



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA
BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

**Estudio del efecto del estradiol y la dihidrotestosterona en la conducta
paterna en el ratón de los volcanes *Neotomodon alstoni***

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

Romeo Eduardo Loya Zurita

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: Dra. Juana Alba Luis Díaz
Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM.

COMITÉ TUTOR: Dr. Rodolfo Cárdenas Reygadas
Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM,
Dra. Pilar Durán Hernández
Facultad de Ciencias, UNAM,

CdMx. Septiembre, 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA
BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

**Estudio del efecto del estradiol y la dihidrotestosterona en la conducta
paterna en el ratón de los volcanes *Neotomodon alstoni***

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

Romeo Eduardo Loya Zurita

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: Dra. Juana Alba Luis Díaz
Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM.

COMITÉ TUTOR: Dr. Rodolfo Cárdenas Reygadas
Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM,
Dra. Pilar Durán Hernández
Facultad de Ciencias, UNAM,

MÉXICO, CdMx. Agosto, 2017

Lic. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 13 de febrero de 2017, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** del alumno **LOYA ZURITA ROMEO EDUARDO**, con número de cuenta 409015186, con la tesis titulada "**Estudio del efecto del estradiol y la dihidrotestosterona en la conducta paterna en el ratón de los volcanes *Neotomodon alstoni***", realizada bajo la dirección de la **DRA. JUANA ALBA LUIS DÍAZ**:

Presidente: DR. JORGE RICARDO GERSENOWIES RODRÍGUEZ
Vocal: DR. ROBERTO EDMUNDO MUNGUIA STEYER
Secretario: DR. RODOLFO CÁRDENAS REYGADAS
Suplente: DR. RENÉ DE JESÚS CÁRDENAS VÁZQUEZ
Suplente: DRA. ANA LILIA CERDA MOLINA

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cd. Universitaria, Cd. Mx., a 12 de mayo de 2017.



DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA

c.c.p. Expediente del (la) interesado (a)

AGRADECIMIENTOS

Diversos actores tuvieron parte en la realización de este trabajo, gracias a los cuales fue posible llevarlo a buen término. En primera instancia, se agradece al Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM la oportunidad de aumentar y reforzar mi formación profesional a través de mi estancia en su programa de Maestría en Ciencias Biológicas (Biología Experimental)

Asimismo se agradece al CONACYT por la beca con número de CVU 630833 que se me otorgó para poder participar por tiempo completo en el programa del Posgrado en Ciencias Biológicas,

También se agradece al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) IN213317 de la Universidad Nacional Autónoma de México, que permitió financiar este proyecto.

Finalmente, se extiende agradecimientos a la Tutora Principal de este trabajo, la Dra. Juana Alba Luis Díaz, así como a los miembros del Comité Tutorial, el Dr. Rodolfo Cárdenas Reygadas y la Dra. Pilar Durán Hernández, sin cuya asistencia este proyecto no se hubiera podido llevar a cabo.

AGRADECIMIENTOS A TITULO PERSONAL

Todo trabajo de investigación científica, por la misma naturaleza gregaria de la ciencia, y aun siendo la culminación del esfuerzo personal del alumno requiere de la actuación de varios participantes en su proceso, los cuales en la medida de sus posibilidades aportaron su tiempo, esfuerzo, intelecto e incluso dinero para hacerlo posible. Por tanto, quiero brindar en primera instancia mi agradecimiento a mi tutora, la Dra. Juanita Luis, por brindarme todo su apoyo en el aspecto material y desde luego su gran conocimiento y experiencia en el tema; ha sido un honor haber sido su alumno. A los miembros de mi Comité Tutoral, el Dr. Rodolfo Cárdenas Reygadas y la Dra. Pilar Durán Hernández, quienes más de una vez ayudaron a un servidor a tener cabal comprensión de la complejidad intrínseca del proyecto; al M. en C.B. Agustín Carmona Castro y el Bioterio de la Facultad de Ciencias de la UNAM, quien me introdujo a los misterios y aspectos prácticos de la cirugía en (muy) pequeñas especies; a la M. en C.B. Carmen Álvarez, por su inestimable ayuda en todo tipo de tareas propias de laboratorio; al M en C.B. Luis Oscar Romero Morales, amigo y colega, quien fue de gran ayuda y apoyo en la parte final de las técnicas de implante y cirugía; a mis compañeros del laboratorio Ema, Anita, Brenda, Berenice, Alejandro, Ariel, Francisco, Yabin, Max y Armando, gracias por los momentos y desde luego, a la Facultad de Estudios Superiores Iztacala de la UNAM.

INDICE

Resumen.....	1
Abstract.....	2
Introducción.....	3
Antecedentes.....	18
Hipótesis.....	21
Objetivo general.....	22
Objetivos particulares.....	22
Materiales y métodos.....	23
Resultados.....	27
Discusión.....	33
Conclusiones.....	38
Bibliografía.....	39

RESUMEN

La conducta paterna en los mamíferos es regulada por hormonas como la testosterona (T) y sus metabolitos, el estradiol (E2) y la dihidrotestosterona (DHT). En el ratón de California *Peromyscus californicus*, incrementos en la concentración de T en plasma facilitan la exhibición de cuidados paternos, ejerciendo sus efectos a través de su conversión a E2. En el gerbo de Mongolia *Meriones unguiculatus*, E2 y DHT están implicados en la regulación de esta conducta. En el macho del ratón de los volcanes *Neotomodon alstoni*, se ha mostrado que la T participa en los mecanismos que inhiben el infanticidio y promueven la exhibición de cuidados paternos, pero se desconoce la vía metabólica de su regulación. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto del E2 y la DHT en la conducta paterna del ratón de los volcanes. Se utilizaron 40 ratones machos, vírgenes, agresivos o indiferentes hacia las crías, que se organizaron en 4 grupos. Los ratones de los 3 primeros grupos fueron castrados bilateralmente y 2 de estos grupos recibieron tratamiento de reemplazo hormonal de E2 o DHT; los del grupo restante, no recibieron ningún tratamiento. A los machos del cuarto grupo se les simuló el procedimiento. Después del tratamiento fueron sometidos a pruebas de conducta paterna. Los resultados obtenidos mostraron que mientras que en los animales con reemplazo de E2 sólo el 60% cambió su conducta agresiva o indiferente a paternal, el 80% de los ratones con reemplazo de DHT transitaron de agresivos o indiferentes a paternos. La castración y la simulación del procedimiento no ocasionaron ningún cambio en la conducta. En su conjunto, estos resultados sugieren que en el ratón de los volcanes la T regula la conducta paterna a través de su conversión a E2 y DHT.

ABSTRACT

Paternal behavior in mammals is regulated by hormones as testosterone (T) and its metabolites, estradiol (E2) and dihydrotestosterone (DHT), among others. In the California mouse *Peromyscus californicus*, increases of T concentrations in plasma facilitate display of parental care. In this rodent, testosterone exerts its effects through its conversion to E2. However, in the Mongolian gerbil *Meriones unguiculatus* both metabolites of T are involved in the regulation of this behavior. In Mexican volcano mouse males *Neotomodon alstoni*, it has shown that T is involved in the mechanisms that inhibit infanticide and promote the exhibition of parental care, but the metabolic pathway of regulation is unknown. The aim of this study was to determine the effect of E2 and DHT in paternal behavior of this species. Forty virgin males, aggressive or indifferent to offspring, were organized into 4 experimental groups. Mice of the first three groups were bilaterally castrated and two of these groups received E2 or DHT hormone replacement therapy; The third group received no treatment. The males of the fourth group were sham operated. After treatment, each male was tested for paternal behavior. The results showed that whereas only 60% of animals with E2 replacement therapy changed from aggressive or indifferent to paternal behavior, 80% of mice with DHT replacement transitioned from aggressive or indifferent to paternal,. Neutering and sham surgery did not cause any change in behavior. These results suggest that in the Mexican volcano mouse, T regulates parental behavior through its conversion to E2 and DHT.

INTRODUCCIÓN

En mamíferos la conducta materna es considerada uno de los de los factores definitivos de su éxito evolutivo (Wynne-Edwards, 2010). En estos vertebrados la hembra generalmente cuida sola a sus crías, mientras que los machos incrementan su éxito reproductivo apareándose con varias hembras, antes que proporcionar cuidados paternos (Trivers, 1972). Sin embargo, en aproximadamente el 5% de las especies de los mamíferos, el macho participa significativamente en el cuidado de su descendencia (Kleiman y Malcolm, 1981). La conducta paterna se define como el conjunto de actividades que realiza el macho en beneficio de las crías, que pueden aumentar la sobrevivencia de éstas y/o reproducción (Clutton-Brock, 1991).

La presencia de la conducta paterna en los mamíferos ha sido observada en varias especies de primates, carnívoros, perisodáctilos y roedores, esta conducta está generalmente asociada al sistema de apareamiento monogámico (Woodroffe y Vincent, 1994). La conducta paterna parece haber surgido varias veces a lo largo de la evolución, en diferentes especies que no tienen ninguna relación filogenética directa, por lo cual se ha planteado que la conducta paterna surgió como respuesta a presiones de selección locales (Wynne-Edwards y Timonin, 2007).

