fase el ciclo comienza de nuevo (Freeman, 2006).

La rata tiene una ovulación espontánea que ocurre cada 4 o 5 días. Existe una correlación entre la etapa del ciclo estral y la citología presente en un frotis vaginal (Fig.1). El proestro está caracterizado por la presencia de células epiteliales nucleadas. Al día siguiente, en el estro, el tipo celular dominante son células epiteliales "cornificadas". El tipo celular característico del diestro-1 son los leucocitos, los cuales aparecen en un número mayor que los otros tipos celulares. Por último, en el diestro-2 se presentan los tres tipos celulares. De la misma manera, existe una relación entre la citología vaginal y los cambios cíclicos que presentan los ovarios respecto a la liberación de hormonas esteroides (Freeman, 2006).

La conducta de copula ocurre cuando la hembra se encuentra en el *período de receptividad sexual*, este período comienza al final de la etapa del proestro y principio de la etapa del estro. Durante este período las concentraciones de estrógenos y progesterona incrementan paulatinamente debido a que estas hormonas son secretadas por el cuerpo lúteo en los ovarios. El cuerpo lúteo es una estructura formada por el folículo maduro después de haber liberado al ovocito. El incremento en la concentración de estradiol y progesterona prepara al organismo para la fertilización (Fig. 2). En ausencia de estímulos asociados con la cópula, el cuerpo lúteo degenera y nuevos folículos comenzarán su desarrollo durante el diestro I y diestro II (Freeman, 2006; Nelson, 2000).

Las ratas hembra se aproximan a los machos con mayor frecuencia cuando se encuentran en la etapa de proestro. La aproximación de la hembra hacia el macho, el ciclo estral y la conducta sexual se eliminan al remover los dos ovarios. Sin embargo, tanto el estro como la conducta sexual pueden inducirse en ratas ovariectomizadas (OVX) cuando se inyectan las concentraciones adecuadas de estradiol y progesterona (Freeman, 2006; Nelson, 2000).

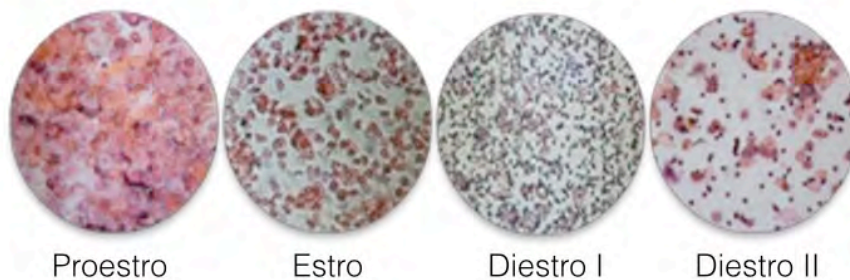


Figura 1. Los diferentes tipos celulares que se pueden observar en un frotis vaginal. El proestro está caracterizado por células nucleadas y redondas. En el día del estro se pueden observar células cornificadas. Pero, en los días del diestro I y II el tipo celular dominante son los leucocitos. Tomado de Min-Poblete, 2013.

2.1.2 Bases hormonales del ciclo estral

El ciclo estral inicia con la secreción de la hormona liberadora hipotalámica de gonadotropinas (GnRH). La GnRH es liberada desde el hipotálamo, al sistema porta hipotálamo-hipofisiario. Este sistema de circulación local consiste en, un conjunto de vasos sanguíneos minúsculos, este sistema porta conecta la eminencia media del hipotálamo con la adenohipófisis. Las células especializadas de la adenohipófisis, llamadas gonadotropos, son estimuladas por la GnRH, la cual, promueve la liberación de la hormona folículo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH) por parte de los gonadotropos. Ambas, la FSH y la LH, son transportadas por el torrente sanguíneo; en los ovarios estas hormonas estimulan la síntesis y liberación de las hormonas esteroides (Bousfield, 1998; Freeman, 2006).

La FSH estimula el crecimiento y maduración del folículo en el ovario, así como la producción de estradiol, por parte de las células de la granulosa del folículo, donde la FSH se une a su receptor. Por otro lado, la LH participa en la inducción de la ovulación y la luteinización del folículo. La luteinización del folículo genera al cuerpo lúteo, el cual produce principalmente progesterona, hormona necesaria para la implantación del huevo en caso de fecundación. Debido a este efecto, la LH juega un papel central en la regulación del sistema reproductivo. Las hormonas esteroides (estradiol y progesterona) producidas por los ovarios regulan la liberación de la GnRH (Bousfield, 1998; Freeman, 2006).

En la mayoría de las hembras el ciclo reproductivo está dividido por un 'pico' o valor máximo en la concentración sanguínea de LH. El pico de LH separa el ciclo en dos fases: una fase caracterizada por el desarrollo y crecimiento folicular y otra fase la cual se distingue por la presencia de cuerpo lúteo (Fig. 2) (Bousfield, 1998). En la rata la fase de desarrollo y crecimiento folicular dura dos días. Estos dos días corresponden al diestro-1 y al diestro-2 respectivamente. Durante este período la concentración de estradiol aumenta gradualmente. El aumento en la concentración de estradiol induce una retroalimentación negativa sobre la secreción de las gonadotropinas (Guyton, 2001; Freeman, 2006; Nelson, 2000).

La GnRH tiene una liberación pulsátil (intermitente). Cuando, la amplitud de los pulsos y la frecuencia de la liberación de GnRH aumenta, momentáneamente no se da la retroalimentación negativa de las hormonas gonadales. Por ende, el pulso de liberación de GnRH y de LH aumentan. La liberación exacerbada de LH estimula la ovulación. Todos estos eventos ocurren durante la tarde del proestro. Al mismo tiempo, el folículo

que liberó el ovocito secreta altas concentraciones de estradiol y progesterona en la sangre, estas hormonas estimulan la conducta sexual (Jenkins y Becker, 2005). Posteriormente, la concentración de estradiol cae rápidamente; durante este tiempo la concentración de progesterona permanece alta durante varias horas (Nelson, 2000). En caso de haber fecundación se incrementa la liberación de prolactina (PRL) por parte de los lactotropos, localizados en la hipófisis anterior. El incremento de PRL inhibe la liberación de GnRH, esta inhibición cesa hasta que, la progesterona vuelve a incrementar su concentración para mantener la preñez (Jenkins y Becker, 2005).

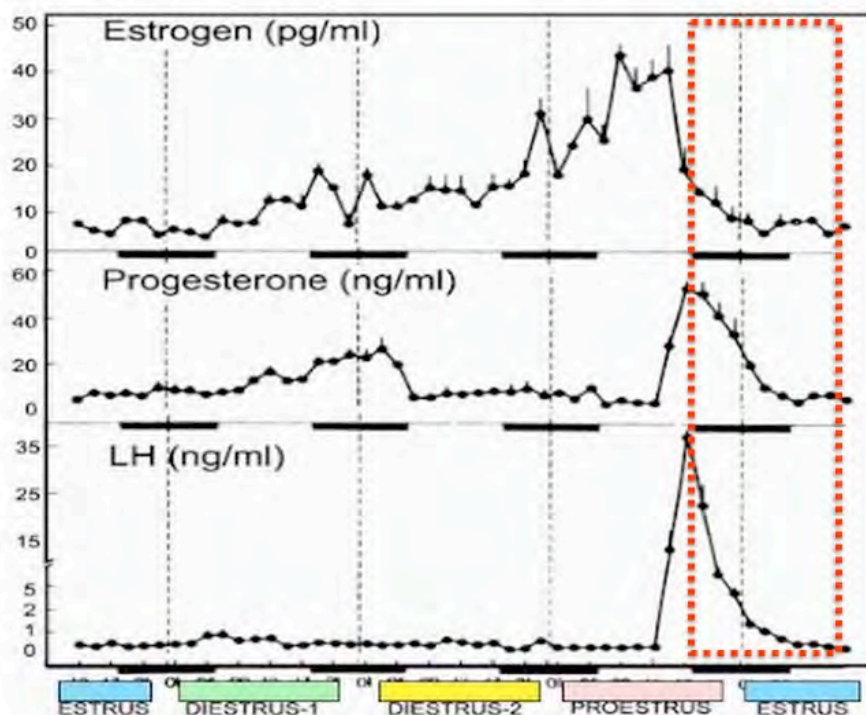


Figura 2. Concentración de hormonas durante el ciclo estral.

Gráficas de las concentraciones de diferentes hormonas, durante las diferentes etapas del ciclo estral de la rata. En el diestro-1 (verde) hay ligero incremento de estrógeno (estradiol) y progesterona. Por otro lado, la concentración de la hormona luteinizante (LH) es baja durante el diestro-1 y el diestro-2 (amarillo). Al mismo tiempo, durante el diestro-2 la concentración de estradiol incrementa y la concentración progesterona baja. En la tarde del proestro (rosado), se encuentran las concentraciones más altas de estradiol, progesterona y LH. Durante la tarde del proestro y la mañana del estrus (recuadro rojo punteado) la rata hembra es receptiva a un macho. Posteriormente, la concentración de progesterona, estradiol y LH cae en la etapa del estrus. (Imagen tomada y modificada de Smith y col., 1975).

El estradiol ejerce su acción por medio de dos receptores: el receptor a estrógenos alfa (RE α) y el beta (RE β). Ambos receptores poseen una región en forma de bisagra y tres dominios: uno de ellos corresponde al dominio de unión al ADN, otro al dominio de unión de la hormona y el dominio restante es el dominio que activa la función de transcripción. Existe una retroalimentación o *feedback* negativo por parte del estradiol sobre la secreción de la FSH (Kuiper y col., 1993; Levine, 1997).

La progesterona también tiene diferentes receptores: el receptor a progesterona A (RP-A), B (RP-B) y C (RP-C). En la rata se expresan las isoformas RP-A y RP-B. El RP-B es el regulador positivo de los efectos de la progesterona. Por otra parte, el RP-A antagoniza al RP-B. Las altas concentraciones de progesterona inhiben tanto la secreción de LH como de FSH en la hipófisis y GnRH por parte del hipotálamo. En una gran variedad de tejidos y de tipos celulares se han descrito por lo menos tres vías de señalización diferentes, que la progesterona puede activar por medio de los receptores RP-A y RP-B (Beshay y Carr, 2013). Sin embargo, en ratones knock-out al receptor nuclear de progesterona y OVX, las concentraciones de LH disminuyen después de la administración de la hormona. Por tanto Actualmente se sugiere que la acción inhibitoria de la progesterona se lleva a cabo por medio de los receptores de progesterona de componente de membrana 1 (PGRMC1) (Bashour y Wray, 2012; Beshay y Carr, 2013; Sleiter y col. 2009).

En el siguiente capítulo describiremos otro factor que influye de manera importante en la expresión de la conducta sexual como es el olfato.

2.2 Señales olfatorias sexualmente relevantes

Además de las hormonas, otros factores como las feromonas son fundamentales para la expresión de la conducta sexual en diferentes especies incluyendo los roedores. Las feromonas son moléculas no volátiles excretadas por glándulas epiteliales especializadas, que activan conductas específicas entre individuos de una misma especie. Estas sustancias modulan varias funciones sociales. Por ejemplo, pueden acelerar los mecanismos hormonales de la pubertad en ratas hembra, cuando las hembras son expuestas a un macho sexualmente activo o son expuestas a su orina (efecto Vandenberg) e incluso pueden interrumpir la gestación en una hembra recientemente fecundada (efecto Bruce). Asimismo, se ha demostrado que el estro de ratones hembra que viven en grupo, se detiene como consecuencia de la acción de las feromonas (efecto Lee-Boot). Si este grupo de ratones hembra es expuesto a la orina de un macho, el estro se reinicia y se sincroniza entre las hembras (efecto Whitten) (Soriano y col., 2007).

Las feromonas son detectadas por quimiorreceptores sensoriales ubicados en el órgano vomeronasal (OVN), cuyos axones llevan a cabo la primera sinapsis en el bulbo olfatorio accesorio (BOA). El BOA tiene proyecciones hacia los núcleos corticales y mediales de la amígdala, la cual, proyecta la información hacia el núcleo del lecho de la estría terminal (NLET), el área preóptica medial (APM) y al hipotálamo anterior (HA) y ventromedial (HVM) (Soriano y col. 2007). El epitelio olfatorio principal está relacionado con la percepción de olores volátiles. Por otra parte, el OVN se especializa en la detección de feromonas. Pero, estudios recientes han demostrado que las neuronas sensitivas olfatorias y las neuronas sensitivas vomeronasales pueden responder a la misma señal química, y ambos sistemas sensoriales proyectan a áreas del cerebro que están involucradas en las respuestas que son mediadas por feromonas (Brennan y Zufall, 2006). Más aún, se ha demostrado que ambos sistemas están conectados a nivel del bulbo olfatorio, sugiriendo que, ambos sistemas pueden procesar los mismos tipos de señales olfatorias (Larriva-Sahd, 2008). El OVN juega un papel muy importante en la reproducción en los mamíferos. Por ejemplo, cuando este órgano está atrofiado en los cujos, los machos no muestran conducta de monta, las hembras no muestran lordosis y rara vez quedan preñadas (Planel, 1953). La desafrentación periférica del sistema vomeronasal produce un déficit severo en la conducta sexual en hámsters machos y hembras (Powers y Winans, 1975; Winans y Powers, 1977). Por lo anteriormente descrito,

es claro que la integridad del sistema olfatorio es fundamental para el despliegue de la conducta sexual en roedores.

2.3 Patrones de conducta sexual femenina

2.3.1 Proceptividad y receptividad

En la rata la conducta sexual femenina puede ser dividida en proceptividad y receptividad (Beach, 1976). La proceptividad son aquellas conductas de solicitud que son específicas de la especie y que son realizadas por las hembras en estro para atraer al macho y facilitar la monta (Fig. 3 a y b). En la rata estas conductas incluyen: orejeo, brincoteo, movimiento en zig-zag, movimientos de aproximación y evitación y emisión de sonidos ultrasónicos. Existen diferentes tipos de conductas proceptivas, las más comunes son: el *comportamiento afiliativo*, que se refiere al establecimiento y el mantenimiento de la proximidad con el macho para incrementar la probabilidad de una interacción sexual. El *comportamiento de solicitud*, se describe como la “invitación”, por parte de la hembra, a que el macho se acerque (antes del contacto físico). En el caso de la rata *el movimiento de aproximación y evitación*, se repite tantas veces como sea necesario si el macho no responde. Las conductas de solicitud aumentan la probabilidad de las hembras a recibir una intromisión por parte del macho. Por último, están las *respuestas de contacto físico*, como lo es la exploración del área ano-genital (Beach, 1976; Erskine, 1989; McClintock y Alder, 1978).

La receptividad está asociada con los aspectos consumatorios de la conducta sexual. En la mayoría de los roedores la receptividad implica el reflejo de lordosis. La lordosis es la dorsiflexión de la columna de la hembra como respuesta a la estimulación de los flancos realizada por el macho, esta postura permite la inserción del pene en la vagina (Beach, 1976; Erskine, 1989; Hlinak y Madlafousek, 1977; McClintock y Alder, 1978). La postura de lordosis varía, desde un ligero arqueado del lomo hasta una respuesta muy pronunciada. Por lo que, dependiendo del grado de lordosis se le puede asignar un número (Hardy y DeBold, 1972). Durante el desarrollo de este trabajo se utilizó una escala del cero (0) al dos (2). Siendo cero (0) la ausencia de lordosis (Fig. 3 c). Uno (1) cuando la hembra arquea ligeramente el lomo; pero la cabeza y el tren posterior de la rata permanecen horizontales (Fig. 3 d). Finalmente, el número dos (2) fue asignado cuando la rata hembra realiza un arqueamiento del lomo; eleva la cabeza y la grupa, mientras que mueve la cola hacia un lado permitiendo que el macho pueda lograr una intromisión (Fig. 3 e-f) (Beach, 1942; Hardy y DeBold, 1971; Whalen, 1974). El coeficiente de lordosis es una de las formas más utilizadas para medir la conducta receptiva de la rata hembra; este se calcula dividiendo el número de lordosis totales entre el número de montas más el

número de intromisiones multiplicado por 100. Cuando la hembra presenta un coeficiente de lordosis elevado su receptividad es alta (Beach, 1976).