A diferencia de la conducta materna, la conducta paterna está disociada de los cambios fisiológicos de la preñez y el parto, por lo cual se ha propuesto que esta conducta puede ser analizada sin la intervención de estos eventos (Wynne-Edwards, 2010). No obstante, varios estudios señalan que la conducta

paterna también es regulada por hormonas como la testosterona (T), estradiol (E2), dihidrotestosterona (DHT), prolactina (PRL), progesterona (PR), entre otras (Wynne-Edwards y Reburn, 2000). En la mayoría de las especies de roedores, factores sociales, como la cohabitación con la hembra y/o las crías, la cópula e inclusive olores (feromonas) de la hembra, inducen cambios neuroendocrinos que facilitan la transición de los machos de no paternos a paternos (Brown, 1993).

Origen y diversidad de la conducta paterna en los vertebrados.

Entre los vertebrados la conducta paterna ha surgido repetidas veces a lo largo de diversos linajes evolutivos y se presume que presiones de selección debidas a factores ecológicos tales como condiciones ambientales extremas o alta intensidad en la competencia por recursos han estimulado la expresión de esta conducta. Esto se ha postulado para teleósteos, paseriformes, primates y roedores (Brown, 1985, 1993, Klug *et al.*, 2012).

En varias especies de peces y anfibios, el macho es el que se encarga de la nidada y la progenie; y esta conducta se cree que está ligada a una estrategia asociada a una reducción de los costos en la fertilización y atracción de la pareja por los machos, permitiendo a estos guardar puestas de una o varias hembras en un momento y espacio determinados, optimizando así los costos que implican los cuidados paternos. El cuidado materno en estos vertebrados es una estrategia secundaria y está relacionado con la fertilización interna (Beck, 1998; Reynolds *et al.*, 2002). Por lo que se ha propuesto que en peces y anfibios la conducta paterna sería de hecho una condición plesiomórfica (Balshine, 2012).

Si bien los reptiles actuales se caracterizan en la mayoría de las especies por una carencia absoluta de cuidados parentales directos, se ha registrado conducta biparentales en ocho especies de cocodrilos (Reynolds *et al.*, 2002; Balshine, 2012).

Con respecto a las aves, en la actualidad existe la discusión entre dos hipótesis contrarias respecto de la aparición del cuidado paterno en estos vertebrados. Una de ellas expresa que el estado ancestral en las aves es el cuidado materno, apareciendo posteriormente la transición hacia el cuidado biparental y el cuidado exclusivo por parte del macho, mientras que la otra hipótesis mantiene que las transiciones surgen de manera contraria. Puesto que entre las aves, tanto machos como hembras presentan capacidades iguales para alimentar, proteger y abrigar a los polluelos, y cada progenitor puede hacerse cargo de ellos si el otro deserta o muere, ambos modelos son plausibles (Reynolds *et al.*, 2002; Blashine, 2012).

Sin embargo, el grado de importancia del cuidado paterno en las aves aumenta para las hembras de acuerdo con las exigencias energéticas a las que se encuentran sometidas estas, mientras que el decremento en la importancia del macho en el cuidado de la nidada está en función de la disminución del grado de certidumbre de paternidad (Bart y Tornes, 1989).

A diferencia de las aves, donde aproximadamente el 90% de las especies son monógamas, entre los mamíferos la monogamia social está limitada a un máximo del 10% de las especies conocidas, y frecuentemente asociada a la monogamia genética. Sin embargo, no todas las especies de mamíferos monógamos presentan conducta paterna, sugiriendo que esta conducta,

apareció en algunos grupos, en respuesta a presiones locales de selección y a la certidumbre en la paternidad (Kleiman y Malcom, 1981; Lukas y Clutton Brock, 2013). Esto parece ser el caso en los roedores; un ejemplo lo encontramos en dos especies de hámster del género *Phodopus*, en las que las diferencias en las condiciones ecológicas han conducido a que el hámster enano chino *P. cambelli*, que habita en zonas con condiciones estacionales más marcadas y extremas haya sufrido presiones de selección que han favorecido la expresión de cuidados parentales en contraste con el hámster enano siberiano *P. sungarous*, que habita regiones climáticamente más estables, en el cual sólo la hembra se encarga del cuidado de la progenie (Wynne-Edwards, 1998). En el ratón de California *Peromyscus californicus*, se observó que la presencia del macho en condiciones de laboratorio, no afecta la supervivencia de las crías en situaciones de temperaturas ambientales cálidas, pero con temperaturas ambientales frías, la presencia del macho es determinante para una tasa alta de supervivencia de la camada (Gubernick *et al.*, 1993).

Factores sociales que influyen en la conducta paterna

Existen pocos estudios de los factores sociales que participan en la regulación de la conducta paterna de los mamíferos, específicamente en los roedores, aunque en general se ha observado que la presencia de las crías y/o de la hembra, estimulan el surgimiento y mantenimiento de los cuidados paternos (Brown, 1993). Por otro lado, la conducta paterna, como función del sistema de apareamiento, puede ser resultado de estrategias reproductivas individuales, más que características emergentes de cada especie o de las condiciones ecológicas que los distintas poblaciones que conforman la especies (Clutton-

Brock, 1989). Así, en el topillo de los prados *Microtus pennsylvanicus*, la conducta paterna se presenta en menor grado en condiciones silvestres o en encierros semi-naturales que en cajas de laboratorio. En la rata de laboratorio *Rattus norvegicus*, los machos tienden a mostrar más cuidados paternos, mientras más pequeñas sean las cajas en que habitan. En el ratón de laboratorio *Mus musculus* y la marmota canosa *Marmota caligata*, los machos invierten más tiempo en actividades paternas, mientras más pequeñas sean las unidades sociales a las cuales pertenecen, y menor la interrelación social entre estas unidades (Dewsbury, 1985).

Existe evidencia de que diversos tipos de interacciones sociales son requeridos entre los roedores para el inicio de la conducta paterna y la inhibición del infanticidio (Brown, 1993). En algunos casos, la interacción social en etapa posnatal puede conducir a una facilitación del inicio del comportamiento paternal. Por ejemplo, las crías de topillos de los prados *M. pennsylvanicus*, especie que no presenta cuidados paternos en vida libre, criados por padres de una especie biparental filogenéticamente muy cercana, el topillo de las praderas *M. ochragaster*, mostraron mayores niveles de comportamiento paternal (McGuire, 1988). Por otro lado, la cópula y la cohabitación con compañeras preñadas estimulan la aparición de la conducta paterna e inhiben la conducta infanticida; en ratones de laboratorio de la cepa CF-1, -que muestran conducta infanticida en un porcentaje cercano al 50% de los individuos vírgenes-, se encontró que la inhibición del infanticidio, el inicio y mantenimiento de la conducta paterna y la posterior inhibición de esta y la facilitación nuevamente de la conducta infanticida, son funciones del tiempo a partir del momento de la cópula y la eyaculación (Vom Saal, 1984). Por otro

lado, la cópula y cohabitación pueden ser necesarias en otros roedores; en el ratón de California, se encontró que para las hembras sólo es necesaria la presencia de las crías, pero no del macho, para el mantenimiento de la conducta materna. En el caso de los machos de esta especie, se necesita como estímulo para el despliegue de la conducta paterna, la presencia de las crías, la cohabitación con la hembra o señales quimiotácticas de esta (Gubernick y Alberts, 1989).

Regulación neural

La regulación neuronal de la conducta paterna se ha estudiado poco, pero es posible que las mismas áreas neurales que regulan la conducta materna, también participen en la regulación de la conducta paterna (Bamshad *et al.*, 1994).

En la rata de laboratorio, se ha encontrado que lesiones causadas por la aplicación bilateral de N-Metil-DL-ácido aspártico en el área preóptica media (MPOA) provocan la disminución en la exhibición de conducta paterna en machos en los cuales previamente se había inducido esta por medio de implantes de E2 y PR (Sturgis y Bridges, 1997). En el ratón de California, lesiones electrolíticas en el MPOA causadas a machos y hembras que previamente habían mostrado conducta parental, causaron un aumento de la latencia de inicio de las actividades que integran esta conducta, en comparación con los animales en los que solamente se simuló las lesiones (Lee y Brown, 2002). Adicionalmente en esta especie parece estar también involucrado el núcleo de Raphe dorsocaudal (DRC), especialmente en padres primerizos (De Jong, *et al.*, 2009) En el ratón de laboratorio, especie en la que los machos que exhiben conducta paterna, dependiente de la presencia de la

pareja, se ha encontrado que esta conducta es interrumpida por lesiones en el MPOA, y adicionalmente el *pallidum* ventral (VP) (Akther *et al.*, 2014). En el topillo de las praderas, que presenta cuidados biparentales, en machos expuestos a crías ajenas de la especie se encontró mayor actividad, además del MPOA, en la amígdala media (MeA), el septo lateral (LS), el núcleo medio basal de la *stria terminalis* (mBNST), el núcleo *reuniens* del tálamo (NR) y el bulbo olfatorio accesorio (AOB) a través de la expresión nuclear de genes *fos*, que se utilizan como marcadores de activación neural (Kirkpatrick *et al.*, 1994).

Los resultados de estos estudios indican que áreas neurales específicas del cerebro, como el MPOA, el mBNST, la MeA y el LS desempeñan una función muy importante en la regulación neural de la conducta paterna (Fig. 1)

Aunque se ha planteado la existencia de una red central común que regula una variedad de comportamientos sociales, entre estos la conducta parental, de tal forma que el comportamiento que se produce, depende de los estímulos que tienen acceso a dicha red (Newman, 1999). Sin embargo, esta red central común, al parecer sólo es anatómica, debido a que al menos en los topillos de las praderas, el LS interviene en la regulación del comportamiento parental en ambos sexos, pero de distinta manera, en virtud de las diferencias en los neurotransmisores, utilizados por machos y hembras (Kirkpatrick y Bryant, 1995).