La expresión de la conducta femenina depende de las concentraciones fisiológicas adecuadas de estradiol y progesterona. El estradiol está involucrado en el reflejo de lordosis, en cambio la progesterona se requiere para los aspectos proceptivos de la conducta. Las hembras OVX tratadas con benzoato de estradiol (BE) despliegan altos niveles de lordosis pero sin realizar conductas proceptivas. No obstante, si las ratas OVX son tratadas con estradiol y después con progesterona se observan las conductas de solicitud típicas, que despliegan las hembras intactas durante la etapa del estro (Boling y Blandau, 1939; Fadem y col., 1979; Powers y Valenstein, 1972).

A pesar de que, la cópula es un fenómeno altamente estereotipado, algunos parámetros conductuales se modifican progresivamente, conforme la estimulación vaginocervical aumenta. Por ejemplo, el intervalo entre intromisiones aumenta progresivamente. De igual modo, aumentan las conductas de rechazo por parte de la hembra hacia el macho; al mismo tiempo que, las conductas de solicitud (proceptividad) disminuyen (Agmo y col., 2004; Blaustein y Erskine, 2002; Coopersmith y col., 1996; Yang y Clemens, 1996, 1997). Sin embargo, los niveles de lordosis (receptividad) y el porcentaje de salidas no varían a través de una sesión de cópula, la cual involucra varias series eyaculatorias (Agmo y col., 2004; Coopersmith y col., 1996; Yang y Clemens, 1996). Pero, cuando disminuyen los niveles hormonales terminando el estro, la receptividad y los porcentajes de salida disminuyen.

En el laboratorio la mayoría de los estudios de la conducta sexual femenina se han realizado en condiciones donde el macho controla la frecuencia de la estimulación sexual. Sin embargo, esta condición no es ideal para estudiar la conducta sexual femenina; ya que, los estudios realizados en condiciones naturales y en condiciones de laboratorio que emulan a las naturales (semi-naturales) indican que la hembra determina el ritmo de la interacción sexual. Se ha demostrado que, los *movimientos de aproximación* y *evitación* activan la persecución por el macho. Tanto así que el 90% de las intromisiones son provocadas por las solicitudes que hace la hembra mientras que solamente el 3% son consecuencia del acercamiento del macho (Erskine, 1989; McClintock y Alder, 1978).

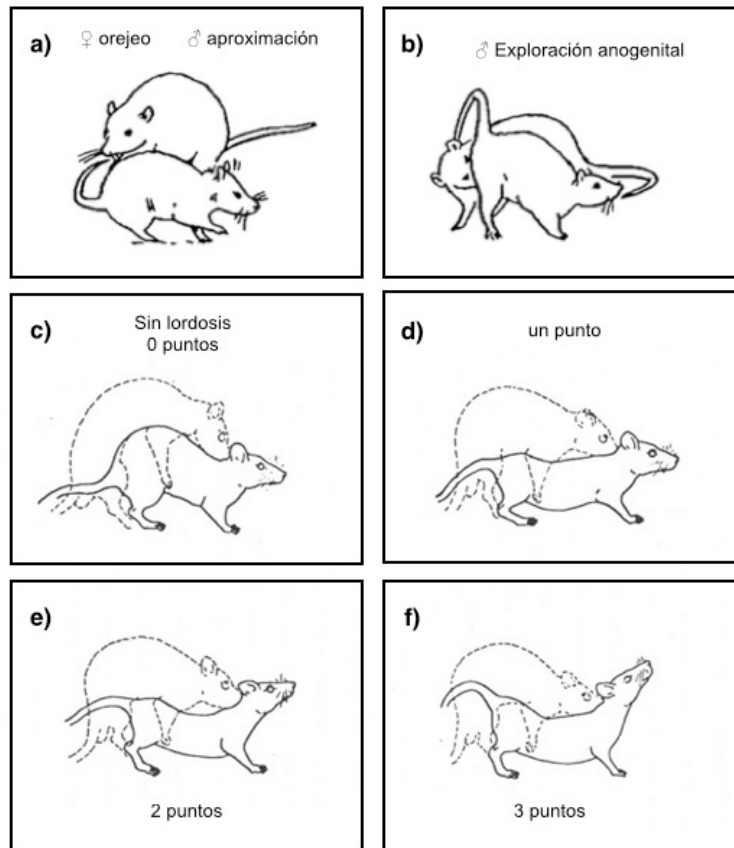


Figura 3. Patrones de la conducta sexual femenina. La proceptividad son las conductas de solicitud que la hembra realiza e incitan al macho a acercarse: a) El orejeo (vibración rápida de las orejas) promueve la aproximación del macho. b) La exploración ano-genital permite al macho percibir las señales quimiosensoriales sexualmente relevantes. Por otro lado, la receptividad es expresada en las hembras por el reflejo de lordosis, dependiendo de que tan pronunciada sea la lordosis, se le asigna un puntaje: c) Se designan cero puntos cuando la hembra no se arquea al recibir una monta por parte del macho. d) Si la hembra se arquea ligeramente la lordosis recibe el puntaje de uno. e) Cuando el grado de lordosis es pronunciado se le da un puntaje de dos. f) El puntaje más alto que se le puede dar al grado de lordosis es tres. Tomado y modificado de Slob y Vander Werfft en Bosch en Hansel (1998) y Hardy y DeBold (1972).

2.3.2 Cópula regulada (CR, pacing)

Los estudios clásicos han demostrado que, en un ambiente semi-natural la hembra controla la frecuencia de la estimulación sexual que recibe; moderando el acercamiento y distanciamiento del macho (McClintock y Alder, 1978; McClintock y Anisko, 1982; McClintock y col., 1982; Peirce y Nutall, 1961). Una rata hembra puede copular con múltiples machos simultáneamente y controlar la frecuencia del estímulo sexual, al evadir a los machos después de un contacto sexual. La capacidad de regular o controlar la estimulación sexual se estandarizó en condiciones de laboratorio por el grupo de Erskine (1985). Ellos utilizaron una caja de cópula con una barrera en medio, que posee un orificio en la base, del tamaño suficiente para permitir el paso de la hembra, pero no del macho (generalmente de mayor tamaño). De este modo, la hembra puede entrar y salir del compartimiento donde se encuentra el macho y así regular la estimulación sexual. Al evaluar la cópula regulada (pacing, por su denominación en inglés) se demostró que la intensidad del estímulo que recibe la hembra determina la frecuencia de aproximaciones hacia el macho. Es decir, las hembras que regulan la cópula tienen la capacidad de escapar del macho después de una interacción sexual (porcentaje de salida), esta capacidad de escape es proporcional a la intensidad de la estimulación precedente. Por lo que, las hembras tienden a alejarse más del macho después de una intromisión que después de una monta y siempre escapan después de una eyaculación (Erskine, 1989). Adicionalmente, con un estímulo de mayor intensidad, las hembras tardan más tiempo en reanudar la cópula. Después de recibir una eyaculación las hembras tardan más tiempo en regresar al compartimiento del macho que después de recibir una intromisión, y el tiempo en regresar con el macho después de recibir una monta es aún menor (Erskine, 1985; Martínez y Paredes, 2001; Yang y Clemens, 1996). Se ha postulado que, la capacidad de la hembra de controlar el número y el tiempo entre cada contacto, cuando ella se aproxima y huye del macho, evita la sobre-estimulación vaginocervical. La posibilidad de regular o no los contactos copulatorios tiene consecuencias importantes para la reproducción. Por ejemplo, cuando las ratas hembras no regulan sus contactos sexuales, necesitan recibir más de 10 intromisiones para presentar la preñez o pseudopreñez. En contraste, 5 intromisiones reguladas son suficientes para inducir cualquiera de estos dos estados. También se ha demostrado que cuando las hembras regulan la cópula, el número de crías es mayor en comparación de cuando las hembras no regulan los contactos copulatorios sugiriendo que los contactos sexuales regulados por la hembra aumentan la fertilidad (Erskine y col., 1989; McClintock y Alder, 1978).

Otra de las consecuencias de la CR es el acortamiento en la duración de la etapa del estro. Cuando la hembra no regula la estimulación sexual se requieren alrededor de 25 intromisiones para inducir la reducción del estro (Erskine y Marcus, 1981). En cambio, para inducir este estado por la CR se requieren aproximadamente 10 intromisiones y el estro se reduce de 18 hrs a 12-15 hrs aproximadamente (Erskine, 1985). También, se ha demostrado que la duración de las intromisiones reguladas es significativamente mayor que el de las no reguladas por la hembra; incrementado así, la intensidad de la estimulación cervical y por lo tanto reduciendo el número de intromisiones para inducir los estados progestacionales (Adler, 1969; Chester y Zucker, 1970; Erskine y col., 1989). Aunado a esto, el intervalo entre las intromisiones y la duración de estas es mayor en la CR, en comparación de la cópula no regulada (CNR). En conjunto estas observaciones sugieren que, las intromisiones reguladas, al contrario de las no reguladas son más efectivas para inducir los cambios fisiológicos de la gestación (Blaustein y Erskine, 2002; Coopersmith y col., 1996; Erskine, 1985; Erskine y Baum, 1982; Erskine y col., 1989).

En conjunto todos estos datos, sugieren que la cópula regulada tiene consecuencias fisiológicas y conductuales específicas, que la hacen diferente a la cópula no regulada.

2.3.3 La cópula regulada como reforzador

Los aspectos motivacionales de la cópula, tanto en hembras como en machos, se han estudiado ampliamente y han sido evaluados por diferentes métodos (Agmo y Berenfeld, 1990; Bermant y Westbrook, 1966; Coopersmith y col., 1996; Paredes y Vázquez, 1999; Peirce y Nutall, 1961). Por ejemplo, ratas hembras en estro son capaces de cruzar una red electrificada para tener acceso a un macho (Jenkins, 1928; Nissen, 1929; Warner, 1927). Bermant (1961) fue uno de los primeros que utilizó el condicionamiento operante para evaluar los aspectos motivacionales de la cópula en la rata hembra. Las ratas hembra fueron entrenadas a apretar una palanca para obtener la presencia de un macho, después de una monta, una intromisión o una eyaculación el macho era retirado hasta que la hembra presionara la palanca nuevamente. La latencia de respuesta para apretar la palanca fue mayor dependiendo de la intensidad del estímulo. Así, las hembras tardaban más tiempo en presionar la palanca después de una eyaculación que después de una intromisión y el tiempo de espera después de una intromisión era mayor que el tiempo de espera que precedía a una monta (Bermant 1961). Estas observaciones sugirieron que la conducta sexual tiene efectos reforzantes. Posteriormente se demostró que la conducta sexual genera un estado afectivo positivo que puede ser asociado a estímulos ambientales. Esta asociación permite estudiar los estados placenteros (afectivos positivos) inducidos por la conducta sexual (Agmo, 1999; Agmo y Ellingsen, 2003; Pfaff y Agmo, 2002). En nuestro laboratorio hemos estudiado a detalle los aspectos apetitivos y/o motivacionales asociados con la conducta sexual femenina utilizando el condicionamiento de preferencia de lugar (CPL).

2.4 Condicionamiento de preferencia de lugar y cópula regulada

El CPL es un procedimiento que se deriva de la teoría del aprendizaje asociativo y ha sido ampliamente utilizado para evaluar los efectos reforzantes o estados afectivos positivos inducidos por drogas o fármacos. Usando el mismo método, se han evaluado los efectos placenteros (afectivos positivos) de diversas drogas (Beach, 1957; Hasenöhrli y col., 1989) y conductas, incluyendo la conducta sexual (Agmo y Berenfeld, 1990; Martínez y Paredes, 2001). Se ha sugerido que un estado afectivo positivo está asociado a una conducta de acercamiento. En el CPL los estímulos ambientales de uno de los compartimentos de la caja de preferencia son asociados y condicionados (durante varias sesiones) al estado afectivo inducido por el tratamiento, en este caso la cópula (regulada o no regulada). Si la cópula produce un estado afectivo positivo y este se asocia a las características físicas de un compartimento no preferido inicialmente, el animal cambiará su preferencia inicial y permanecerá más tiempo en el compartimento asociado a la cópula. El resultado de este proceso será un cambio de preferencia. Así, hemos demostrado que en la rata hembra la cópula induce un claro estado afectivo positivo, sólo cuando ella regula los contactos sexuales (Paredes y Alonso, 1997).

El estado afectivo positivo inducido por la cópula regulada es independiente de la eyaculación, ya que, las hembras que reciben por lo menos 10 intromisiones reguladas, sin eyaculación, cambian la preferencia por el compartimento que se asoció con la cópula regulada y que no preferían originalmente. Este cambio de preferencia no se observa en las hembras que no regulan los contactos copulatorios (Paredes y Vázquez, 1999). En otra serie de estudios, demostramos que, el estado afectivo positivo se induce en hembras que fueron ovariectomizadas (tratadas con estradiol y progesterona) y en hembras intactas que ciclan de forma natural, siempre y cuando puedan regular los contactos sexuales (Camacho y col., 2009; Erskine, 1985). El cambio de preferencia inducido por la cópula regulada es de igual magnitud que el inducido por inyecciones de morfina (1 mg/kg) (Camacho y col., 2009). Además, García-Horsman y Paredes (2004) demostraron que el estado afectivo positivo generado por la cópula regulada no es dependiente de dopamina, ya que tratamientos con antagonistas dopaminérgicos no bloquean el CPL inducido por la cópula. En contraste, la inyección intraperitoneal de naloxona, antagonista opioide, bloquea el estado placentero inducido por la cópula regulada. Asimismo, el estado afectivo positivo es bloqueado cuando la naloxona se administra en estructuras cerebrales involucradas en el control de la conducta sexual femenina como son: el APM, la amígdala y el HVM (García-Horsman y col., 2008;

Paredes y Martínez, 2001). Estas observaciones indican que, el estado afectivo positivo inducido por la cópula regulada esta mediado por opioides.

Cuando las hembras regulan la conducta en tres sesiones de 1 hr se produce un claro CPL. Mientras que, las que copulan por el mismo periodo sin regular los contactos copulatorios no modifican su preferencia inicial. Las hembras que regulan la cópula en estas pruebas reciben menos intromisiones que las que no la regulan. Lo cual sugiere que, no es la cantidad de estimulación sino la calidad de la misma, lo que induce un estado placentero en la copula regulada (Arzate y col., 2011). Los estudios anteriormente descritos sobre los estados afectivos positivos y la CR se realizaron en animales sin experiencia sexual. Estos animales copularon únicamente en tres sesiones de condicionamiento. Dada la capacidad que tienen los roedores de copular varias veces durante su ciclo de vida es importante determinar el efecto de la experiencia sexual sobre los estados afectivos positivos en condiciones de CR y CNR.

3 Planteamiento del problema

La expresión de la conducta sexual en la rata hembra, depende de las concentraciones adecuadas de estradiol y progesterona, las cuales son controladas por el eje hipotálamo-hipófisis-ovario. Se ha demostrado que, el estradiol modula la lordosis (movimiento de dorsiflexión que facilita la inserción del pene) mientras que, la progesterona modula las conductas proceptivas, las cuales incitan al macho a copular. Estos elementos en conjunto a las señales olfatorias hacen posible que se estable una interacción sexual. Además, se ha demostrado que las hembras tienen la capacidad de controlar los contactos copulatorios, este control tiene consecuencias conductuales y fisiológicas específicas. Entre las cuales se destaca el estado afectivo positivo que induce la cópula regulada. Sin embargo, esto sólo ha sido evaluado en ratas hembra sin experiencia sexual.