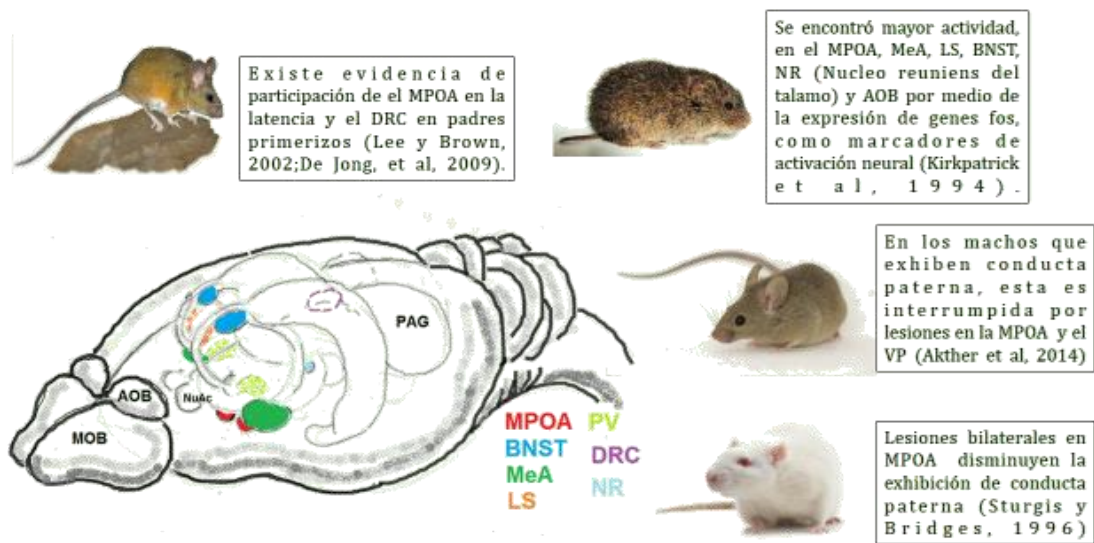


Figura 1. Áreas de regulación neural de la conducta paterna en roedores y los modelos biológicos en los que se han estudiado. Significado de la abreviaturas: BNST (núcleo basal de la *stria terminalis*), DRC (núcleo de Raphe dorsocaudal), LS (septo lateral), MeA (amígdala media), MPOA (área preóptica media), NR (núcleo *reuniens* del tálamo), PV (*pallidum* ventral) (modificado de Sokolowski y Corbin, 2012).

Regulación hormonal

Entre los vertebrados, diversas hormonas intervienen en la regulación de la conducta paterna, pero no necesariamente actúan de la misma manera. En los peces teleósteos existen pocos estudios al respecto; en el batrachoidiforme marino *Porychthis notatus* niveles altos de cortisol y niveles decrecientes de 11-cetotestosterone (11 KT) se correlacionan con el cuidado paterno de los huevos y posteriormente de los embriones (Knapp *et al.*, 1999), mientras que en el góbido de agua salada *Lythrypnus dalli*, la 11 KT facilita algunos aspectos de la conducta paterna (Rodgers *et al.*, 2006). Por otro lado, en el perciforme dulceacuícola *Amatitlania nigrofasciata* la isotocina (IT), análoga de la oxitocina

(OT) de los mamíferos, parece ser la que promueve este tipo de conducta (O'Connell *et al.*, 2012).

En anfibios y reptiles también se ha estudiado poco la regulación hormonal del cuidado paterno. En el anuro *Eleutherodactylus coqui*, rana originaria de las Antillas, la administración de T no provocó cambios en el comportamiento paterno (Townsend *et al.*, 1991).

En las aves, un grupo de vertebrados en el cual la conducta paterna es común, generalmente se asume a la T y la corticosterona (CORT) como inhibidores de esta conducta, mientras que la PRL y la PR la refuerzan (Lynn, 2015).

Como ya se mencionó, varios estudios indican que el inicio y mantenimiento de la conducta paterna es dependiente de hormonas; en el ciclo reproductivo de los machos de especies biparentales, se han observado cambios en niveles periféricos de T, E2 y PRL, principalmente, que no se observan en machos de especies uniparentales (Brown, 1985; Wynne-Edwards, 2000; Wynne-Edwards, 2010).

a) Prolactina (PRL)

Esta es una hormona proteica sintetizada en la adenohipófisis, una de sus funciones más conocidas es la regulación de la secreción láctea. No obstante, esta hormona tiene múltiples funciones, participa en la regulación de la conducta materna, estrés y cambios en el fotoperiodo y también se han reportado sus efectos en diversos aspectos del crecimiento, la osmoregulación y el sistema inmune (Bridges, *et al.*, 1997; Schradin y Azenberger, 1999).

En los vertebrados que presentan cuidados biparentales, de manera general la PRL parece tener un papel importante en el surgimiento de comportamientos

relacionados con el cuidado de las crías, más que en el mantenimiento de los mismos, y el incremento de esta hormona asociado al cuidado de las crías aparece como un carácter muy conservado en la evolución de los vertebrados (Schradin y Azenberger, 1999)

En varias especies de roedores se ha observado que los niveles periféricos de la PRL se incrementan al nacimiento de las crías, cuando los machos proporcionan cuidados a su prole; así por ejemplo, en ratas de laboratorio machos que recibieron administración de PRL se observó un incremento de receptores de esta hormona en la MPOA al tiempo que se inducía conducta paterna (Sakaguchi *et al.*, 1996). En machos del ratón de California, se encontró que los niveles de esta hormona eran mayores en padres con crías, en comparación con machos emparejados con hembras preñadas y de machos aislados, y más parecidos a madres de la especie (Gubernick y Nelson, 1989). En machos apareados del gerbo de Mongolia *Meriones unguiculatus*, ocurre un aumento de los niveles de PRL a lo largo del ciclo reproductivo, con un pico significativo a los 20 días del nacimiento de las crías (Brown *et al.*, 1995). Por otro lado, en el ratón listado africano *Rhabdomys pumilio*, especie con machos poligínicos que presentan conducta paterna de manera natural, no se presentan diferencias en los niveles de PRL medidos en laboratorio entre machos aislados, apareados y padres, pero si se presentan en vida libre, con mayores niveles de esta hormona en los machos durante la temporada de apareamiento, con respecto al resto del ciclo reproductivo (Schradin y Pillay, 2004). Finalmente, en machos del hámster enano chino tratados con mesilato de bromocriptina y cabergolina, dos agonistas de la dopamina que amplifican el efecto de regulación negativa dopamínica de la

PRL, no hubo alteración de los cuidados paternos, y por tanto en esta especie, la PRL no es esencial para este tipo de conducta. Se desconoce si el incremento en los niveles de esta hormona es la causa de la exhibición de los cuidados paternos, o bien surgen como efecto de los mismos. (Wynne-Edwards, 2010).

b) Progesterona (PR)

Esta hormona esteroide es sintetizada en las glándulas adrenales e hígado, su función en la regulación de la conducta paterna, ha sido poco estudiado. Ratones de laboratorio con bloqueo de genes para receptores de PR y ratones de tipo silvestre con bloqueo de PR no exhiben conducta infanticida y despliegan muy poca agresión hacia las crías, a la vez que muestran un aumento notorio de conducta paterna (Schneider *et al.*, 2003). En el ratón de California, en cual el E2 facilita la exhibición de cuidados paternos, bajos niveles de progesterona están correlacionados con alta actividad de aromatasa en la MPOA, enzima que convierte la T en E2, y la exhibición de la conducta paterna (Trainor *et al.*, 2003). En el hámster enano siberiano, especie poligínica y que no presenta conducta paterna y el hámster enano chino, monógamo y con conducta paternal, los niveles de progesterona son similares. Sin embargo, en el hámster enano chino, los niveles de PR son independientes de la exhibición de la conducta de recuperación de crías, que se usa como medida del nivel de intensidad de conducta paterna en esta especie (Schum y Wynne-Edwards, 2005).

c) Oxitocina (OT)

La oxitocina es una hormona neuropéptida formada por una secuencia de nueve aminoácidos, siendo sintetizada por neuronas magnocelulares en los

núcleos paraventricular y supraóptico del hipotálamo, de donde es transportada por los axones hasta sus terminaciones en la porción posterior de la hipófisis (neurohipófisis), ha sido relacionada con diversas conductas sociales, como el reconocimiento, memoria social y el establecimiento de conductas de afiliación, tales como conductas de reproducción, formación de parejas y cuidado de las crías (Young, 1999; Lee *et al.*, 2009). En el ratón de California, los niveles plasmáticos que se presentan en machos apareados con hembras preñadas son mayores que en machos con crías, presentándose los mayores niveles durante la primera mitad de la preñez de la hembra a partir del día 1, y reduciéndose hacia el final del periodo de ingravidez, sin embargo, entre machos expectantes infanticidas, indiferentes y paternos, los niveles de OT no muestran diferencias, por lo que se concluye que en esta especie, la oxitocina permanece elevada como consecuencia de la cópula y cambia a lo largo del ciclo reproductivo, pero no participa en la transición hacia la conducta paterna (Gubernick *et al.*, 1995).

d) Vasopresina (AVP)