No se ha evaluado si la cópula regulada repetida por varias sesiones eventualmente pierde la capacidad de inducir un estado placentero. Tampoco, se ha evaluado si la cópula no regulada repetida durante varias sesiones, eventualmente puede inducir un cambio de preferencia. En el presente trabajo evaluamos estas posibilidades para determinar el efecto de la experiencia sexual, CR y CNR, sobre los estados afectivos positivos inferidos por el CPL.

3.1 Hipótesis

La estimulación sexual regulada, repetida durante diez sesiones, generará un estado afectivo positivo.

3.2 Objetivo general

Evaluar el estado afectivo positivo tanto de la cópula regulada como de la cópula no regulada en hembras con experiencia sexual.

3.2.1 Objetivos particulares

Determinar si después de diez sesiones de experiencia sexual, se genera un estado afectivo positivo. Las diez sesiones serán una vez por semana, con duración de una hora. Para evaluar el estado afectivo positivo utilizaremos el CPL en las últimas tres sesiones.

Determinar el estado afectivo positivo de las hembras que regulan la cópula y de las hembras que no regulan la cópula, después de diez sesiones, una vez por semana para las primeras 7 sesiones. En las últimas 3 sesiones el intervalo será de 2 días. Todas las sesiones de cópula serán de una hora. Posteriormente determinamos el estado afectivo positivo en las tres últimas sesiones, utilizando el CPL.

4 Método

4.1 Animales

Se utilizaron ratas hembras y machos de tres meses de edad (300 y 400g respectivamente), sexualmente inexpertos de la cepa Wistar de la colonia local. Alojamos, un máximo de cuatro ratas por caja, bajo un ciclo de luz/obscuridad controlado (12:12 hrs, luces encendidas de 9:00am a 9:00pm), con libre acceso a agua y alimento. Todas las hembras fueron ovariectomizadas, bajo anestesia con una solución de Xilazina (60 mg) y Ketamina (0.8064 mg), por vía intraperitoneal (1 ml/Kg). Una vez anestesiados los animales, se procedió a exponer los ovarios e inmediatamente separarlos de los cuernos uterinos. Por último, el tejido muscular fue suturado con catgut crómico, para suturar la piel se utilizó una sutura de seda. Diez días después de la cirugía, se iniciaron las pruebas conductuales.

Las hembras recibieron inyecciones de 25 µg de BE (Sigma Aldrich E-8515, EU) y 1 mg de progesterona (P_4) (Sigma Aldrich P0130, EU) 48 y 4 horas, respectivamente, antes de las pruebas conductuales. Este tratamiento induce niveles altos de receptividad y proceptividad. Las hormonas fueron disueltas en 0.2 ml de aceite de maíz comercial. Respecto a los machos, estos fueron entrenados y únicamente se utilizaron aquellos sexualmente expertos; es decir, los que eyacularon con hembras sexualmente receptivas (hembras estímulo) en un intervalo menor a 30 minutos en tres sesiones realizadas una vez por semana.

4.2 Grupos experimentales

Se decidió realizar 10 sesiones de cópula como experiencia sexual. Dado que, el ciclo estral de la rata es de aproximadamente 5 días se decidió mantener este intervalo entre cada sesión de cópula; es decir cada 5 días, usando las últimas 3 sesiones como reforzadores del CPL.

Diferentes autores han realizado el reforzamiento del CPL cada dos días (Agmo y Gomez, 1993; Camacho y col., 2009; Paredes y Alonso, 1997). Sin embargo, nuestros animales estuvieron sujetos a un régimen de cópula cada 5 días, acorde al ciclo estral (Freeman 2006; Hape, 1900; Schwartz, 2000). En consecuencia decidimos realizar dos experimentos variando el intervalo de reforzamiento en las últimas tres sesiones:

- A) Reforzamiento cada 5 días.
- B) Reforzamiento cada 2 días.

Cada sujeto experimental recibió 10 sesiones de cópula durante una hora, las primeras 7 sesiones se realizaron cada cinco días; las últimas tres sesiones de cópula se utilizaron como reforzadores con un intervalo de dos o cinco días dependiendo del experimento (Fig. 4). Cada experimento contó con los mismos grupos experimentales.

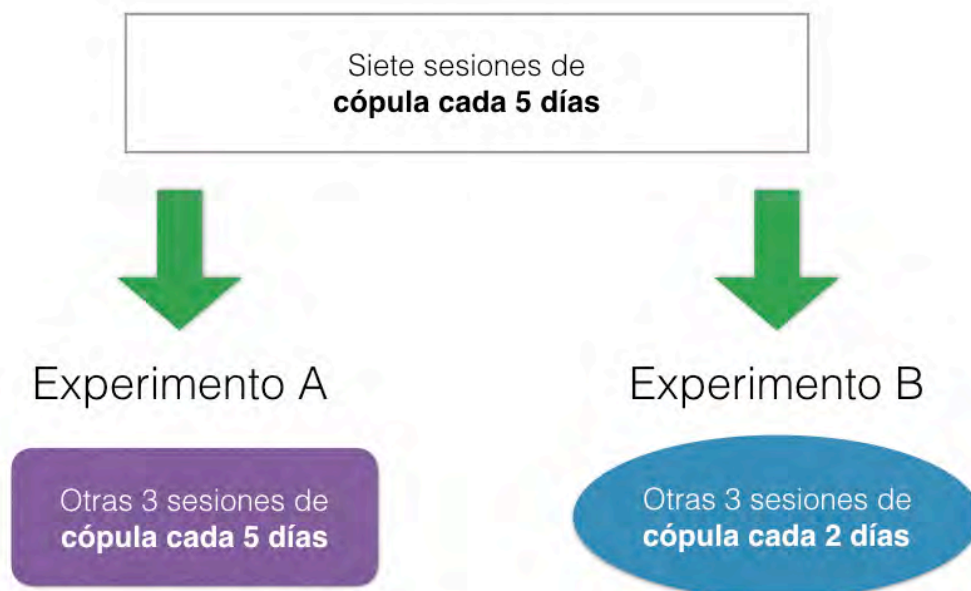


Figura 4. Esquema experimental. Todos los sujetos experimentales tuvieron siete sesiones de cópula cada 5 días. Posteriormente fueron divididos en dos experimentos (experimento A y B). En el experimento A, las hembras continuaron con el régimen de 5 días, correspondiente al intervalo del ciclo estral, por tres sesiones más. En el experimento B los sujetos experimentales recibieron tres sesiones de cópula pero conforme a la metodología del CPL, es decir en un intervalo más corto (2 días).

Con la finalidad de descartar que la posible interacción con los olores provenientes del macho o la alta concentración de estradiol genere un estado afectivo positivo, se incluyó un grupo en el cual, las ratas hembras fueron expuestas a un macho sexualmente experto, e inyectadas antes de cada exposición con estradiol y progesterona. De este modo se trabajó con tres grupos experimentales que se describen a continuación:

- 1) Exposición (Expo): La hembra podía oler, ver y escuchar al animal estímulo, sin posibilidad de contacto físico.
- 2) Cópula regulada (CR): En esta condición las hembras podían regular los contactos copulatorios.
- 3) Cópula no regulada (CNR): Bajo esta condición, el macho, pero no la hembra, reguló los contactos copulatorios.

4.2.1 Pruebas Conductuales

Las sesiones de cópula se realizaron a la misma hora, en la fase de oscuridad. Para todas las pruebas conductuales se utilizaron cajas de acrílico con las siguientes dimensiones: 62cm de ancho, 29cm de altura y 42cm de profundidad. Las condiciones de la caja se modificaron de acuerdo a cada grupo experimental como se describe a continuación:

Grupo I. Expo. En este grupo experimental la caja de cópula fue dividida en dos partes iguales, con una pared de acrílico con orificios de 1cm de diámetro (Fig. 5 A). De un lado de la caja se colocó a la hembra y del otro lado un macho sexualmente experto. La pared de acrílico con orificios permitió un contacto visual, olfativo y auditivo pero no permitió el contacto físico entre los individuos (Fig. 5 B).

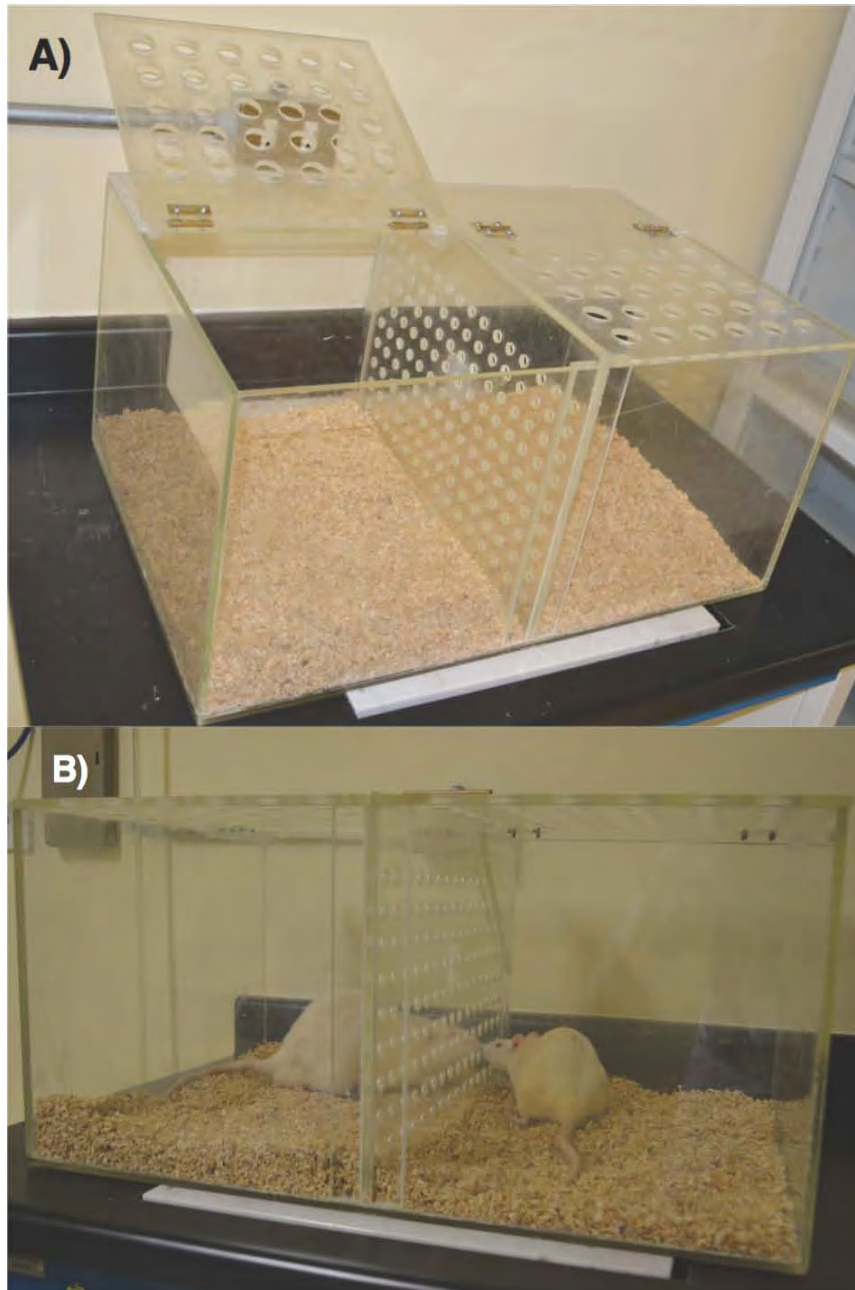


Figura 5. Grupo I Exposición (Expo).

A) Caja de acrílico con aserrín y una separación con orificios, que no permitió el contacto físico entre los individuos.

B) El macho y la hembra fueron colocados en diferentes lados de la caja durante una hora.

Grupo II. CR. Para permitir el control de los contactos copulatorios por parte de la hembra en este grupo, la caja anteriormente descrita fue dividida en dos partes iguales con una pared de acrílico. Esta barrera posee un agujero pequeño (4x6cm) que dio acceso a la hembra, por ser más pequeña que el macho, a la otra mitad de la caja donde se encontraba un macho sexualmente experto (Fig. 6 A). Al iniciar la prueba tanto el macho como la hembra fueron colocados en lados distintos de la caja (Fig. 6 B).

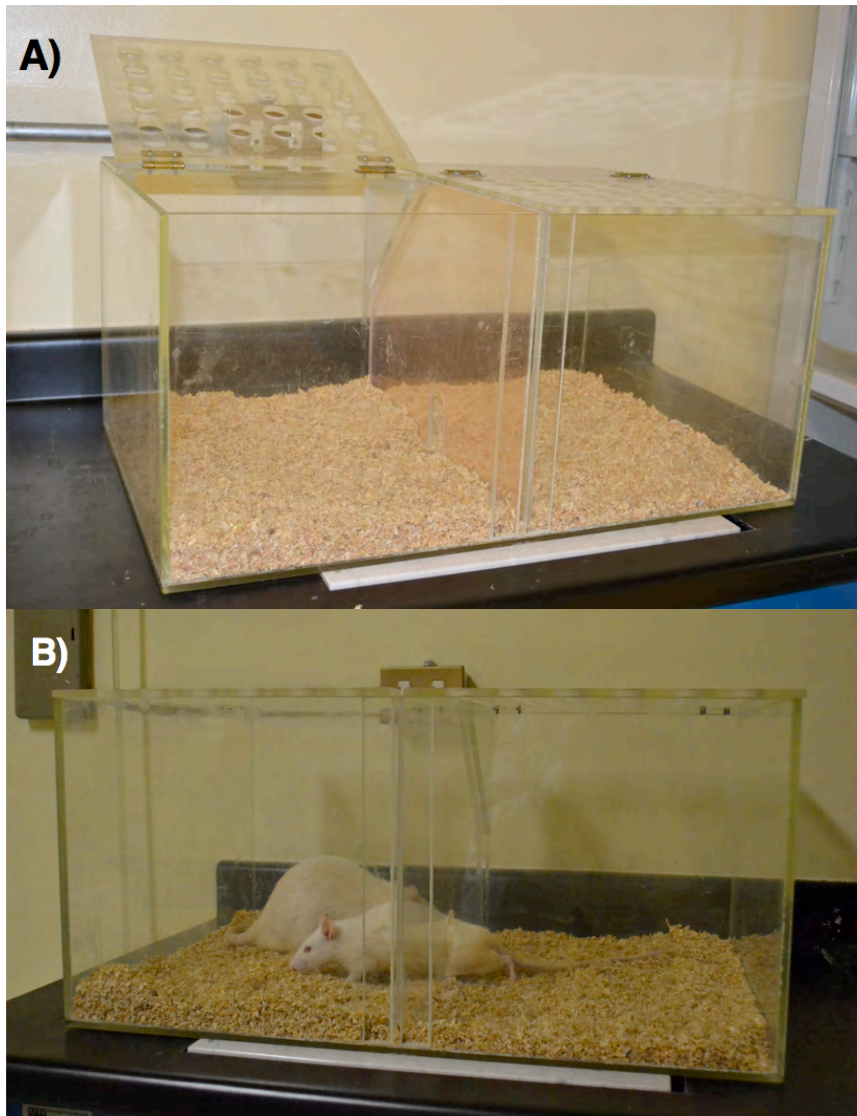


Figura 6. Cópula regulada por la hembra (CR).
A) Caja de acrílico con aserrín y una división con un pequeño agujero en la parte inferior media.
B) La hembra por diferencia de tamaño tiene acceso a ambos lados del compartimento, esto le permite regular los contactos copulatorios.

Grupo III. CNR. Para este grupo se utilizó la caja anteriormente descrita sin ningún tipo de división (Fig. 7 A). Esto permite que sea el macho el que determine o lleve el ritmo de la cópula. Al iniciar la prueba el macho y hembra fueron colocados en la caja sin ningún tipo de división (Fig. 7 B).

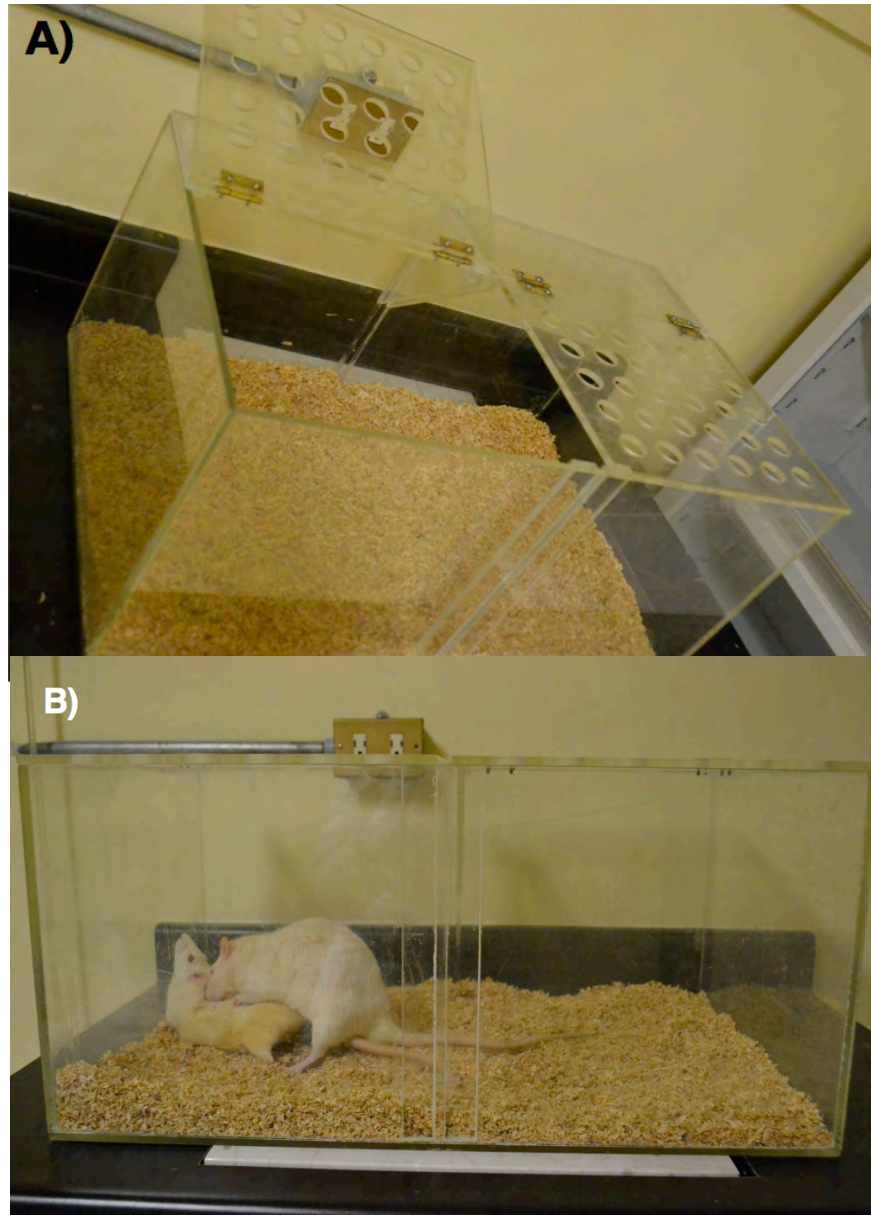


Figura 7. Cópula no regulada (CNR).

A) Para esta prueba no se le coloca ningún tipo de división a la caja.

B) En estas condiciones el control de los contactos copulatorios se da por parte del macho.

4.3 Parámetros conductuales

Las pruebas conductuales duraron 1 hora. En todas las sesiones de cópula los siguientes parámetros conductuales fueron registrados:

- Latencia de monta (LM). El tiempo (expresado en segundos) en el cual ocurrió la primera monta. Dado que, una intromisión es considerada como una monta exitosa, si un macho realizó una intromisión antes que una monta se tomó este dato como latencia de monta y latencia de intromisión.
- Latencia de intromisión (LI). Es el tiempo en segundos en que se realizó la primera intromisión.
- Latencia de eyaculación (LE). Definido como el tiempo transcurrido desde la primera intromisión, hasta la primera eyaculación.
- El número de montas (#M), intromisiones (#I) y eyaculaciones (#E) que se realizaron durante los 60 minutos que duró la prueba.
- Intervalo Posteyaculatorio (IPE). Este es el tiempo (en segundos) que transcurre después de la eyaculación hasta una nueva intromisión
- Intervalo Inter-Intromisión (III). Es el tiempo que hay entre cada intromisión dentro de una serie copulatoria. Este valor se obtiene dividiendo el #I entre la LE. Este parámetro fue promediado en caso de que se hayan completado varias series copulatorias.

$$III = \frac{\text{número de intromisiones}}{LE}$$

- Intensidad media de lordosis (IML). Como se mencionó anteriormente, a la lordosis se le puede asignar diferentes grados. La IML hace referencia al grado de lordosis promedio que la hembra presentó durante los 60 minutos. Esta se obtiene dividiendo la sumatoria de los grados presentados en una prueba entre el total del número de lordosis.

$$IML = \frac{\sum \text{lordosis por prueba}}{\text{número de lordosis (Total)}}$$

- Coeficiente de lordosis (QL). Este parámetro hace referencia al porcentaje de montas, intromisiones o eyaculaciones por el macho que culminaron en una lordosis por parte de la hembra, durante los 60 minutos que duró la prueba. Este valor se obtiene dividiendo el número total de lordosis entre el #M más el #I por 100.

$$QL = \frac{\text{número de lordosis (Total)}}{\# M + \# I} \times 100$$

Los parámetros anteriormente descritos fueron registrados bajo CR y CNR. Además, la CR presenta parámetros característicos dependientes de la hembra que incluyen:

- Porcentaje de salida después de una monta (%SM), intromisión (%SI) y eyaculación (%SE). Estos valores hacen referencia a las veces que la hembra salió del compartimento del macho después de recibir alguno de estos eventos.
- Latencia de regreso después de una monta (LRM), intromisión (LRI) y eyaculación (LRE). El tiempo (en segundos) que la hembra tardó en regresar al compartimento del macho después de haber recibido la estimulación sexual correspondiente.

4.4 Condicionamiento de Preferencia de Lugar (CPL)

La prueba para evaluar la preferencia de lugar inducida por la cópula se realizó en una caja de acrílico con tres compartimientos (Fig. 8). El central (22x 24x 32cm) está pintado de gris y tiene dos puertas (10x 10cm) a los lados que comunican a los compartimientos laterales (27x 37x 32cm). Uno está pintado de blanco y pose el piso con textura rugosa en el suelo; el otro compartimento lateral está pintado de negro y antes de colocar al animal las paredes se impregnaron con una solución de ácido acético glacial (2% en agua destilada). Ambos compartimientos ofrecían diferente estimulación en color, textura y olor. Durante el condicionamiento el sujeto asocia el estado afectivo generado por la cópula a las características físicas del compartimento (Camacho y col., 2009).



Figura 8. Caja de condicionamiento de preferencia de lugar (CPL). El compartimiento de la izquierda es blanco con una textura rugosa en el piso, mientras que el de la derecha es negro y tiene impregnadas las paredes con ácido acético (olor a vinagre). Al centro se encuentra el compartimiento de transición en donde es colocado el animal al inicio de la prueba.

El CPL es un paradigma que consta de tres fases: Una preprueba, seis sesiones de condicionamiento y una prueba (Fig. 9).

Fase 1. En la preprueba los animales fueron colocados en el compartimento central de la caja de CPL. Se tomó el tiempo que el sujeto experimental pasó en cada compartimento lateral, durante 10 min. El compartimento lateral en el que el sujeto pasó más tiempo fue llamado compartimento preferido; entretanto que, el otro compartimento lateral fue denominado compartimento no preferido.

Fase 2. Durante la primera, tercera y quinta sesión de condicionamiento todos los sujetos fueron colocados en el compartimento inicialmente preferido durante 30 minutos sin ningún estímulo; por este motivo el compartimento preferido es denominado caja no reforzada. Por otra parte, en la segunda, cuarta y sexta sesión de condicionamiento los sujetos fueron expuestos a una sesión de cópula o de exposición, dependiendo del grupo experimental. Inmediatamente después de la prueba los sujetos fueron colocados en el compartimento no preferido durante 30 minutos; por este motivo el compartimento no preferido es también llamado caja reforzada.

Fase 3. Después de las sesiones de condicionamiento (3 reforzadas y 3 no reforzadas) se evaluó la preferencia en la prueba. La prueba fue realizada en las mismas condiciones que en la preprueba.

Preprueba
Tiempo que la rata pasa en cada compartimento (10 min)



Sesiones I, III y V
Los animales son colocados en la caja preferida (30 min) sin ningún estímulo



Sesiones II, IV y VI
Los animales son colocados en la caja no preferida (30 min) después de un reforzador



Prueba
Tiempo que la rata pasa en cada compartimento (10 min)

Figura 9. Fases del CPL.

4.4.1 Evaluación del estado afectivo positivo por medio del CPL

Los grupos experimentales anteriormente descritos (Exposición, cópula regulada y cópula no regulada), realizaron 7 sesiones de exposición o de conducta sexual con un intervalo de separación de 5 días para replicar el ciclo estral de la rata. Dado que, como ya describí, diferentes autores han realizado el reforzamiento del CPL cada dos días (Agmo y Gomez, 1993; Camacho y col., 2009; Paredes y Alonso, 1997) decidimos realizar dos experimentos variando el intervalo de reforzamiento en las últimas tres sesiones con la finalidad de determinar el efecto del intervalo de la estimulación sexual sobre el estado afectivo positivo.

Experimento A. Reforzamiento cada 5 días. Después de la séptima sesión de cópula a todas las ratas se les realizó la preprueba del CPL (Fig. 10); dejando las últimas tres sesiones de cópula (8^{va}, 9^{na} y 10^{ma}) de cada grupo experimental como las sesiones reforzadas con un intervalo de 5 días. Después de realizar la última sesión de reforzamiento se realizó la prueba.

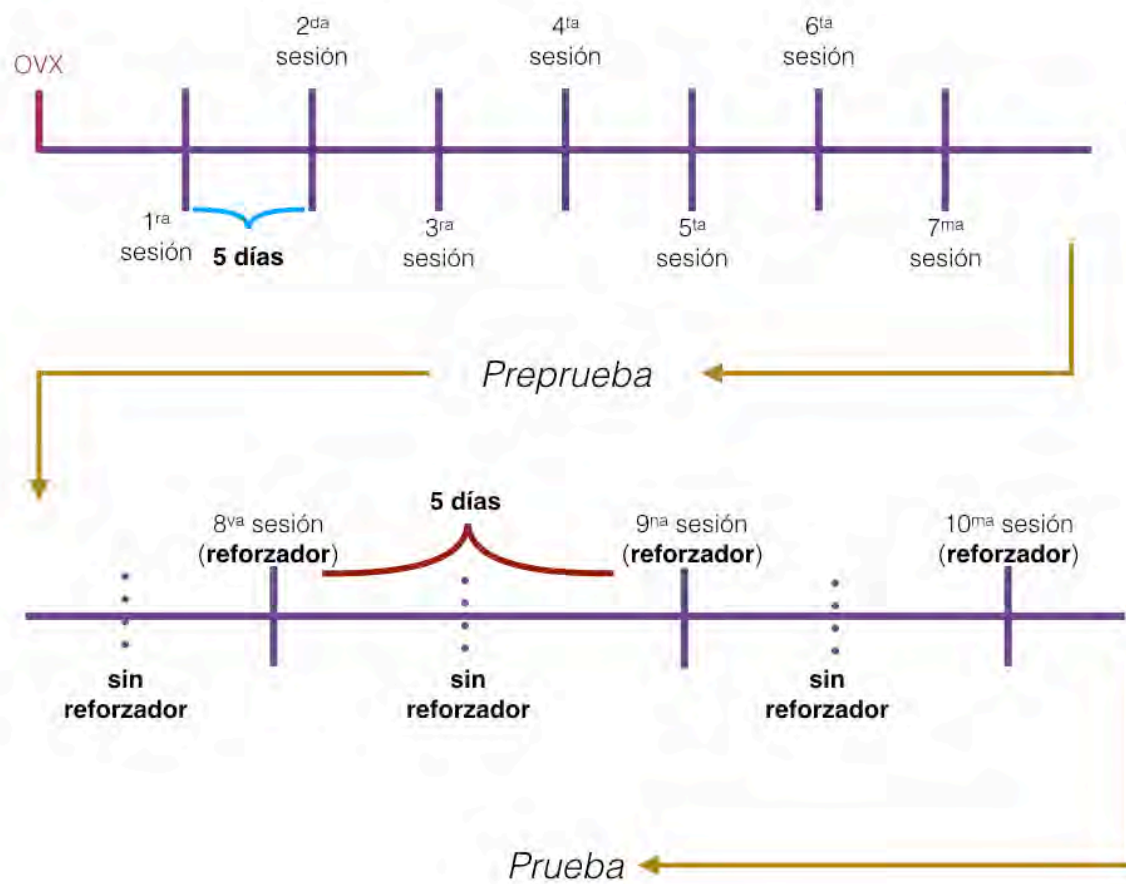


Figura 10. Experimento A. Después de la OVX los sujetos experimentales fueron expuestos a 7 sesiones de conducta sexual, una cada cinco días. Después de la séptima sesión, se realizó la preprueba. Al día siguiente y en días intercalados se realizó el condicionamiento en el compartimento preferido sin ningún estímulo extra. Las sesiones 8, 9 y 10 se utilizaron como reforzadores del compartimento no preferido cada 5 días (llave roja), después de la décima sesión de cópula se llevó a cabo la prueba.

Experimento B. Reforzamiento cada 2 días. En el otro experimento las primeras 7 sesiones de experiencia sexual se realizaron cada 5 días. Posteriormente, se realizó la preprueba, dejando las últimas tres sesiones (8^{va}, 9^{na} y 10^{ma}) de cada grupo experimental, como las sesiones reforzadas del compartimento no preferido con un intervalo de dos días (Fig. 11).