Es una hormona peptídica sintetizada en los núcleos hipotalámicos supraóptico y paraventricular, almacenándose en la neurohipófisis. Esta hormona desempeña un papel muy importante en el establecimiento de la pareja en aquellas especies naturalmente biparentales, habiendo evidencia de que también interviene en el desarrollo de la conducta paterna (Young, 1999). Algunos estudios indican que esta hormona también participa en la regulación de las interacciones en el topillo de los prados y en el topillo de las praderas, debido al incremento de la síntesis de esta hormona en el núcleo basal de la *stria terminalis* (BNST) (Wynne-Edwards, 2010). En los machos del topillo de

las praderas, la conducta paterna se incrementa al tercer día de la cópula y se mantiene a partir del día 13 de cohabitación con la hembra, sin mostrarse cambios en la densidad de fibras inmunoreactivas a vasopresina (AVPir) en la MPOA y en núcleo paraventricular del tálamo (PVT), mientras que en el LS y el núcleo habenular lateral (LHN) se presentan cambios en los machos, presentándose la menor densidad en machos con 3 días de cohabitación y las máximas densidades en machos con 0 y 21 días de cohabitación, con densidades intermedias en machos con 13 días de cohabitación y 6 días después del nacimiento de las crías (Bamshad *et al.*, 1994). Inyecciones de AVP aplicadas en el LS de machos de esta especie ocasionaron un incremento en los cuidados paternos, así como un aumento de la expresión del gen de la vasopresina después del nacimiento de las crías (Wang *et al.*, 1994). En contraste, al comparar la expresión de las AVPir, se encontró una mayor densidad en machos del ratón de California, que es monógamo, a diferencia de machos del ratón de patas blancas *Peromyscus leucopus*, que es polígamo, en el cual se presentó una menor actividad a la de la AVP a la pronosticada (Bester-Meredith *et al.*, 1999).

e) Testosterona

Hormona esteroide producida principalmente en gónadas y en cantidades menores por las glándulas suprarrenales. Participa en la regulación de varios procesos reproductivos, tales como la producción de espermatozoides, la competencia intrasexual, conductas de cortejo, de apareamiento y recientemente ha sido implicada en la conducta paterna (Monaghan y Glickman, 1992). Generalmente, la T no actúa en su forma nativa, debido a su labilidad química, en los tejidos blanco esta hormona puede ser aromatizada a

E2, o reducida a DHT, siendo esta última hormona el andrógeno biológicamente más activo (Torres y Ortega, 2003).

En la rata de laboratorio, que no exhibe comportamiento paterno de manera natural, se ha probado el efecto del E2 en la inducción de la conducta paterna; en el macho de este roedor fueron colocados implantes de E2, en el MPOA, una región crítica en la regulación de la conducta paterna en los roedores, observándose que la administración de esta hormona indujo la exhibición de cuidados paternos (Rosenblatt y Ceus, 1998). Sin embargo, en otros roedores como el hámster enano, el E2 parece no tener ninguna función en la regulación de la conducta paterna; la reducción de los niveles de T y E2 por la castración no tiene ningún efecto en la conducta paterna (Hume y Wynne-Edwards, 2005). En el ratón de California se ha demostrado que concentraciones altas de T son necesarias para la exhibición de la conducta paterna debido a que la castración reduce el nivel de cuidados paternos, mientras que el reemplazo con T los incrementa (Trainor y Marler, 2001). En esta especie los machos tratados con E2 despliegan más cuidados paternos que los machos tratados con implantes de DHT o implantes vacíos (Trainor y Marler, 2002). Asimismo, en machos que han sido padres la actividad de la aromatasa en el MPOA es significativamente más alta que en machos apareados sin hijos (Trainor *et al.*, 2003). Estos hallazgos indican que en el ratón de California, el modelo de regulación del comportamiento paterno en algunos roedores, parece involucrar a la T como sustrato, que puede ser metabolizada a E2, por medio de la aromatasa. No obstante, en el gerbo de Mongolia, la administración de T o sus metabolitos, E2 o DHT, a machos sin experiencia sexual, promueven la transición de infanticidas a paternas, en individuos que antes de la administración de estas

		PRL	PR	OT	AVP	E2	DHT
	<i>Rhabdomys pumilio</i>	Sin diferencias de incremento entre padres y no padres	Sin información	Sin información	Sin información	Sin información	Sin información
	<i>Mus musculus</i>	Sin información	En su ausencia se inhibe el infanticidio y aumenta la conducta paterna	Sin información	Sin información	Sin información	Sin información
	<i>Rattus norvegicus</i>	Promueve la exhibición de conducta paterna	Sin información	Sin información	Sin información	Induce comportamiento paterno	Sin información
	<i>Meriones unguiculatus</i>	Altos niveles correlacionados con cuidados paternos	Sin información	Sin información	Sin información	Participación en varios componentes del cuidado paterno	Participación en varios componentes del cuidado paterno
	<i>Peromyscus californicus</i>	Altos niveles correlacionados con cuidados paternos	Posible efecto inhibitorio de la conducta paterna	No difiere entre los que muestran agresión y conducta paterna	Sin información	Participa en la conducta paterna	Parece no participar en la conducta paterna
	<i>Neotomodon alstoni</i>	Sin información	Sin información	Sin información	Sin información		
	<i>Microtus pennsylvanicus</i>	Sin información	Sin información	Aumenta la expresión con la paternidad	Sin información	Sin información	Sin información
	<i>Microtus ochragaster</i>	Sin información	Sin información	No hay incremento en padres	incremento de conducta paterna	Sin información	Sin información
<i>Phodopus campbelli</i>	La supresión no afecta los cuidados paternos	No decrece después de volverse padres	Sin información	Sin información	Sin efecto en la conducta paterna	Sin información	

Tabla 2. A la izquierda: cladograma de las especies de roedores usadas como modelos experimentales en el estudio de las bases neuroendócrinas de la conducta paterna (a la izquierda), junto con las hormonas estudiadas y sus efectos por especie (a la derecha). Abreviaturas PRL (prolactina), PR (progesterona), OT (oxitocina), AVP (vasopresina), E2 (estradiol) y DHT (dihidrotestosterona). Cladograma modificado de Stepan *et al.*, 2004.

hormonas, eran agresivos hacia las crías. Estos resultados plantean por primera vez, que la T puede regular la conducta paterna en este roedor por las vías estrogénica y androgénica (Martínez *et al.*, 2015).

Con base en los resultados de estos estudios se puede plantear dos modelos en la regulación de la conducta paterna en los roedores: 1) la T de origen gonadal es el sustrato que a nivel neural es convertida a E2, uniéndose así a receptores de estrógenos regulando de esta manera la conducta paterna y 2) La T de origen gonadal es el sustrato que a nivel neural puede ser convertida a E2 o DHT, uniéndose a receptores de estrógenos y el androgénico.

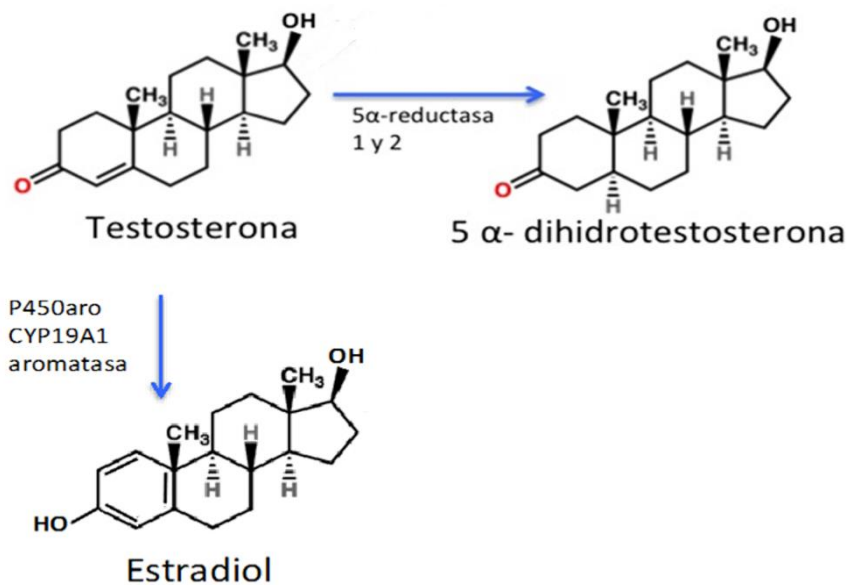


Figura 2. Vías metabólicas de la testosterona (Modificado de Norris, 2007.)

ANTECEDENTES

El ratón de los volcanes *Neotomodon alstoni*, es una especie endémica de la fauna de México y exclusiva del Eje Neovolcánico Transversal con un ámbito altitudinal de 2,400 a 4,960 m.s.n.m. Habita zonas de asociación de bosque de pino y pastizal de *Muhlenbergia*. Su periodo de reproducción ocurre entre junio y septiembre y se ha reportado que puede extenderse desde mayo a noviembre, con un periodo de gestación de 25 a 35 días, dando a luz camadas de 2 a 5 crías y puede tener hasta 3 camadas anuales (Williams *et al.*, 1985; Villa y Cervantes, 2003). En el cautiverio el macho de este ratón participa activamente en el cuidado de las crías, abrigando y acicalando a las crías y recuperándolas cuando se alejan del nido. Por tanto, la conducta paterna en este roedor está integrada por las mismas actividades que integran la conducta materna, excepto amamantar (Luis *et al.*, 2000). Además, el macho de este roedor no sólo proporciona cuidados paternos, sino que invierte más tiempo y mayor frecuencia que la hembra en el abrigo, acicalamiento y olfateo de las crías (Luis *et al.*, 2004).

Un primer estudio de las bases hormonales de la conducta paterna en el ratón de los volcanes, en el cual se investigó el papel de la T en la regulación de esta conducta, mostró que los niveles de esta hormona no disminuyen cuando los machos exhiben cuidados paternos. Estos resultados plantearon que la T podría estar involucrada en la regulación de la conducta paterna (Luis *et al.*, 2009). Posteriormente, utilizando el modelo de castración y reemplazo hormonal se mostró que la T está involucrada en los mecanismos que inhiben

el infanticidio y facilitan la exhibición de cuidados paternos; alrededor del 60% de los machos que mostraron agresión o indiferencia hacia crías ajenas de la especie, en la primera exposición a estas, se convirtieron en paternales después de la castración y el reemplazo con T, mientras que la castración o la simulación de esta cirugía no tuvo ningún efecto (Luis *et al.*, 2012).

Filogenéticamente el género *Neotomodon* ha sido relacionado con el género *Peromyscus*, al cual pertenece el ratón de California. Inclusive algunos estudios han asignado al ratón de los volcanes a este género (Williams *et al.*, 1985; Reeder y Bradley, 2004; Kalcounis-Rüppell y Ribble, 2007; Miller y Engstrom, 2008). Esta relación filogenética permite plantear que la regulación de la conducta paterna en el ratón de los volcanes podría seguir un modelo similar al del ratón de California.

En este contexto, los resultados de este proyecto contribuirán a establecer si la T regula la conducta paterna, en el ratón de los volcanes, a través de su conversión a E2 y DHT o sólo a través de la vía estrogénica.



Figura 3. El ratón de los volcanes *Neotomodon alstoni* y su área de distribución (Fotografía tomada por el autor, mapa de distribución según Villa y Cervantes, 2003).

HIPÓTESIS

Si la testosterona induce la conducta paterna en el ratón de los volcanes (*Neotomodon alstoni*), mediante su conversión a estradiol, como en el ratón de California, entonces se espera que la administración de E2 induzca la exhibición de cuidados paternos, mientras que la DHT no tendrá ningún efecto.

OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto del estradiol y la dihidrotestosterona en la inducción de la conducta paterna en machos vírgenes del ratón de los volcanes *Neotomodon alstoni*.

Objetivos particulares

- Establecer el efecto del estradiol en la inducción de la conducta paterna en machos vírgenes del ratón de los volcanes.
- Establecer el efecto de la dihidrotestosterona en la inducción de la conducta paterna en machos vírgenes del ratón de los volcanes.

MATERIALES Y METODOS

Animales

En este estudio se utilizaron 40 ratones de los volcanes machos, sin experiencia sexual, con una edad de 100-150 días. Estos roedores fueron seleccionados por su agresividad o indiferencia hacia las crías, para lo cual fueron sometidos a “*screen test*” de conducta paterna. Durante estas pruebas cada macho fue puesto en una jaula de policarbonato (32 x 23 x15 cm) con cama de aserrín limpio, después de 10 minutos de adecuación, se introdujo una cría de la misma especie (de 3 a 5 días de nacida). Los ratones que mostraron conducta paterna (olfateo, abrigo, acicalamiento y recuperación) no fueron incluidos en el estudio. Los animales seleccionados se mantuvieron bajo un fotoperiodo de 12:12 h luz-oscuridad, a una temperatura y humedad ambiental. Se alojaron en jaulas de policarbonato (25 x 30 x 8 cm), con cama de aserrín. Se les proporcionó como alimento pellets para roedores LabDiet Nutricubes 5001 y agua *ad libitum*.

Los 40 ratones vírgenes no paternos seleccionados fueron organizados al azar en 4 grupos de 10 animales cada uno. Los ratones de los 3 primeros grupos fueron castrados bilateralmente y recibieron el siguiente tratamiento: los del Grupo 1, recibieron 100µg/kg de benzoato de E2; los del Grupo 2, 100µg/kg de peso, de DHT, ambas hormonas disueltas en 5µl de aceite de sésamo mediante inyección subcutánea en la región dorso-cervical. El aceite de sésamo y ambas hormonas utilizadas provienen del mismo productor (Sigma-Aldrich Chemie, GmbH, Steinheim, Alemania). Se administraron dosis

suprafisiológicas de estas hormonas de acuerdo con el procedimiento usado por Siegel y Rosenblatt (1978) en la inducción de la conducta materna de hembras vírgenes de la rata de laboratorio. En este roedor la administración de dosis no suprafisiológicas de E2, no fueron efectivas en la inducción de la conducta materna en hembras vírgenes. Los del Grupo 3 no recibieron ningún tratamiento. A los ratones del Grupo 4 (grupo control) se les simuló la castración y recibieron una inyección subcutánea del vehículo.

Cabe mencionar, que en un principio el método de reemplazamiento hormonal fue por colocación de implantes, sin embargo, debido a que la hormona no se liberaba, o se liberaba repentinamente, se optó por la inyección subcutánea. El estado de liberación del implante se determinó realizando el retiro de este, para conocer el estado de liberación de la hormona, debido a que no se obtuvo la respuesta esperada en la conducta.

Todos los experimentos se llevaron a cabo de acuerdo con las normas éticas de la Norma Oficial Mexicana que regula las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, 2001) y se siguieron las directrices éticas de la American Society of Mammalogist para el uso y cuidado de los animales (Animal Care and Use Committee, 1998).

Cirugías

Los ratones fueron anestesiados con una dosis de 81 mg/Kg de xilazina y 40 mg/Kg de ketamina. Una vez anestesiados se depiló el área escrotal, y se les realizó una incisión en la cavidad escrotal, exponiendo los testículos. Se ligaron las arterias que corren paralelamente a los conductos deferentes y se cortaron

los testículos para extraerlos. Se suturó con catgut (tejidos internos) y seda (piel), ambos de calibre 4-0. En el caso de los ratones con castración simulada, sólo se expusieron los testículos durante 2 minutos y enseguida se colocaron de nuevo en la cavidad escrotal y se suturó la herida.

Pruebas de conducta paterna

Estas se realizaron 24 horas después de la administración de cada una de las hormonas y del vehículo en los animales sometidos a tratamiento. Cada ratón se colocó en una jaula de policarbonato de 25 x 30 x 8 cm, después de 10 minutos de adecuación, se introdujo en la jaula una cría ajena de la especie de 1 a 5 días de nacido. Las observaciones se hicieron de forma directa, por un sólo observador, utilizando el método focal durante 15 minutos y simultáneamente registro en video por medio de una cámara de circuito cerrado con visión infrarroja (Astron Security Co), con notas de las observaciones registradas en audio. Se registraron la latencia de inicio de la conducta paterna (tiempo que transcurre desde que las crías son introducidas hasta que el macho hace contacto con una de las crías), el tiempo invertido en el abrigo, acicalamiento y olfateo, así como la frecuencia de recuperación de las crías.

Obtención de muestras sanguíneas

A cada uno de los animales, ligeramente anestesiados con éter, se les extrajeron muestras sanguíneas (200µl) por vía retro-orbital, inmediatamente después de las segundas pruebas de conducta paterna. La sangre obtenida se centrifugó a 5000 rpm, durante 15 minutos y el plasma colectado se almacenó hasta la

cuantificación de E2 o DHT. Se extrajeron muestras sanguíneas a los ratones tratados con DHT o E2. A otros 10 machos vírgenes intactos se les extrajeron muestras para cuantificar E2 y DHT, que se utilizaron como medidas de referencia. La cuantificación de ambas hormonas esteroides se realizó través de inmunoensayo por adsorción ligado a enzimas (ELISA).

Análisis estadístico

La proporción de machos que cambiaron su comportamiento hacia las crías antes y después del tratamiento fueron analizadas aplicando la prueba de MacNemar, como esta prueba es dicotómica los animales fueron clasificados en no paternales (agresivos e indiferentes) y paternal (IBM SPSS Statistics v. 22.0.0.0). Se usó un ANOVA de dos factores para analizar diferencias entre machos tratados con E2 y machos tratados con DHT, en cuanto a tiempos invertidos en el abrigo y acicalamiento. Las latencias de contacto con la cría de machos tratados con E2 y DHT fueron contrastadas utilizando la prueba U de Mann-Whitney (Minitab 16.1.0). Los niveles hormonales de los animales sometidos a tratamiento experimental se contrastaron estadísticamente contra muestras obtenidas de animales intactos mediante prueba de t de Student, para muestras independientes. Los niveles de E2 y DHT en plasma en machos tratados con reemplazo hormonal que presentaron cambio de comportamiento hacia las crías, igualmente clasificándolos en no paternales y paternales, se analizaron mediante la prueba de correlación de Spearman.

RESULTADOS

Los resultados mostraron que la administración de DHT indujo un cambio significativo en la conducta de los machos hacia las crías; antes de la administración de esta hormona el 60% de los machos fueron indiferentes y 40% agresivos, mientras que después de la administración de ésta el 80% de los animales transitaron a paternales, y 20% fueron agresivos ($p < 0.05$). Antes de la administración de E2, 70% de los machos fueron indiferentes y 30% agresivos. Después del tratamiento con E2 60% se volvieron paternales, 10% continuaron siendo agresivos y 30% mostraron indiferencia hacia las crías, siendo este cambio en la conducta significativo ($p < 0.05$).