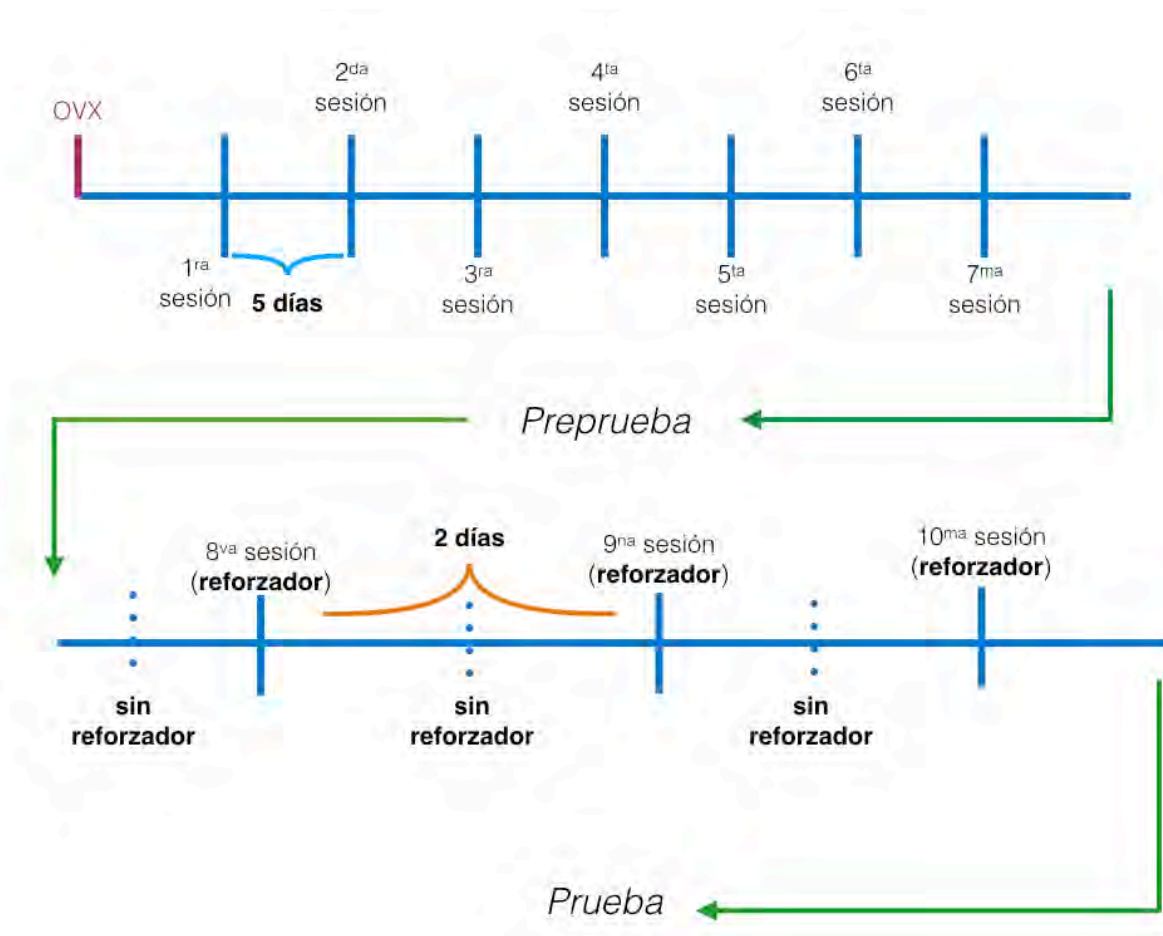


Figura 11. Experimento B. Posterior a la OVX y las 7 sesiones de conducta sexual, una cada 5 días; se realizó la preprueba, al día siguiente y en días intercalados se realizó el condicionamiento en el compartimento preferido sin ningún estímulo extra; las sesiones 8, 9 y 10 se utilizaron como reforzadores del compartimento no preferido, alternando los días. El intervalo de reforzamiento de este experimento fue de cada 2 días (llave azul). Después de la décima sesión de copula llevo acabo la prueba del CPL.

Los sujetos experimentales fueron divididos aleatoriamente para realizar los experimentos. Se considero que se generó un estado afectivo positivo, cuando el tiempo en la caja reforzada (inicialmente el compartimento no preferido) aumentó significativamente en la prueba con respecto al tiempo en ese mismo compartimento durante la preprueba.

4.5 Análisis estadístico

Para el análisis de los parámetros conductuales que fueron registrados durante la CR y la CNR, se utilizaron pruebas estadísticas no paramétricas. Dado que los datos no poseen una distribución normal y no tienen homogeneidad de varianza. Para poder examinar si los parámetros conductuales variaban a través de las 10 sesiones, se realizó una prueba Kruskal Wallis; en el caso de encontrar diferencias significativas se realizó una prueba Dunn como Post-Hoc. Para comparar los parámetros conductuales de los grupos CR y CNR en la misma sesión se utilizó una U de Mann-Whitney. Para analizar los parámetros exclusivos de la CR (latencias de regreso y porcentajes de salida) en la misma sesión se realizó un análisis Kruskal-Wallis, en el caso de encontrar diferencias se realizó una prueba Dunn como Post-Hoc. Por otro lado, para examinar el tiempo en la caja reforzada durante la prueba y la preprueba se utilizó una prueba de Wilcoxon. La prueba de Wilcoxon fue utilizada ya que, son datos no paramétricos y exponen un antes y un después del tratamiento, en este caso el reforzamiento. En todos los casos se considero como una diferencia significativa un valor de p menor o igual a 0.05 ($p \leq 0.05$).

5 Resultados

5.1 Experimento A. Reforzamiento cada 5 días

5.1.1 Parámetros conductuales

El análisis Kruskal-Wallis no mostró diferencias significativas a través de las 10 sesiones en las conductas ejecutadas por el macho (Tabla 1.1). No obstante, al realizar la comparación entre CR y CNR en la misma sesión, por medio de la prueba U de Mann-Whitney, se encontraron las siguientes diferencias: La LM fue mayor en el grupo de CR respecto al grupo de CNR durante las sesiones 4 y 5. El III fue mayor en aquellas ratas que regularon la cópula en comparación con las ratas que no lo hicieron, en las sesiones 8 y 10.

En los siguientes parámetros el grupo de CR registró valores menores respecto a los valores registrados por el grupo de CNR. En el #M durante las sesiones 7 y 10; en el #I durante las sesiones 5, 8, 9 y 10 y en el #E en la sesión 10. El IPE del grupo de CR fue menor respecto al grupo de CNR en la sesión 2, pero fue mayor en la sesión 5.

Respecto a los parámetros relacionados con la receptividad de la hembra (Tabla 1.2) se encontró que la IML fue menor en la sesión 3 con respecto a la sesión 10 para ambos grupos. No se encontró ninguna diferencia cuando se compararon los grupos CR y CNR. En cuanto a las latencias de regreso después de una montra, intromisión o eyaculación no se encontraron diferencias significativas, a través de las 10 sesiones (Tabla 1.3). La LRE fue mayor a la LRM en todas las sesiones. En la sesión 6 la LRE fue significativamente mayor a la LRI. Por último, durante las sesiones 1, 2, 3, 4, 8, 10 la LRI fue significativamente mayor a LRM.

El análisis de los % de salida después de algún evento no mostró diferencia a través de las 10 sesiones. Pero cuando se compararon los % de salida después de la monta, intromisión y eyaculación entre si, se reveló que todos los %SE son mayores a los %SM en todas las sesiones. En las sesiones 9 y 10 el %SE es significativamente mayor al %SI y por último en las sesiones 1, 4, 6 y 8 el %SI es mayor al %SM.

Tabla 1.1 Experimento A. Datos conductuales ejecutados por el macho, se muestran las medias y los errores estándar de los diferentes parámetros conductuales de cópula regulada (CR) y cópula no regulada (CNR) en las diferentes sesiones.

Parámetro	Grupo	Sesión				
		1(a)	2(b)	3(c)	4(d)	5(e)
LM	CR	124.7±33.7	95.8±22.1	100.8±40.5	224.6±75↓	83±19.8↓
	CNR	198.3±96	45.9±19.4	146±99.8	50.3±18.2	24±11.8
LI	CR	255±87.6	124.8±37.6	108.6±44.3	268.3±84.1	101.6±33.5
	CNR	387.1±157.6	65.1±18	132.3±52.2	100.9±24	69.9±27.2
LE	CR	1468.5±287.3	1298.6±218.5	1091.3±145.7	1357.5±250	673.4±65.4
	CNR	1680.5±312.5	911.7±198.4	1411.5±355	1357.3±318	886±237.6
III	CR	144.3±18.8	88.8±14.6	102±21.6	96.1±14.8	71±10.4
	CNR	118.6±31.1	61.4±8.5	97.8±16.9	74.3±4.9	57±8.4

Parámetro	Grupo	Sesión				
		6(f)	7(g)	8(h)	9(i)	10(j)
LM	CR	99±33.9	72.7±12.8	83.3±22.6	83.6±27	117.7±37.9
	CNR	57.2±14.5	59.8±15.3	77.4±32.1	137±74.5	71.6±20.3
LI	CR	307.2±131.4	82.6±27.1	137.6±36.6	83.6±27.1	133±45.1
	CNR	127.9±51.9	143.1±48	92.5±46.3	156.3±74	119.9±55.4
LE	CR	1212.8±175.9	914.5±93.6	1197.5±414.1	1209.1±240.1	1373.1±261.6
	CNR	902.3±103.5	1233.3±169.8	870.8±196.1	1101.3±304.7	934±194.5
III	CR	91.1±16.7	77.2±8.5	126.6±44.9↓	78±14.5	109.3±7.9↓
	CNR	65.5±11.8	92.1±13.7	41.0±6.2	62.5±14.6	55.4±9.8

↓ Diferente de la CNR en la misma sesión; U de Mann-Withney $p < 0.05$.

Tabla 1.1 Continuación.

Parámetro	Grupo	Sesión				
		1(a)	2(b)	3(c)	4(d)	5(e)
#M	CR	13.6±2.4	23.8±3.5	30.6±7.4	22.1±5.4	27.7±5.5
	CNR	20.5±2.2	25.5±2.1	37.5±8.2	25.4±5.4	46±10.8
#I	CR	15.9±1.9	28.4±5	26.9±4.2	24.7±3.2	23.1±3.9↓
	CNR	25.4±5	28.9±4.8	30.5±5.3	31±2.3	34.1±2.6
#E	CR	2.2±0.3	2.1±0.4	2.8±0.4	2.6±0.5	2.44±0.5
	CNR	2.1±0.4	2.5±0.3	2.4±0.3	2.5±0.4	3.3±0.5
IPE	CR	542.9±29.2	569.6±35.6↓	556.3±33.4	598.4±70.3	649.7±33.5↓
	CNR	608.7±66.6	685.4±32.4	577.6±58.7	552±50.6	512.2±36.6

Parámetro	Grupo	Sesión				
		6(f)	7(g)	8(h)	9(i)	10(j)
#M	CR	21.3±2.5	15.6±2.7↓	21.3±3	22±3.9	12.8±3.2↓
	CNR	27.5±9	27.6±6.9	22±7.3	34.1±7.7	29.6±4.1
#I	CR	25.3±3	25.8±2.2	25.2±2.9↓	24.9±2.1↓	21.4±2.5↓
	CNR	30.5±3.6	25.9±2.2	44.5±4.6	35.8±4	38±3
#E	CR	2.4±0.4	2.4±0.4	3±0.3	2.7±0.3	2.3±0.3↓
	CNR	3.4±0.3	2.3±0.2	3.8±0.3	2.7±0.3	3.5±0.4
IPE	CR	599.9±37	637.7±48.3	522.3±47.5	583.6±42.3	638.8±80.3
	CNR	592±38.3	694.4±77.8	496.1±40.5	537.1±17.4	523.4±31.1

↓ Diferente de la CNR en la misma sesión; U de Mann-Withney p<0.05.

Tabla 1.2 Experimento A. Parámetros de la receptividad de la hembra. Los datos muestran la media y el error estándar de los grupos cópula regulada (CR) y cópula no regulada (CNR) durante las 10 sesiones de experiencia sexual.

Parámetro	Grupo	Sesión				
		1(a)	2(b)	3(c)	4(d)	5(e)
QL	CR	100	99.8±0.2	100	100	99.8±0.2
	CNR	100	100	100	100	100
IML	CR	1.6±0.09	1.5±0.09	1.3±0.04 ^j	1.6±0.1	1.4±0.1
	CNR	1.6±0.04	1.5±0.07	1.4±0.05 ^j	1.6±0.09	1.6±0.15

Parámetro	Grupo	Sesión				
		6(f)	7(g)	8(h)	9(i)	10(j)
QL	CR	99.7±0.3	100	100	100	100
	CNR	100	100	100	100	100
IML	CR	1.6±0.11	1.6±0.09	1.5±0.07	1.7±0.06	1.7±0.06
	CNR	1.5±0.07	1.5±0.08	1.6±0.11	1.7±0.05	1.9±0.04

^j Diferente de la sesión 10, prueba Kruskal-Wallis y Post-Hoc Dunn p<0.05.

Tabla 1.3 Experimento A. Datos conductuales exclusivos de la CR, donde se muestra la media y el error estándar. Estos animales fueron reforzados cada 5 días.

Parámetro	Sesión				
	1(a)	2(b)	3(c)	4(d)	5(e)
LRM	21.5±6.2	15.3±3.2	8.4±1.7	9.7±2.02	9.8±3.5
LRI	66.5±11.9 [€]	56.7±12.2 [€]	43.9±8.8 [€]	61.2±8.1 [€]	48.09±9.7
LRE	113.2±24.6 [€]	126.7±19.4 [€]	145.3±30.3 [€]	168.8±25.02 [€]	231.6±61.3 [€]
%SM	51.5±5.08	62.4±7.8	73.1±7.6	60.06±6.9	54.8±3.9
%SI	92.2±1.9 [€]	83.2±7.06	89.6±2.8	89.5±1.9 [€]	78.5±4.4
%SE	100 [€]	100 [€]	100 [€]	100 ^{€€}	100 ^{€€}

Parámetro	Sesión				
	6(f)	7(g)	8(h)	9(i)	10(j)
LRM	17.7±6.03	24.3±8.9	9.5±2.3	13.9±2.3	9.6±2.1
LRI	54.8±9.8	70.7±17.9	59.4±17.9 [€]	40.9±4.5	57.9±4.7 [€]
LRE	240±36.9 ^{€€}	183.8±26.4 [€]	177.07±38.2 [€]	207.5±29.6 [€]	275.2±101.8 [€]
%SM	48.5±4.9	52.04±6.8	44.06±4.3	53.5±6.3	72.7±9.4
%SI	88.7±2.4 [€]	86.2±3.03	83.05±3.2 [€]	80.9±2.3 [‡]	85.9±3
%SE	100 [€]	100 [€]	100 [€]	100 [€]	100 [€]

[€] Diferente de LRM o %SM, prueba Kruskal-Wallis y Post-Hoc Dunn p<0.05.

[‡] Diferente de LRI o %SI, prueba Kruskal-Wallis y Post-Hoc Dunn p<0.05.

5.1.2 Condicionamiento de preferencia de lugar

De acuerdo a la prueba de Wilcoxon, el tiempo en la caja reforzada, en el grupo de exposición, no mostró diferencias significativas entre la preprueba y la prueba. Por el contrario, cuando se realizó este mismo análisis en los grupos de CNR y CR se encontraron diferencias significativas. El tiempo en la caja reforzada en la prueba aumentó con respecto a la preprueba en ambos grupos experimentales (Fig. 12).

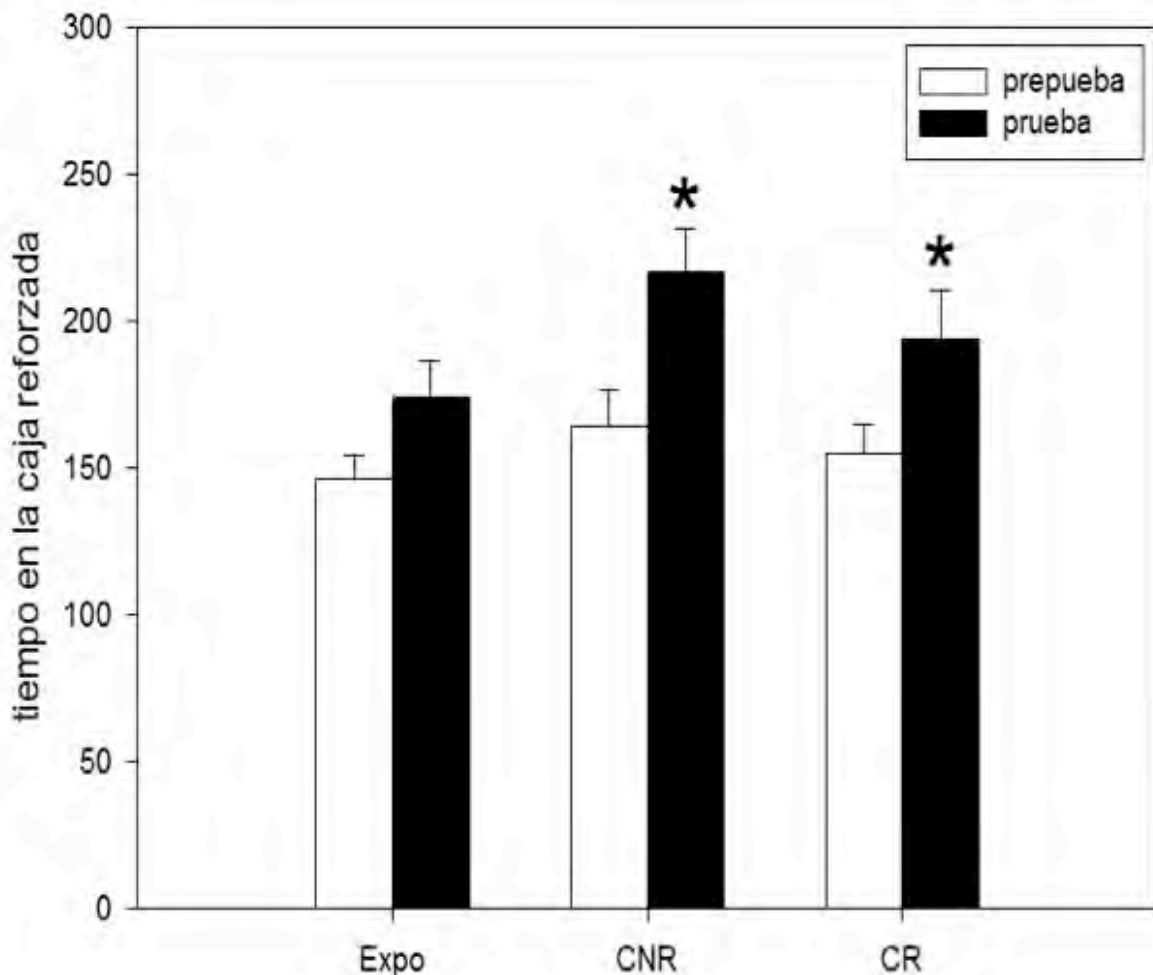


Figura 12. CPL del experimento A. Tiempo en la caja reforzada, durante la preprueba y la prueba de los tres grupos experimentales: Exposición (Expo), cópula no regulada (CNR) y cópula regulada (CR). Los grupos fueron reforzados cada cinco días. *Diferente de Preprueba en el mismo grupo experimental $p < 0.05$, prueba de Wilcoxon.

5.2 Experimento B. Reforzamiento cada 2 días

5.2.1 Parámetros conductuales

En la tabla 2.1 se muestran las medias y los errores estándar de los diferentes parámetros conductuales ejecutados por el macho. El análisis de Kruskal-Wallis mostró las siguientes diferencias: El #I durante la sesión 7 fue mayor en comparación a las sesiones 1 y 9. La sesión 6 tuvo un mayor #I comparado con la sesión 1. Las diferencias anteriormente citadas se encontraron únicamente en el grupo de CNR.

Las sesiones 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10 tuvieron un mayor #E en comparación a la sesión 1 en el grupo de CNR. En el grupo de CNR se encontró que en las sesiones 1, 3, 9 y 10 tuvieron un menor #E respecto a la sesión 7. Igualmente, las sesiones 1, 9 y 10 registraron una diferencia significativa en comparación de a la sesión 5, revelando que la cantidad de eyaculaciones fue mayor en la sesión 5. Por último, el #E en la sesión 1 fue menor en comparación a la sesión 8. El IPE de la sesión 8 fue menor a la sesión 9 en el grupo de CR. En tanto que, en este mismo parámetro la sesión 7 fue significativamente menor a la sesión 9 en el grupo de CNR.

La comparación entre los grupos (CR y CNR) en cada una de las sesiones por medio de una U de Mann-Whitney mostró las siguientes diferencias: En las sesiones 1 y 10 la CR registró un mayor III. Se registro una LM y LI mayor en el grupo de CR en la sesión 10, en comparación al grupo de CNR. También, la LE durante la sesión 5 fue mayor en el grupo de CR. El #I fue mayor en las sesiones 2, 4, 5, 6, 7 y 10 en el grupo de CNR. Finalmente, el #M en las sesiones 1, 2, 7, 9 y 10 fue mayor en el grupo de CNR.

Respecto a los parámetros que están relacionados a la receptividad de la hembra se encontró que el grupo de CNR tuvo una IML menor al grupo de CR en la sesión 10 (Tabla 2.2). Dentro de los parámetros que son exclusivos de la CR (Tabla 2.3), la LRE fue menor en las sesiones 2 y 3 en comparación de la sesión 10. En este mismo parámetro las sesiones 9 y 5 fueron mayores a la sesión 2. El %SM en las sesiones 4 y 8 fueron mayores comparadas con la sesión 2. Tanto la LRE como el %SE fueron significativamente mayores que los observados después de una monta en todas las sesiones. La LRE fue mayor que la LRI en las sesiones 5, 7 y 8. La LRI fue mayor que la LRM en las sesiones 1, 3, 4 y 9. Para terminar, El %SI fue mayor al %SM en las sesiones 1, 4, 5 y 7.

Tabla 2.1. Experimento B. Datos conductuales ejecutados por el macho, se muestran las medias y los errores estándar de los diferentes parámetros tanto de cópula regulada (CR) y cópula no regulada (CNR).

		Sesión				
Parámetro	Grupo	1(a)	2(b)	3(c)	4(d)	5(e)
LM	CR	596.1±273.03	125.3±32.6	186±856	99±21.8	146.6±37.4
	CNR	144.6±43.7	95.5±27.4	58.9±48.1	79.9±34.2	82.8±13.4
LI	CR	662.3±265.06	340.7±125.8	268.1±127	145±43.9	177.8±45.9
	CNR	247.4±65.7	152.3±41.3	212±104	91.3±34.2	113.1±31.04
LE	CR	2393.7±468.1	1722±319	1443.3±318.5	1125.8±189.3	1069.3±176.1↓
	CNR	1333.8±262.2	1193.6±241.3	1002.8±287.6	849.7±129.2	486.5±70.2
III	CR	167.4±42.9	147.6±46.1↓	121.4±33.2	93±9	105.4±23.5
	CNR	172.6±56.8	65.5±9.3	59.7±12.2	65.1±11.8	62.04±10.6

		Sesión				
Parámetro	Grupo	6(f)	7(g)	8(h)	9(i)	10(j)
LM	CR	104.5±54.1	129.5±52.7	162.8±5	430.6±206.9	372±94.7↓
	CNR	200.2±104.8	118.5±41.6	72.1±29.4	263.8±58.3	143.8±67.7
LI	CR	141.5±58.3	166.4±51.1	192.4±66.2	652.2±265.2	406.4±93.1↓
	CNR	281.7±118.4	175.6±56.6	100.9±37.6	360±67	157.4±67.6
LE	CR	1056.6±145.7	975.1±160.6	1122.7±307.7	1686.1±315.5	996±128.2
	CNR	962.8±168	809.1±171.6	890.9±144.1	1015.8±159.5	859.3±109.7
III	CR	81.7±12.6	97.2±20.7	101.5±19.9	187.2±53.5	168.9±32.9↓
	CNR	54.6±7.1	58.9±8.4	62±11.1	85.6±14.4	79.8±11.8

↓ Diferente de CNR en la misma sesión prueba U de Mann-Withney $p < 0.05$.

Tabla 2.1. Continuación.

Parámetro	Grupo	Sesión				
		1(a)	2(b)	3(c)	4(d)	5(e)
#M	CR	13.6±2.2	16.7±2.9	16.5±4.3	13.5±2.2	16.2±4.6
	CNR	15±2.8	21.1±4.2	12.9±3.5	18.3±4.1	14.3±3.2
#I	CR	13.5±2.7	21.4±2.8↓	18±3.1	21.2±2.5↓	21.7±1.7↓
	CNR	17.3±2.4 ^g	28.6±2	21.1±4.8	31.9±3.4	29.9±3.3
#E	CR	0.5±0.2↓	2±0.3 ^a ↓	1.7±0.4	2.3±0.4 ^a	2.8±0.3 ^a
	CNR	2.3±0.4 ^g	3.2±0.32	2.5±0.7 ^g	3.1±0.3	3.7±0.3 ^a
IPE	CR	674.2±64.2	602.8±28.8	641.1±82.9	555.6±81.7	590.1±33.1
	CNR	588.5±47.8	561.6±38.5	581.9±40.7	551.1±25.6	577±41.2

Parámetro	Grupo	Sesión				
		6(f)	7(g)	8(h)	9(i)	10(j)
#M	CR	10.1±2.6	17.1±3.7	16.1±3.9	9.5±1.9	10.5±3.7
	CNR	16.3±4.1	18.7±3.5	25±4	19.9±4.5	15.6±3.2
#I	CR	20.7±4↓	24±2.4↓	23.7±2.9	13.3±2.4	12.1±2.8↓
	CNR	32.1±2.5 ^a	35±3.3	29.7±2.4	21±2.3 ^g	21.8±3
#E	CR	2.4±0.5 ^a	2.8±0.3 ^a ↓	2.8±0.5 ^a	1.4±0.3 ^a ↓	1.4±0.3 ^a ↓
	CNR	3.3±0.3	3.8±0.3	3.5±0.3 ^a	2.5±0.2 ^{eg}	2.6±0.3 ^{eg}
IPE	CR	593.1±53.3	533.7±45	500.3±31.5 ⁱ	833.8±75.6	782±120.6
	CNR	572.2±44.4	490.8±40.2 ⁱ	570.4±47.6	715.4±52	836.1±71.8

↓ Diferente de CNR en la misma sesión prueba U de Mann-Withney p<0.05.

a Diferente de sesión 1 prueba Kruskal-Wallis y Post-Hoc Dunn p<0.05.

e Diferente de sesión 5 prueba Kruskal-Wallis y Post-Hoc Dunn p<0.05.

g Diferente de sesión 7 prueba Kruskal-Wallis y Post-Hoc Dunn p<0.05.

i Diferente de sesión 9 prueba Kruskal-Wallis y Post-Hoc Dunn p<0.05.

Tabla 2.2. Experimento B. Parámetros de la receptividad de la hembra. Los datos muestran la media y el error estándar de los grupos cópula regulada (CR) y cópula no regulada (CNR) durante las 10 sesiones de experiencia sexual.

Parámetro	Grupo	Sesión				
		1(a)	2(b)	3(c)	4(d)	5(e)
QL	CR	100	100	100	100	100
	CNR	100	100	100	100	100
IML	CR	1.8±0.07	1.8±0.07	1.9±0.02	1.7±0.04	1.9±0.03
	CNR	1.7±0.03	1.8±0.03	1.85±0.05	1.9±0.02	1.9±0.04

Parámetro	Grupo	Sesión				
		6(f)	7(g)	8(h)	9(i)	10(j)
QL	CR	100	100	100	100	100
	CNR	100	100	100	100	99.79±0.2
IML	CR	1.9±0.03	1.9±0.02	1.8±0.04	1.8±0.04	1.9±0.01↓
	CNR	1.8±0.03	1.9±0.01	1.8±0.05	1.9±0.03	1.8±0.03

↓ Diferente de CNR en la misma sesión prueba U de Mann-Withney $p < 0.05$.

Tabla 2.3. Experimento B. Datos conductuales exclusivos de la CR, donde se muestra la media y el error. Estos animales fueron reforzados cada dos días.

Parámetro	Sesión				
	1(a)	2(b)	3(c)	4(d)	5(e)
LRM	9.8±3.2	22.9±8.4	16.5±6.1	9.6±2.6	11.06±4.7
LRI	117.1±43.9 [€]	61.2±10.8	79.6±13.6 [€]	74.4±20.6 [€]	73.4±14.5
LRE	146.3±37.9 [€]	118.5±11.8 ^{j€}	140.3±27 ^{j€}	249.5±37.7 [€]	318.8±49.4 ^{bç€}
%SM	71.5±8.2 ^ç	71.4±6.9 ^d	63.2±6.8	41.2±3.4 ^ç	59.8±6.03 ^ç
%SI	94.1±3.6 [€]	95.9±1.2	97.02±1.9	90.4±3.3 [€]	97.4±1.04 [€]
%SE	100 [€]	100 [€]	100 [€]	100 [€]	100 [€]

Parámetro	Sesión				
	6(f)	7(g)	8(h)	9(i)	10(j)
LRM	9.7±3	5.03±0.9	12.6±4.7	18.2±7.5	32.2±7.5
LRI	79.5±11.9	47.8±7	76±11.8	97.6±11	92.6±16.4 [€]
LRE	258.6±48.9 [€]	196.3±23.9 ^{ç€}	209.03±25.2 ^{ç€}	448.3±129.9 ^{bç}	499.8±99 [€]
%SM	50.29±3.8	63.2±7.08 ^ç	73.2±6.6 ^d	63.7±8.6	58.1±9.6
%SI	82.9±10.5	97.7±0.86 [€]	92.7±3.02	94.2±2.8	91.9±2.9
%SE	100 [€]	100 [€]	100 [€]	100 [€]	100 [€]

€ Diferente de LRM o %SM, prueba Kruskal-Wallis y Post-Hoc Dunn p<0.05.

ç Diferente de LRI o %SI, Kruskal-Wallis y Post-Hoc Dunn p<0.05.

b Diferente de sesión 2 Kruskal-Wallis y prueba Dunn como Post-Hoc p<0.05.

d Diferente de sesión 4 prueba Kruskal-Wallis y prueba Dunn como Post-Hoc p<0.05.

j Diferente de sesión 10 prueba Kruskal-Wallis y prueba Dunn como Post-Hoc p<0.05.

5.2.2 Condicionamiento de preferencia de lugar

De acuerdo con la prueba de Wilcoxon, el tiempo en la caja reforzada, no mostró diferencias significativas entre la preprueba y la prueba, en ninguno de los tres grupos experimentales (Fig. 13).

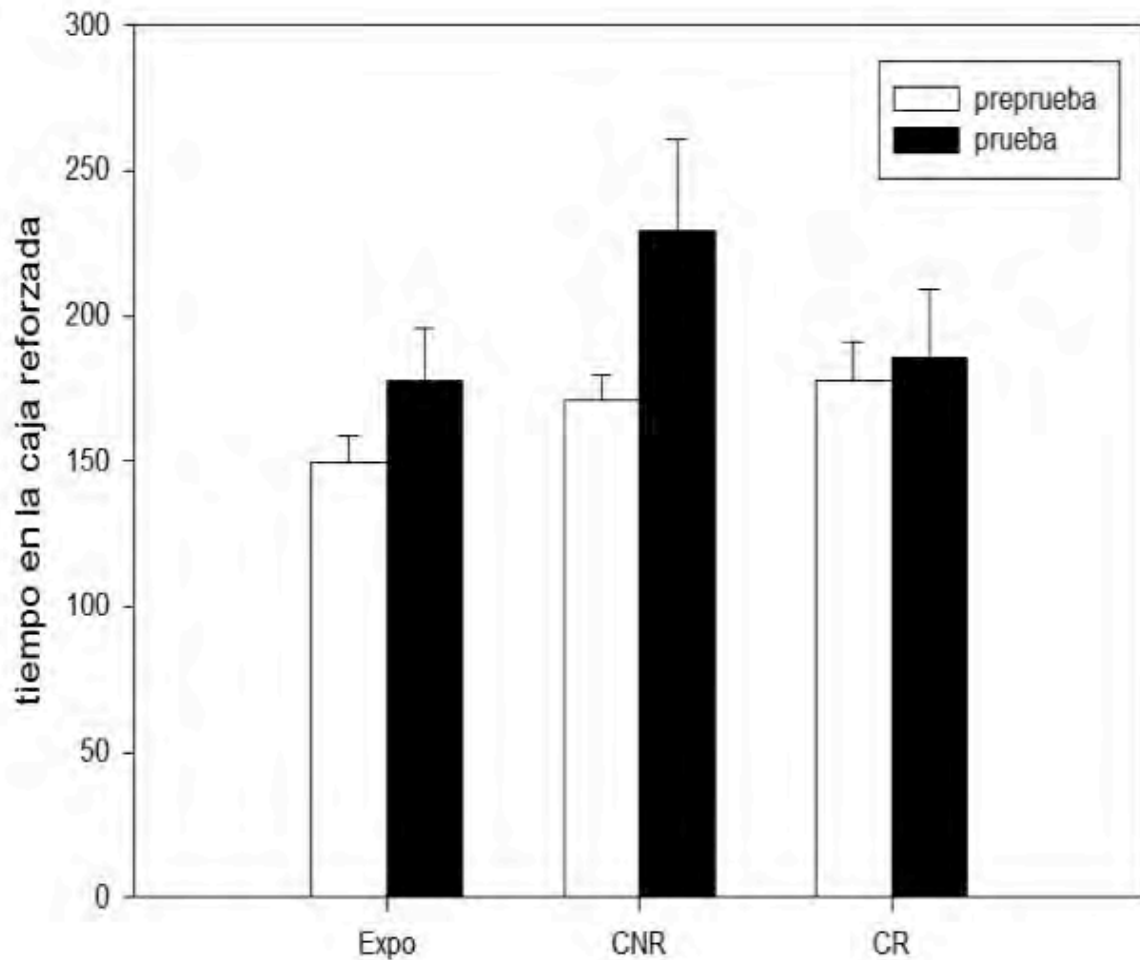


Figura 13. CPL del experimento B. Tiempo en la caja reforzada, durante la preprueba y la prueba de los tres grupos experimentales: Exposición (Expo), cópula no regulada (CNR) y cópula regulada (CR). Los cuales fueron reforzados cada dos días.