En contraste, la castración y la simulación del procedimiento experimental no ocasionaron ningún cambio en la conducta, por lo cual no fueron contrastados estadísticamente (Tabla 2).

Tabla 2 Porcentaje de machos de ratones de los volcanes que cambiaron su conducta hacia las crías después de la administración de E2 y DHT

Conductas observadas antes del tratamiento		Tratamiento	Conductas observadas después del tratamiento		
Indiferentes	Agresivos		Paternales	Indiferentes	Agresivos
50% N = 5	50% N = 5	Castración	0	50% N = 5	50% N = 5
40% N = 4	60% N = 6	Simulación del tratamiento	0	40% N = 4	60% N = 6
60% N=6	40% N=4	Administración de DHT	80% N=8	0% N=0	20% N=2
70% N=7	30% N=3	Administración de E2	60% N=6	30% N=3	10% N=1

Latencia de inicio de conducta paterna

No se encontraron diferencias significativas en la latencia de inicio de la conducta paterna entre los machos tratados con E2 y DHT, que transitaron de no paternos a paternos ($W = 71.0, p > 0.05$, Fig. 4).

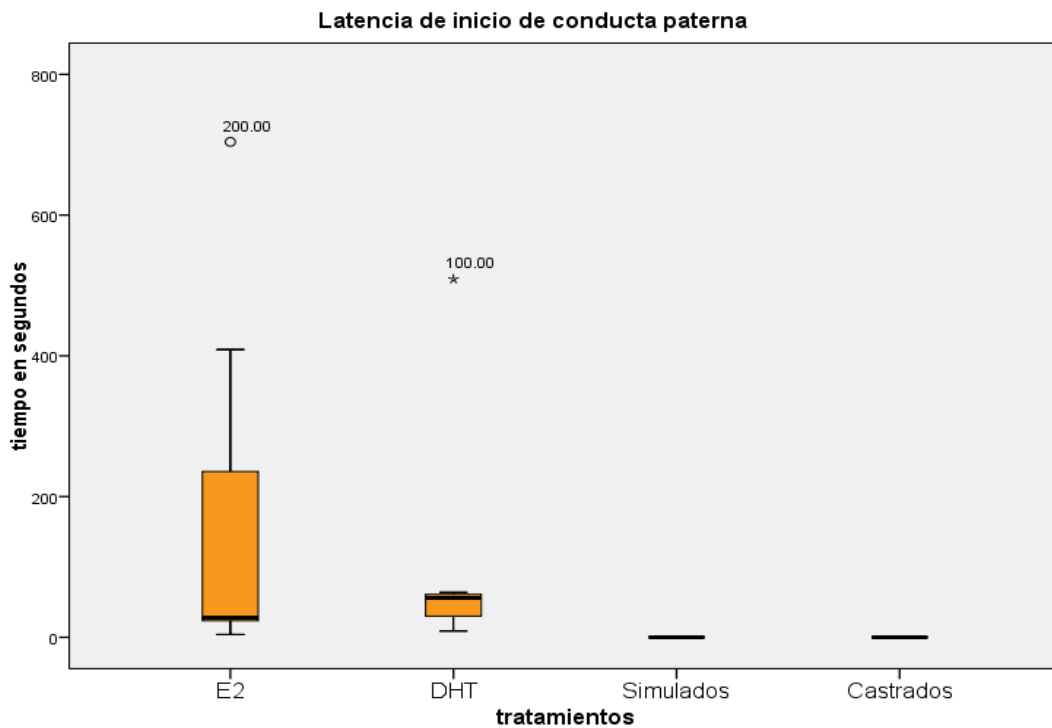


Figura 4. Los machos del ratón de los volcanes tratados con DHT tuvieron una latencia de inicio de la conducta paterna más corta que los tratados con E2, pero la diferencia no fue significativa. ($P > 0.05$). Los datos están representados en medianas.

Tiempo invertido en olfateo, abrigo, acicalamiento y recuperación de las crías

La conducta paterna inducida con DHT y E2 en machos vírgenes de ratón de los volcanes estuvo integrada principalmente por abrigo, acicalamiento, recuperación de las crías y olfateo (Tabla 3).

Tabla 3	
Comportamiento	Descripción
Olfateo	El macho se acerca a la cría hasta tocarla, moviendo rítmicamente la nariz y las vibrisas.
Acicalamiento	Lame todo el cuerpo de las crías, comenzando desde la región perianal a la región cefálica.
Abrigo	Arquea su cuerpo y coloca la cría por debajo.
Recuperación	Con el hocico toma a las crías por el dorso y las regresa al nido.
<i>Actividades que integran la conducta paterna observada en el ratón de los volcanes</i>	

Al contrastar la eficiencia de E2 contra DHT en la inducción de la conducta paternal evaluada mediante el tiempo invertido por el macho en el abrigo y acicalamiento, se encontró que no hubo diferencias significativas ($F=0.66$, $df=1,23$, $p > 0.05$, Fig. 5).

Tiempos invertidos en los componentes de la conducta paterna del ratón de los volcanes

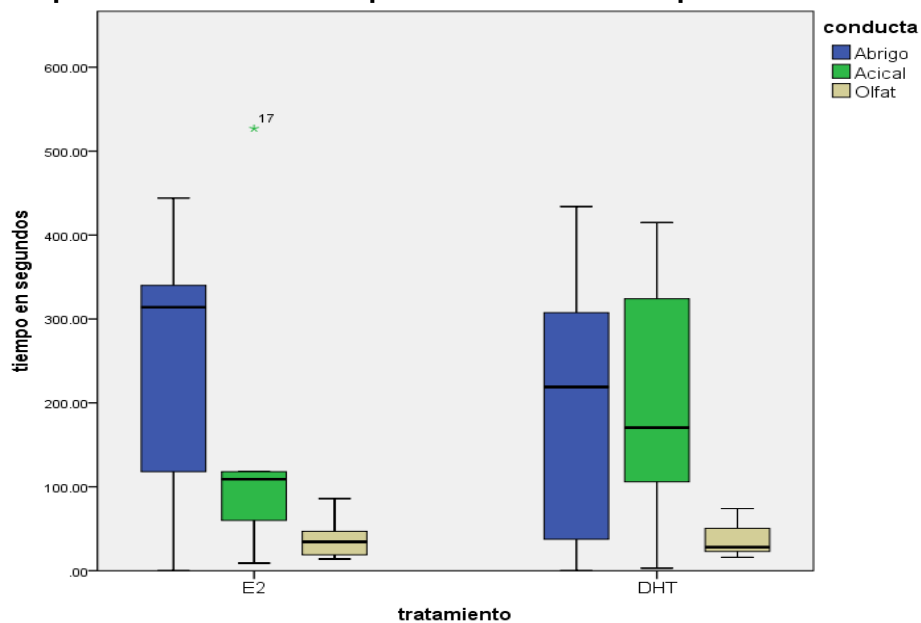


Figura 5. El tiempo dedicado al abrigo, acicalamiento y olfateo de las crías en los machos del ratón de los volcanes, tratados con E2 y DHT no difirió significativamente ($P>0.05$). Los datos están representados en medianas.

Niveles hormonales en plasma

No se encontraron diferencias significativas entre los niveles de E2 y DHT en plasma de los machos que recibieron reemplazo hormonal con respecto de la muestra de 10 machos intactos ($t=1.89$, $p>0.05$, Fig. 6.). Tampoco hubo diferencia en la correlación entre la concentración en plasma de E2 entre machos que presentaron cambio de conducta a paternas y los que no cambiaron su conducta hacia las crías (Fig. 7). Sin embargo esta correlación si fue significativa en los machos tratados con DHT ($R=0.585$, $p<0.05$, Fig. 8).

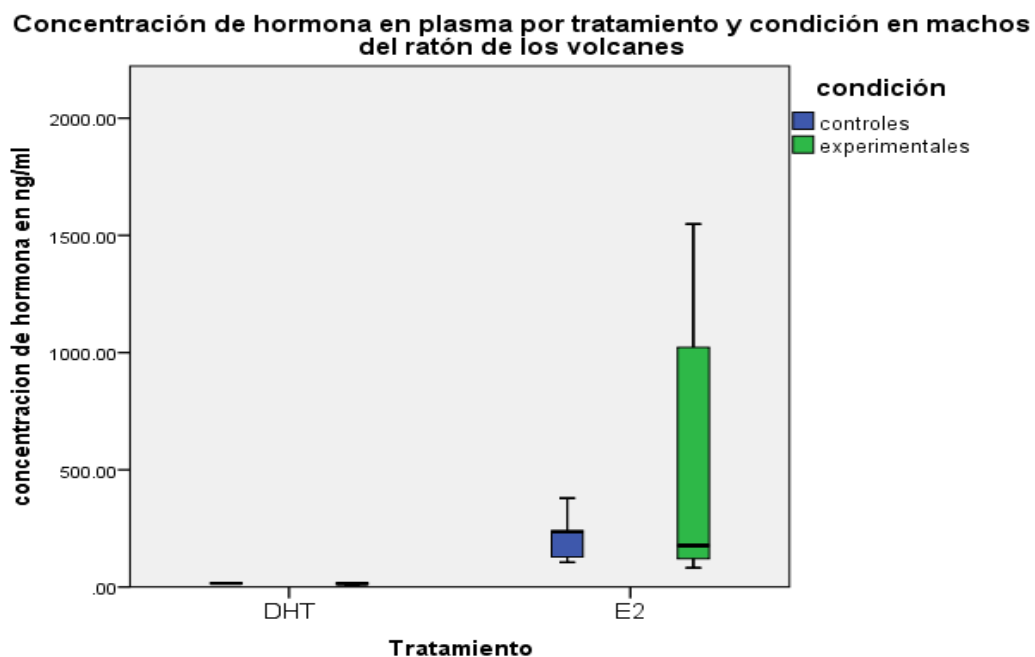


Figura 6. No se encontraron diferencias significativas entre los niveles de E2 y DHT en plasma de los machos que recibieron reemplazo hormonal con respecto de la muestra de 10 machos intactos ($P>0.05$). Los datos están representados en medianas.