6 Discusión

Los resultados del presente estudio indican que las propiedades reforzantes de la cópula cambian después de la experiencia sexual. En el experimento A (reforzamiento cada 5 días) en ambos grupos experimentales que tuvieron la posibilidad de copular (CRN y CR) se generó un estado afectivo positivo. El estado afectivo positivo fue evidenciado por un cambio de preferencia después de diez sesiones de cópula. Por otra parte, en el experimento B (reforzamiento cada dos días) ninguno de los grupos experimentales mostró tal cambio de preferencia, pese a que las hembras fueron sometidas al mismo número de sesiones.

En el presente estudio nosotros observamos un cambio a través de las diez sesiones en la LRE y el %SM durante el experimento B. Erskine (1989) ha propuesto que la CR tiene dos componentes. El primer componente son las latencias de regreso (LR). Las LR son un indicador indirecto de la motivación sexual. El segundo componente de la CR son los porcentajes de salidas (%S). Los %S son un indicador de la discriminación sensorial por parte de la hembra a los estímulos sexuales del macho (montas, intromisiones y eyaculaciones). Posiblemente los cambios observados en la LRE y %SM en nuestros sujetos experimentales se deban a una disminución en la motivación y en la discriminación sensorial, específicamente durante las primeras sesiones. Las hembras estuvieron receptivas durante todas las pruebas conductuales y esta receptividad no es diferente entre las hembras que copularon en condiciones de CR y CNR. Por lo que, nosotros inferimos que los cambios en LRE y %SM no se deben a diferencias en las concentraciones hormonales, ya que todas las hembras recibieron las mismas dosis de estradiol y progesterona, mostrando que la receptividad es independiente del tipo de cópula.

En los experimentos realizados en este trabajo, el grupo de exposición (Expo) no generó un CPL. Aunque Frye y Rhodes (2006) mostraron que, la administración de estradiol (a 10µg), como reforzador del compartimento no preferido, genera condicionamiento de preferencia de lugar (CPL). Nuestros resultados coinciden con estudios previos que han demostrado que la administración de BE y progesterona (P), no generan un CPL, aún en altas concentraciones (García-Horsman y Paredes, 2004; Gonzalez-Flores y col., 2004; Martínez y Paredes, 2001; Paredes y Alonso, 1997), a menos de que las hembras puedan regular la cópula (Corona y col., 2011). En el presente trabajo el reemplazo hormonal no fue el único factor del grupo Expo. Puesto que, las hembras recibieron estimulación social, olfativa, visual y auditiva. Si bien se ha

demostrado que, algunos de estos estímulos son incentivos para la hembra (Nofrey y col., 2008; Snoeren y Agmo, 2014). En nuestros experimentos estos estímulos en combinación con las hormonas no generaron un CPL.

Se ha demostrado que, el macho es un incentivo sexual, independientemente de la experiencia sexual de la hembra (Agmo, 1999). Es decir, el macho es un estímulo que de manera natural produce por parte de la hembra una conducta de acercamiento. Cuando las hembras no están en estro, tanto machos como hembras tienen un valor incentivo social. Cuando los niveles de estradiol y progesterona aumentan se genera en la hembra una motivación por la búsqueda de un macho. Una vez que la hembra ha tenido experiencia sexual usan su estado hormonal como estímulo discriminativo y el valor incentivo del macho aumenta (Nofrey y col. 2008). Las hembras utilizadas en este trabajo, mostraron una motivación incentiva hacia los machos durante todas las sesiones porque no se modificaron las latencias para iniciar la conducta ni para regresar con el macho, en el caso de la copula regulada.

Desde hace mucho tiempo se propone que existe una sinergia entre la experiencia sexual y el estado hormonal de las hembras, se ha demostrado que ratas OVX y suplementadas con testosterona, muestran una clara preferencia hacia un macho después de recibir montas (De Jonge y col., 1987). Posteriormente Matuszczyk y Larsson (1990) demostraron que esta preferencia se debe a la transformación de la testosterona a estradiol por parte de la enzima aromatasa.

Respecto a los efectos de la experiencia sexual en la hembra, se sugiere que la conducta mostrada en la CR es estable por parte de la rata hembra (Erskine, 1985; Erskine, 1989). Por otra parte, se ha demostrado que las hembras receptivas prefieren el olor de un macho intacto al de un macho castrado. Esta preferencia es independientemente de la experiencia sexual (Brown, 1977) y aumentada si la hembra se encuentra en estro (Carr y col., 1965). Pese a que nuestros datos exclusivos de la CR, no nos permiten enunciar que las hembras pasan más tiempo con el macho, cabe resaltar que las latencias de regreso no son un indicador de preferencia a los olores del macho, sino a la estimulación sexual.

Nosotros analizamos los efectos de la experiencia sexual sobre las propiedades reforzantes de la cópula en la rata hembra. Con anterioridad se ha analizado el papel que tiene la experiencia sexual sobre las propiedades reforzantes de la cópula en machos. Por ejemplo, Tenk y cols. (2009) demostraron que en machos con experiencia sexual (aquellos que eyacularon en al menos tres de cinco sesiones de cópula) de seis a ocho intromisiones no son suficientes para generar un CPL. En cambio, una eyaculación es

suficiente para generar este condicionamiento. Camacho y cols. (2004) demostraron que después de diez sesiones de cópula regulada por el macho (una por semana), se genera un CPL. Mientras que, el grupo de machos que copuló sin regular la cópula no cambio su preferencia.

Se ha establecido que el núcleo accumbens está involucrado en la regulación de las conductas motivadas (Ikemoto y Panksepp, 1999). Cuando se lesiona este núcleo utilizando 6-hidroxidopamina, las hembras lesionadas mostraron lordosis pero no mostraron conductas proceptivas (Robbins y col. 1989). Adicionalmente, se demostró que, la dopamina es liberada por el núcleo accumbens en la rata hembra, únicamente cuando es capaz de regular las intromisiones. Basados en estas observaciones se propuso que la dopamina está involucrada en la modulación de la CR (Mermelstein y Becker, 1995; Pfaus y col. 1995; Xiao y Becker, 1997). Más aún, Domínguez-Salazar y cols. (2014) demostraron que los receptores D1 están implicados en el estado afectivo positivo inducido por la eyaculación en el macho. Sin embargo, la administración de antagonistas dopaminérgicos no bloquea el CPL inducido por la cópula regulada (Agmo y Berenfeld 1990; García Horsman y Paredes 2004). Por otro lado, existen evidencias claras de que el CPL inducido por la cópula se bloquea por la administración del antagonista opioide naloxona tanto en machos (Agmo y Gomez, 1993) como en hembras (García-Horsman y col., 2008; Paredes y Martinez 2001). En estudios futuros deberemos determinar si la administración de naloxona bloquea el CPL inducido por la cópula en animales que tienen amplia experiencia sexual, es decir 10 sesiones.

La expresión de los receptores mu en el hipotálamo varía dependiendo de la etapa del ciclo estral, estos receptores tienen un feedback positivo respecto a los estrógenos (estradiol y progesterona) (Maggi y col., 1991). Por lo que nosotros sugerimos el siguiente mecanismo en la inducción del estado afectivo positivo por la cópula. En la mañana del proestro la alta concentración de estradiol incrementa el número de receptores a opioides tipo mu en el hipotálamo. La liberación de los opioides endógenos que ocurre durante la cópula (Paredes 2014) estimula a los receptores tipo mu generando el estado placentero asociado a la cópula. En nuestro trabajo a todas las ratas recibieron estradiol 48 horas antes de cada sesión, por lo que es muy probable que el CPL de las ratas del experimento A esté mediado por los receptores a opioides tipo mu en el hipotálamo y otras estructuras cerebrales. De hecho, la administración de naloxona en el hipotálamo ventromedial, o en el área preóptica medial o en la amígdala bloquea el CPL inducido por la copula regulada en 3 sesiones sugiriendo que los opioides modulan este estado placentero.

En el experimento A, los animales que copularon, tanto en CR y CNR, generaron un CPL. Este resultado era de esperarse en las hembras que regularon la cópula pero no en el grupo de CNR. Se sabe que la experiencia sexual modifica la expresión de la conducta en el caso de los machos (Dewsbrury, 1969; Larson, 1956). En el caso de las hembras, cuando copulan con machos impregnados con olor a almendra, muestran una preferencia sexual por los animales con los que copularon previamente (Coria-Avila y col., 2005). Es decir, la hembra puede asociar estímulos que en un principio son irrelevantes con un posible EAP. Proponemos que un proceso de aprendizaje similar ocurrió en los animales del grupo CNR del experimento A. En este caso, la estimulación sexual que recibieron se asoció con un patrón temporal fijo (5 días). El mantenimiento de este patrón permitió a las hembras predecir que el macho ejecutaría una respuesta sexual, generando un EAP inferido por el cambio de preferencia, sin importar si regula o no la cópula.

Por otra parte, los animales del experimento B, no generaron un CPL después de diez sesiones de cópula. Este efecto puede atribuirse al cambio de intervalo en la estimulación (de 5 a 2 días de intervalo de reforzamiento). Este cambio posiblemente interfiere con el aprendizaje adquirido durante las primeras 7 sesiones. Se ha demostrado que el patrón temporal que la hembra marca es esencial para generar un CPL. Jenkins y Becker (2003) demostraron que al retirar al macho por un lapso de entre 45 y 120 segundos las hembras generan un estado afectivo positivo parecido al que se genera cuando las hembras regulan la cópula. Podríamos suponer que, el copular una vez por semana es similar al periodo en el que las hembras están receptivas en su ciclo natural. Al reducir el intervalo de cópula a 2 días, las propiedades apetitivas de la cópula pudieran disminuir aumentando las aversivas, de esta manera el estado afectivo positivo no se genera.

En el experimento B, es decir cuando las hembras fueron reforzadas cada 2 días después de copular una vez por semana por 5 sesiones, se encontraron algunas diferencias en los parámetros conductuales más dependientes del macho como son el intervalo post-eyaculatorio, el número de intromisiones y el número de eyaculaciones. Estas diferencias sugieren que la estimulación que recibieron las hembras no fue constante, como la que recibieron las hembras en el experimento A. Este es otro factor que pudo contribuir a que en el experimento B no se generará un estado afectivo positivo.

7 Conclusión

Nosotros proponemos que las señales quimiosensoriales sexualmente relevantes provenientes de un macho que recibe una hembra en estro, no generan un estado afectivo positivo. A pesar de que la interacción con estas señales se repita por varias sesiones, debido a lo cual se requiere un estímulo extra, la cópula, para que se genere este estado fisiológico.

Los datos obtenidos indican que después de 10 sesiones de cópula, cada 5 días, se genera un estado afectivo positivo, sin importar si la hembra regula o no la cópula. Este hecho nos da a entender que, la cópula regulada mantiene sus propiedades reforzantes. En cambio, la cópula no regulada es capaz de generar un estado afectivo positivo después de 10 sesiones de cópula.

Los resultados del presente trabajo permiten proponer que, las propiedades de la cópula no sólo son dependientes de la experiencia, incluso son dependientes del intervalo de reforzamiento, ya que las ratas que fueron reforzadas con cópula, cada 2 días no generaron un estado afectivo positivo, después de 10 sesiones de cópula.

8 Bibliografía

Adler NT. (1969). Effects of the male's copulatory behavior on successful pregnancy in the female rat. *Journal of comparative and physiological psychology*. 69: 613-622.

Agmo A. (1999). Sexual motivation. An inquiry into events determining the occurrence of sexual behavior. *Behavior Brain Research*. 105: 129-50.

Agmo A, Berenfeld R. (1990). Reinforcing Properties of Ejaculation in the Male Rat: Role of Opioids and Dopamine. *Behavioral Neuroscience*. 104: 177-182.

Agmo A, Ellingsen E. (2003). Relevance of non-human animal studies to the understanding of human sexuality. *Scandinavian Journal of Psychology*. 44: 291-299.

Agmo A, Gomez M. (1993). Sexual reinforcement is blocked by infusion of naloxone into the medial preoptic area. *Behavioral Neuroscience*. 107: 812-818.

Agmo A, Turi AL, Ellingsen E, Kaspersen H. (2004). Preclinical models of sexual desire: conceptual and behavioral analyses. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 78: 379-404.

Arzate DM, Portillo W, Rodríguez C, Corona R, Paredes RG. (2011). Extended paced mating tests induces conditioned place preference without affecting sexual arousal. *Hormones and Behavior*. 59: 674-680.

Bashour NM, Wray S. (2012). Progesterone Directly and Rapidly Inhibits GnRH Neuronal Activity via Progesterone Receptor Membrane Component 1. *Endocrinology*. 153: 4457-4469.

Beach FA. (1942). Importance of progesterone to induction of sexual receptivity in spayed female rats. *Protocol of Society of Experimental Biology and Medicine*. 51: 369-367.

Beach FA. (1976). Sexual attractivity, proceptivity, and receptivity in female mammals. *Hormones and Behavior*. 7: 105-138.

Beach H. (1957). Morphine addiction in rats. *Canadian Journal of Psychology*. 11: 104-112.

Bermant G. (1961). Response latencies of female rats during sexual intercourse. *Science*. 133: 1771-1773.

Bermant G, Westbrook WH. (1966). Peripheral factors in the regulation of sexual contact by female rats. *Journal of comparative physiology*. 61: 244-250.

Beshay VE, Carr BR. (2013). Hypothalamic-pituitary-ovarian axis and the control of the menstrual cycle. En: *Clinical Reproductive Medicine and Surgery: A Practical Guide*. Falcone T and Hurd WW (Eds.). 31 DOI 10.1007/978-1-4614-6837-0_2. Springer Science+Business Media. New York.

- Blaustein JD, Erskine MS. (2002). Feminine sexual behavior: cellular integration of hormonal and afferent information in the rodent brain. En: Pfaff DW, Arnold AP, Etgen AM, Fahrbach SE & Rubin RT. (Eds.). *Hormones, Brain and Behavior*, vol. 1. Academic Press, New York. 139-214.
- Boling JL, Blandau RJ. (1939). The estrogen-progesterone induction of mating responses in the spayed female rat. *Endocrinology*. 25: 359-364.
- Bousfield GR. (1998). LH (Luteinizing Hormone). En: *Encyclopedia of Reproduction*. Vol. 2. Knobil E y Neill J (Eds.). Academic Press. USA. 1034-1054.
- Brennan PA, Zufall F. (2006). Pheromonal communication in vertebrates. *Nature*. 444: 308-315.
- Brown RE. (1977). Odor preference and urine-marking scales in male and female rats: Effects of gonadectomy and sexual experience on responses to conspecific odors. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*. 91: 1190-1206.
- Camacho F, García-Horsman P, Paredes RG. (2009). Hormonal and testing conditions for the induction of conditioned place preference by paced mating. *Hormones and behavior*. 56: 410-415.
- Camacho F, Portillo W, Quintero-Enríquez O, Paredes RG. (2009). Reward value of intromissions and morphine in male rats evaluated by conditioned place preference. *Physiology and behavior*. 98: 602-607.
- Camacho F, Sandoval C, Paredes RG. (2004). Sexual experience and conditioned place preference in male rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 78: 419-425
- Carr WJ, Loeb LS, Dissinger ML. (1965). Responses of rats to sex odors. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*. 59: 370-377.
- Chester RV, Zucker I. (1970). The influence of male copulatory behavior on sperm transport, pregnancy and pseudopregnancy in female rats. *Physiology and Behavior*. 5: 35-43.
- Coopersmith C, Candurra C, Erskine MS. (1996). Effects of paced mating and intromissive stimulation on feminine sexual behavior and estrus termination in the cycling rat. *Journal of Comparative Psychology*. 110: 176-186.
- Corona R, Camacho FJ, García-Horsman P, Guerrero A, Ogando A, Paredes RG. (2011). Different doses of estradiol benzoate induce conditioned place preference after paced mating. *Hormones and Behavior*. 60: 264-268.
- Coria-Avila GA, Ouimet AJ, Pacheco P, Manzo J, Pfaus JG. (2005). Olfactory conditioned partner preference in the female rat. *Behavioral Neuroscience*. 119: 716-725.
- De Jonge FH, Burger J, Van Haaren F, Overdijk H, Van De Poll NE. (1987). Sexual experience and performance for males or females in the female rat. *Behavioral and neural biology*. 47: 369-383.

Dewsbury DA. (1969). Copulatory behaviour of rats (*Rattus norvegicus*) as a function of prior copulatory experience. *Animal Behaviour*.17: 217–223.

Domínguez-Salazar E, Naser HF, Velázquez-Moctezuma J. (2014). D1-like antagonist blocks conditioned place preference induced by ejaculation in male rats. *Behavioural Brain Research*. 269: 15-19.

Erskine MS. (1985). Effects of paced coital stimulation on estrus duration in intact cycling rats and ovariectomized and ovariectomized- adrenalectomized hormone-primed rats. *Behavioral Neuroscience*. 99: 151-161.

Erskine MS. (1989). Solicitation behavior in the estrous female rat: a review. *Hormones and Behavior*. 23: 473-502.

Erskine MS, Baum MJ. (1982). Effects of paced coital stimulation on termination of estrus and brain indoleamine levels in female rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 17: 857-861.

Erskine MS, Kornberg E, Cherry JA. (1989). Paced copulation in rats: effects of intromission frequency and duration on luteal activation and estrus length. *Physiology and Behavior*. 45: 33-39.

Erskine MS, Marcus JI. (1981). Effects of coital stimulation on the abbreviation of estrus and hypothalamic indoleamine levels in cycling female rats. Abstract, 14th Annual Meeting. Society for the Study of Reproduction. Corvallis.

Fadem BH, Barfield RJ, Whalen RE. (1979). Dose-response and time-response relationships between progesterone and the display of patterns of receptive and proceptive behavior in the female rat. *Hormones and Behavior*. 13: 40-48.

Freeman M. (2006). Neuroendocrine control of of the ovarian cycle of the rat. En: Knobil and Neill's *Physiology of reproduction* (Eds). 3rd Ed. Edited by Jimmy D. Neil Elsevier. 2327-2330.

Frye CA, Rhodes ME. (2006). Administration of estrogen to ovariectomized rats promotes conditioned place preference and produces moderate levels of estrogen in the nucleus accumbens. *Brain Research*. 1067: 209-215.

García-Horsman P, Agmo A, Paredes RG. (2008). Infusions of naloxone into the medial preoptic area, ventromedial nucleus of the hypothalamus, and amigdala block conditioned place preference induced by mating paced behavior. *Hormones and Behavior*. 54: 709-706.

García-Horsman P, Paredes RG. (2004). Dopamine antagonists do not block conditioned place preference induced by paced mating behavior in female rats. *Behavioral Neuroscience*. 118: 356-364.

Gonzalez-Flores O, Camacho FJ, Dominguez-Salazar E, Ramirez-Orduna JM, Beyer C, Paredes, RG. (2004). Progestins and place preference conditioning after paced mating. *Hormones and Behavior*. 46: 151-157.

Guyton A, Hall J. (2001) *Tratado de fisiología médica*. 10ma Ed. McGraw Hill Interamericana. México. 1018-1019.

Haensel SM. (1998). Serotonergic modulation of sexual Behavior in male rats and men. Publicado por Köchel Society.

Hardy DF, DeBold JF. (1971). The relationship between levels of exodus hormones and the display of the lordosis of the female rats. *Hormones and Behavior*. 2: 287-297.

Hardy DF, DeBold JF. (1972). Effects of coital stimulation upon behavior of the female rat. *Jornual of Comparative Physiological Physiology*. 78: 400-408.

Hasenöhrl RU, Oitzl MS, Huston JP. (1989). Conditioned place preference in the corral: a procedure for measuring reinforcing properties of drugs. *Jornual of Neuroscience Methods*. 30: 141-146.

Heape W. (1900). The "sexual season" of mammals and the relation of the "pro-oestrum" to menstruation. *The Quarterly Journal of Microscopical Science*. 44: 1-70.

Hlinak Z, Madlafousek J. (1977). Female precopulatory Behavior as a determinant of sexual activity in male rats. *Activitas nervosa superior*. 19: 242-243.

Ikemoto S, Pansepp J. (1999). The role of nucleus accumbens dopamine in motivated behavior: a unifying interpretation with special reference to reward-seeking. *Brain research reviews*. 31: 6-41.

Jenkins M. (1928). The effect of segregation on the sex behavior of the white rat as measured by the obstruction method: From the animal laboratory of the Department of psychology, Columbia university. Worcester, Mass: Clark University.

Jenkins WJ, Becker JB. (2003). Female rats develop conditioned place preference for sex at their preferred interval. *Hormones and Behavior*. 43: 503-507.

Jenkins WJ, Becker JB. (2005). *Sex. En: The behavior of the laboratory rat*. Whishaw IQ, Kolb B. (Eds.). Oxford.

Kuiper GG, Enmark E, Pelto-Huikko M, Nilsson S, Gustafsson JA. (1996). Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proceedings of the National Academy of Sciences. USA*. 93: 5925–5930.

Larriva-Sahd J. (2008). The accessory olfactory bulb in the adult rat: A cytological study of its cell types, neuropil, neuronal modules, and interactions with the main olfactory system. *The Jornual of comparative neurology*. 510: 309-350.

Larsson K. (1956). *Conditioning and Sexual Behavior in the Male Albino Rat*. Almqvist och Wiksell, Stockholm.

Levine JE. (1997). New concepts of the neuroendocrine regulation of gonadotropin surges in rats. *Biology Reproduction*. 56:293-302.

Maggi R, Limonta P, Dondi D, Piva F. (1991). Modulation of the binding characteristics of hypothalamic Mu opioid receptors in rats by gonadal steroids. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 40: 113-121.

Martínez I, Paredes RG. (2001). Only self-paced mating is rewarding in rats of both sexes. *Hormones and Behavior*. 40: 510-517.

- Matuszczyk JV, Larsson K. (1990). Role of androgen, estrogen and sexual experience on female rat's partner preference. *Physiology and Behavior*. 50: 139-142.
- McClintock MK, Adler NT. (1978). The role of the female during copulation in wild and domestic Norway rats (*Rattus norvegicus*). *Behaviour*. 67: 67-96.
- McClintock MK, Anisko JJ. (1982). Group mating among Norway rats. I. Sex differences in the pattern and neuroendocrine consequences of copulation. *Animal Behaviour*. 30: 398-409.
- McClintock MK, Anisko JJ, Adler NT. (1982). Group mating among Norway rats. II. The social dynamics of copulation: competition, cooperation, and mate choice. *Animal Behaviour*. 30: 410-425.
- Mermelstein PG, Becker JB. (1995). Increased extracellular dopamine in the nucleus accumbens and striatum of the female rat during paced copulatory behavior. *Behavioral Neuroscience*. 109: 354 -365.
- Min-Poblete IE. (2013). Efectos del alcohol a 6.25% en el lado derecho de POA-AHA sobre la ovulación y la expresión de ARNm de la GnRH y de los receptores a estrógenos. (Tesis para obtener el grado de licenciado en Biología). Facultad de estudios superiores Zaragoza. UNAM. México.
- Nelson RJ. (2000). An introduction to behavioral endocrinology. 2nd. Ed. Sinauer Associates, Inc. 273-335.
- Nissen HW. (1929). The effects of gonadectomy, vasotomy, and injections of placental and orchic extracts on the sex behavior of the white rat. *Genetic Psychology Monographs*. 5: 449-550.
- Nofrey B, Rocha B, Lopez HH, Ettenberg A. (2008). The effects of sexual experience and estrus on male-seeking motivated behavior in the female rat. *Physiology and Behavior*. 95: 533-538.
- Paredes RG. (2014). Opioids and sexual reward. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 121:124-31.
- Paredes RG, Alonso A. (1997). Sexual behavior regulated (paced) by the female induces conditioned place preference. *Behavioral Neuroscience*. 111: 123-128.
- Paredes RG, Martínez I. (2001). Naloxone blocks place preference conditioning after paced mating in female rats. *Behavioral Neuroscience*. 115: 1363-1367.
- Paredes RG, Vázquez B. (1999). What do female rats like about sex? Paced mating. *Behavioral Brain Research*. 105: 117-127.
- Peirce JT, Nuttall RL. (1961). Self-paced sexual behavior in the female rat. *Journal of comparative and physiological psychology*. 54: 310-313.
- Pfaff DW, Agmo A. (2002). Reproductive motivation. En: Steven's handbook of experimental psychology. Vol. 3. Pashler H, Gallistel R. (Eds.). Learning, Motivation, and Emotion. New York: Wiley. 709-736.

- Pfaus JG, Damsma G, Wenkstern D, Fibiger HC. (1995). Sexual activity increases dopamine transmission in the nucleus accumbens and striatum of female rats. *Brain Research*. 693: 21-30.
- Planel H. (1953). Etude anatomique et physiologique de l'organe Jacobson. *Arch. Anat. Histol. Embryol.* 36: 199-205.
- Powers B, Valenstein ES. (1972). Sexual receptivity: facilitation by medial preoptic lesions in female rats. *Science*. 175: 1003-1005.
- Powers JB, Winans SS. (1975). Vomeronasal organ: critical role in mediating sexual behavior of the male hamster. *Science* 187. 961-963.
- Robbins TW, Cador M, Taylor JR, Everitt. (1989). Limbic-Striatal interactions in Reward-Related Processes. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 13: 155-162.
- Schwartz NB. (2000). Neuroendocrine regulation of reproductive cyclicity. En: *Neuroendocrinology in Physiology and Medicine*. Conn PM y Mefreema (Eds.). Raven Press. USA. 135-145.
- Sleiter N, Pang Y, Park C, Horton TH, Dong J, Thomas P, Levine JE. (2009). Progesterone receptor A (PRA) and PRB-independent effects of progesterone on gonadotropin-releasing hormone release. *Endocrinology*. 150: 3833-3844.
- Smith MS, Freeman ME, Neill JD. (1975). The control of progesterone secretion during the estrous cycle and early pseudopregnancy in the rat: prolactin, gonadotropin and steroid levels associated with rescue of the corpus luteum of pseudopregnancy. *Endocrinology*. 96: 219-26.
- Snoeren EMS, Agmo A. (2014). The incentive value of males' 50-kHz ultrasonic vocalizations for female rats (*Rattus norvegicus*). *Journal of Comparative Physiology*. 128: 40-55.
- Soriano Mas C, Guillazo Blanch G, Redolar Ripoll DA, Torras García M, Vale Martínez A. (2007). *Fundamentos de neurociencia*. UOC Ed., España. 218.
- Tenk CM, Wilson H, Zhang Q, Pitchers KK, Coolen LM. (2009). Sexual reward in male rats: Effects of sexual experience on conditioned place preferences associated with ejaculation and intromissions. *Hormones and Behavior*. 55: 93-97
- Warner LH. (1927). A study of sex behavior in the white rat by means of the obstruction method. *Comparative Psychology Monographs*. 4: 1-66.
- Whalen RE. (1974). Estrogen-progesterone induction of mating in female rats. *Hormones and Behavior*. 5: 157-162.
- Winans SS, Powers JB. (1977). Olfactory and vomeronasal deafferentation of male hamsters: histological and behavioral analyses. *Brain Research*. 126: 325-344.
- Xiao L, Becker JB. (1997). Hormonal Activation of the Striatum and the Nucleus Accumbens Modulates Paced Mating Behavior in the Female Rat. *Hormones and Behavior*. 32: 114-124.
- Yang LY, Clemens LG. (1996). Relation of intromissions to the female's postejaculatory refractory period in rats. *Physiology and Behavior*. 60: 1505-1511.

Yang LY, Clemens LG. (1997). Function of intromissions and intromission-return latency of female rats during paced sexual behavior. *Physiology and Behavior*. 61: 889-894.

9 Índice de tablas, figuras y nomenclatura

9.1 Índice de figuras

Figura 1. Los diferentes tipos celulares que se pueden observar en un frotis vaginal.	5
Figura 2. Concentración de hormonas durante el ciclo estral.....	7
Figura 3. Patrones de la conducta sexual femenina.....	13
Figura 4. Esquema experimental.....	23
Figura 5. Grupo I Exposición (Expo).....	24
Figura 6. Cópula regulada por la hembra (CR).....	25
Figura 7. Cópula no regulada (CNR).	26
Figura 8. Caja de condicionamiento de preferencia de lugar (CPL).	29
Figura 9. Fases del CPL.	31
Figura 10. Experimento A.	33
Figura 11. Experimento B.	34
Figura 12. CPL del experimento A.....	41
Figura 13. CPL del experimento B.....	47

9.2 Índice de tablas

Tabla 1.1. Experimento A. Parámetros conductuales ejecutados por el macho.....	37
Tabla 1.1. Continuación.....	38
Tabla 1.2. Experimento A. Parámetros de la receptividad de la hembra.....	39
Tabla 1.3. Experimento A. Parámetros conductuales exclusivos de la CR.....	40
Tabla 2.1. Experimento B. Parámetros conductuales ejecutados por de macho.....	43
Tabla 2.1. Continuación.....	44
Tabla 2.2. Experimento B. Parámetros de la receptividad de la hembra.....	45
Tabla 2.3. Experimento B. Parámetros conductuales exclusivos de la CR.....	46

9.3 Nomenclatura

#E	Número de eyaculaciones
#I	Número de intromisión
#M	Número de montas
%SE	Porcentaje de salida de eyaculación
%SI	Porcentaje de salida de intromisión
%SM	Porcentaje de salida de monta
ADN	ácido desoxirribonucleico
APM	Área preóptica medial
BE	Benzoato de estradiol
BOA	Bulbo olfatorio accesorio
CNR	Cópula no regulada
CPL	Condicionamiento de preferencia de lugar
CR	Cópula regulada
Expo	Exposición
FSH	Hormona folículo estimulante
GnRH	Hormona liberadora de gonadotropinas
HA	Hipotálamo anterior
HVM	Hipotálamo ventromedial
III	Intervalo inter-intromisión
IML	Intensidad media de lordosis
IPE	Intervalo posteyaculatorio
LE	Latencia de eyaculación
LH	Hormona luteinizante
LI	Latencia de intromisión
LM	Latencia de monta
LR	Latencias de regreso
LRE	Latencia de regreso de eyaculación
LRI	Latencia de regreso de intromisión
LRM	Latencia de regreso de monta
NLET	núcleo del lecho de la estría terminal
OVN	Órgano vomeronasal
OVX	Ovariectomizadas
p	probabilidad
P	Progesterona
PGRMC1	receptores de progesterona de componente de membrana 1
PRL	Prolactina
QL	Coeficiente de lordosis
RE α	Receptor a estrógenos alfa
RE β	Receptor a estrógenos beta
RP-A	Receptor a progesterona A
RP-B	Receptor a progesterona B
RP-C	Receptor a progesterona C