Concentración de E2 y cambio de conducta en el ratón de los volcanes

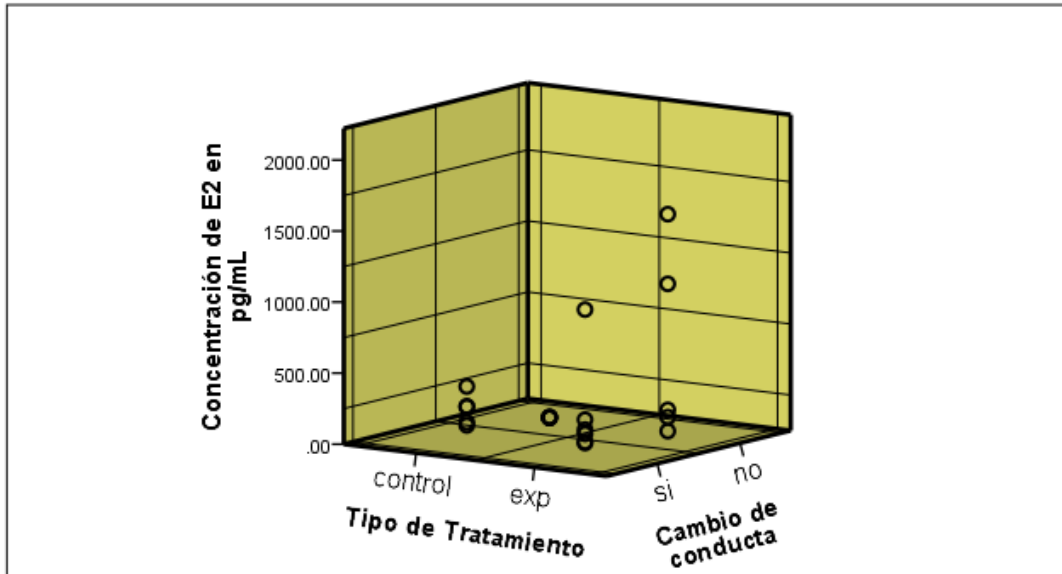


Figura 7. No hubo diferencias significativas de concentración de E2 en los machos del ratón de los volcanes que recibieron remplazo de la hormona y los controles. Sin embargo, los machos que no cambiaron a paternales tuvieron concentraciones de esta hormona comparativamente superiores los que transitaron a paternales

Niveles de DHT y cambio de conducta

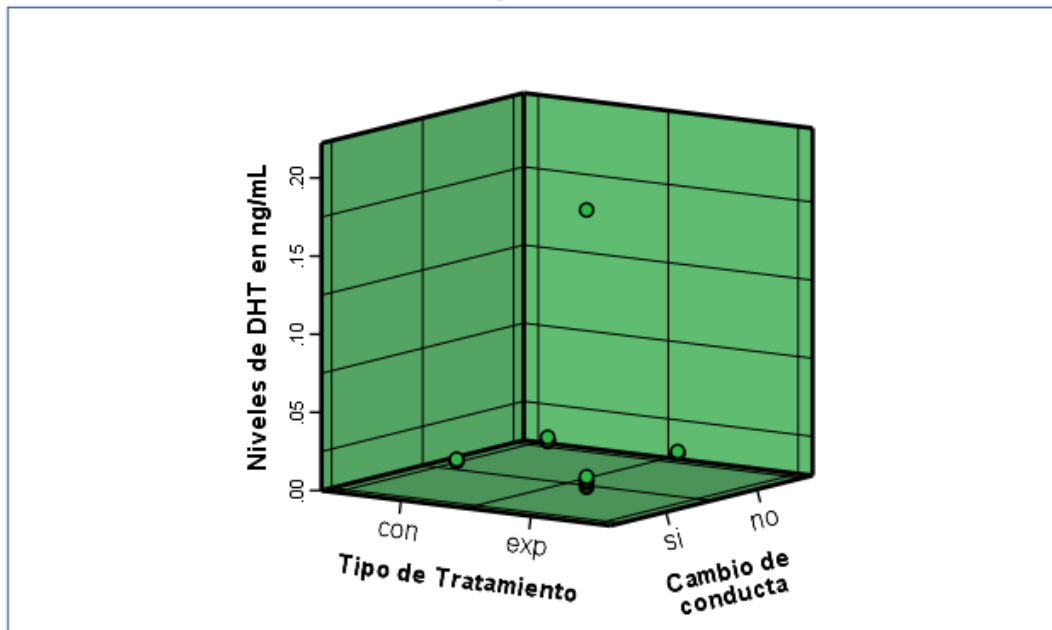


Figura 8. En los machos tratados con DHT se presentó correlación significativa entre los niveles de esta hormona y el cambio de la conducta de no paternales y paternales ($R=0.585$, $P<0.05$)

DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio mostraron que la administración de estradiol y dihidrotestosterona, ambos metabolitos de la T, inducen la exhibición de cuidados paternos en machos vírgenes agresivos hacia las crías, lo cual sugiere que estas hormonas están implicados en la regulación de la conducta paterna del ratón de los volcanes. El papel de la T en la regulación de la conducta paterna de este roedor ha sido probado en estudios anteriores. En un estudio realizado en el ratón de los volcanes se midieron las concentraciones de T y se correlacionaron positivamente con el tiempo que los machos dedicaron al abrigo de sus crías (Luis *et al.*, 2009). Además, en otro estudio, los machos no paternos que recibieron reemplazamiento de T transitaron a paternos (Luis *et al.*, 2012). Los resultados obtenidos en este trabajo, apoya la hipótesis de que la T a nivel neural puede ser metabolizada a E2 y DHT, y que estos metabolitos activan el circuito neural de la conducta paterna.

A pesar de los cambios evidentes en la conducta de los machos tratados con DHT y E2, las concentraciones de estas hormonas en los machos en los que se indujo conducta paterna, no fueron significativamente diferentes a los medidos en los machos vírgenes intactos. Esto difiere de lo encontrado por Luis *et al.* (2009), en que la mayoría de los machos en los que se indujo conducta paterna con T, las concentraciones periféricas de esta hormona sobrepasaron el rango fisiológico de la especie. Esto muestra que la T y sus metabolitos afectan la conducta paterna en un rango amplio de

concentraciones. En el ratón de California la administración de T tuvo un efecto positivo en la conducta paterna, cuando las concentraciones de esta hormona se incrementaron, sin sobrepasar los rangos fisiológicos (Trainor y Marler 2001). Cabe mencionar, que algunos machos tanto tratados con DHT, como con E2, no presentaron conducta paterna, en la mayoría de estos casos, los niveles periféricos de estas hormonas sobrepasaron los niveles de aquellos machos que sí presentaron conducta paterna. Resultados similares fueron observados en este ratón, cuando la inducción de la conducta paterna se realizó con T. Posiblemente se deba a que altas concentraciones de estas hormonas esteroides saturan los receptores, lo cual anula la respuesta. Por otra parte, el modelo de estudio es una especie silvestre, proveniente de poblaciones en las cuales puede haber una amplia variación individual en la respuesta a estas hormonas.

Además, los machos vírgenes de los roedores tienen un rango de respuestas de comportamiento hacia las crías, que va desde los que muestran cuidados paternos, los indiferentes hasta los que son infanticidas (De Jong *et al.*, 2012), lo cual podría implicar que los requerimientos hormonales varíen.

La conducta paterna inducida por los metabolitos de la T estuvo integrada por las siguientes actividades: abrigo, acicalamiento, así como recuperación de las crías y olfateo. Estas mismas actividades han sido descritas en la conducta paterna en machos intactos de esta especie, mantenidos en condiciones de laboratorio (Luis *et al.*, 2000) y en los machos que transitaron de no paternos a paternos con la administración de T (Luis *et al.*, 2012), lo cual sugiere que

tanto el E2, como DHT tienen la misma efectividad de la inducción de la conducta paterna. En el gerbo de Mongolia, aunque estos metabolitos de la T tienen el potencial de inducir la exhibición de cuidados paternos en machos no paternos, únicamente el E2 indujo abrigo (Martínez *et al.*, 2015), lo cual podría indicar que puede haber diferencias entre especies, con respecto al efecto de estas hormonas en la inducción de conducta paterna.

En varias especies de roedores el tránsito natural de machos no paternos a paternos, es mediado por estímulos de tipo social, como la cohabitación con la hembra preñada, la cópula y/o la presencia de las crías. En este estudio se mostró que roedores machos vírgenes agresivos hacia las crías pueden convertirse en paternos, cuando son estimulados con E2 y DHT. Es posible que las interacciones sociales a las que está expuesto el macho durante su ciclo reproductivo provoquen cambios hormonales, como incrementos en la T (precursor de DHT y E2) que estimulen el circuito neural de regulación de la conducta paterna. Por ejemplo, la cópula causa un aumento de los niveles plasmáticos de T en los mamíferos (Haltmeyer y Eik-Nes, 1969; Herz *et al.*, 1969; Huck *et al.*, 1982; Maruniak y Bronson, 1976; 1979; Roney *et al.*, 2007). En el ratón de California, el 34% de los machos infanticidas se convirtieron en paternos después de un periodo de 24 h post-cópula (Gubernick *et al.*, 1994). En el gerbo de Mongolia, el 100% de los machos vírgenes agresivos transitaron a paternos después de la cópula, esta transición estuvo asociada a un aumento en los niveles de T, así como un incremento en la presencia de receptores α -estrógenicos y androgénicos en la MPOA (Martínez *et al.*, datos no publicados).

Los resultados aquí encontrados, se contraponen a la hipótesis planteada, debido a que se esperaba que por la relación filogenética del ratón de los volcanes, con el ratón de California, siguiera el patrón de regulación de esta última especie, en la cual la T regula la conducta paterna a través de su conversión a E2 (Trainor y Marler, 2002; Trainor *et al.*, 2003). Similarmente a lo encontrado en este estudio, en el gerbo de Mongolia machos vírgenes no paternos que son tratados con E2 y DHT se vuelven paternos, cuando los niveles periféricos de estas hormonas esteroides aumentan. En este roedor la T también tiene el mismo efecto (Martínez *et al.*, 2015). Hasta hoy, se conoce que el ratón de los volcanes y el gerbo de Mongolia son los únicos roedores en los que tanto el E2 como DHT participan en la transición de machos no paternos a paternos.

La implicación de DHT y E2 en la regulación de la conducta paterna es contrario al paradigma tradicional que sostiene que la conducta paterna en los roedores es regulada por el E2, teniendo como fuente principal a la T de origen gonadal. Este paradigma se sostiene, en el hecho del papel preponderante que desempeña el E2 en la regulación de la conducta materna en las hembras de los mamíferos (Numan *et al.*, 2006). Además, Rosenblatt y Ceus (1998), mostraron que machos adultos de la rata de laboratorio gonadectomizados, exhiben cuidados paternos, cuando les colocaron implantes de E2 en el MPOA (si bien ellos hablan de conducta materna del macho). Trainor y Marler (2001) mediante el modelo de castración y reemplazo hormonal examinaron el papel de la T en la conducta paterna del ratón de California, observando que la

castración reducía la conducta paterna y el reemplazo hormonal de la T restauraba y mantenía dicha conducta. Esta investigación dio pie para que examinaran el efecto de la metabolización de la T a E2 a través de la aromatasa y su papel en la conducta paterna de esta especie de roedor (2002), encontrando que el implante de E2 promovía la conducta paterna en el ratón de California, al tiempo que la inhibición de la actividad de la aromatasa mediante fadrozol (FAD) reducía los niveles de cuidados paternos.

Las diferencias en los efectos de la T y sus metabolitos en la regulación de la conducta paterna pueden ser debidas a los modelos experimentales usados; la mayoría de los estudios sobre las bases hormonales de la conducta paterna se han realizado en machos en cohabitación con la hembra preñada o cuando son padres (Reburn y Wynne-Edwards, 1999; Trainor y Marler, 2002; Trainor *et al.*, 2003; Hume y Wynne-Edwards, 2005), la utilización de este modelo no permite conocer de manera objetiva la transición de machos agresivos a paternos. En nuestro laboratorio la utilización de machos vírgenes no paternos, ha permitido establecer de manera más contundente la función de la T y sus metabolitos en la inducción de la conducta paterna (Luis *et al.*, 2012; Martínez *et al.*, 2015; Romero, 2014; Luis *et al.*, datos no publicados). Aunque aún falta realizar más investigaciones a este respecto, los resultados de este estudio contradicen el paradigma de que sólo el E2 se encuentra implicado en la transición de machos infanticidas a paternos.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos sugieren que ambos metabolitos de la T, el E2 y la DHT participan en los mecanismos involucrados en la inhibición del infanticidio y la exhibición de cuidados paternos del ratón de los volcanes. Sin embargo, es necesario realizar más estudios para demostrar estos primeros hallazgos.

BIBLIOGRAFÍA

Akther, S., Fakhrul, A. A. K. M. and Higashida, H. 2014. Effects of electrical lesions of the medial preoptic area and the ventral pallidum on mate-dependent paternal behavior in mice. *Neuroscience letters*. 570 (6): 21-25.

Balshine, S. 2012. Patterns of parental care in vertebrates. In Royle, N. J., Smiseth, P. T. and Kölliker, M. (edits). *The evolution of parental care*, Oxford University Press, 62-80.

Bamshad, M., Novak, M. and De Vries, G. 1994. Cohabitation alters vasopressin innervations and paternal behavior in prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Physiology and Behavior*. 56(4): 751– 758.

Bart J. and Tornes A. 1989. Importance of monogamous male birds in determining reproductive success. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 24(2): 109-116.

Beck, C. W. 1998. Mode of fertilization and parental care in anurans. *Animal Behaviour*. 55 (2): 439-449.

Bester-Meredith, J. K., Young, L. J. and Marler, C. A. 1999. Species differences in paternal behavior and aggression in *Peromyscus* and their associations with vasopressin immunoreactivity and receptors. *Hormones and Behavior*, 36 (1): 25-38.

Bridges R. S., Robertson M. C., Shiu R. P. C., Sturgis J. D., Henriquez B. M. and Mann P. E. 1997. Central lactogenic regulation of maternal behavior in rats: steroid dependence, hormone specificity, and behavioral potencies of rat prolactin and rat placental lactogen I. *Endocrinology* 138 (2):756–763.

Brown, R. E. 1985. Hormones and paternal behavior in vertebrates. *American Zoologist*. 25 (3): 895-910.

Brown R. E. 1993. Hormonal and experiential factors influencing parental behavior in male rodents: an integrative approach. *Behavioural Processes*. 30 (1): 1–28.

Brown, R. E., Murdoch, T., Murphy, P. R. y Moger, W. H. 1995. Hormonal responses of male gerbils to stimuli from their mate and pups. *Hormones and Behavior*. 29 (4): 474-491.

Clutton-Brook, T. H. 1989. Review lecture: mammalian mating systems. *Proceedings of the Royal Society of London, B Biological Science*. 236 (1285): 339-372.

Clutton-Brook, T. H. 1991. The evolution of parental care. *Princeton University Press*.

De Jong, T. R., Chauke, M., Harris, B. N. and Saltzman, W. 2009. From here to paternity: neural correlates of the onset of paternal behavior in California mice (*Peromyscus californicus*). *Hormones and Behavior*. 56 (2): 220-231.

De Jong, T. R., Korosi, A., Harris, B. N., Perea-Rodríguez, J. P. and Saltzman, W. 2012. Individual variation in paternal responses of virgin male California mice (*Peromyscus californicus*): behavioral and physiological correlates.

Physiological and Biochemical Zoology: Ecological and Evolutionary Approaches. 85 (6): 740-751.

Dewsbury, D. A. 1985. Paternal behavior in rodents. *American Zoologist*. 23 (3): 841-852.

Gubernick, D. J. and Nelson, R. J. 1989. Prolactin and paternal behavior in the biparental California mouse, *Peromyscus californicus*. *Hormones and Behavior*. 23 (2): 203-210.

Gubernick, D. J. and Alberts, J. R. 1989. Postpartum maintenance of paternal behaviour in the biparental California mouse, *Peromyscus californicus*. *Animal Behaviour*, 37: 656-664.

Gubernick, D. J., Wright, S. L. and Brown, R. E. 1993. The significance of father's presence for offspring survival in the monogamous California mouse, *Peromyscus californicus*. *Animal Behaviour*, 46 (3): 539-546.

Haltmeyer, G. C. and Eik-Nes, K. B. 1969. Plasma levels of testosterone in male rabbits following copulation. *Journal of Reproduction and Fertility*. 19 (2): 273-277.

Herz, Z., Folman, Y. and Drori, D. 1969. The testosterone content of the testes of mated and unmated rats. *Journal of Endocrinology*. 44 (2): 127-128.

Hoffman, G. E. 2004. Intraspecific variation in estrogen receptor alpha and the expression of male sociosexual behavior in two populations of prairie voles. *Brain Research*. 1016, 247-254.

Huck, U. W., Soltis, R. L. and Coopersmith, C. B. 1982. Infanticide in male laboratory mice: effects of social status, prior sexual experience, and basis for discrimination between related and unrelated young. *Animal Behaviour*. 30 (4): 1158-1165.

Hume, J. M. and Wynne-Edwards, K. E. 2005. Castration reduces testosterone, estradiol, and territorial aggression, but not parental behavior in biparental dwarf hamsters (*Phodopus campbelli*) *Hormones and Behavior*. 48(3): 303-310.

Kalcounis-Rüppell, M. C. and Ribble, D. O. 2007. A phylogenetic analysis of the breeding systems of Neotomine-Peromyscine rodents. In Wolff, J. O. y Sherman, P. W. (eds) 2007: *Rodent societies: an ecological & evolutionary perspective*. The University of Chicago Press. 68-85.

Kleiman, D. G. and Malcolm, J. R. 1981. The evolution of male parental investment in mammals. In Gubernick, D. J. y Klopfer, P. H. (eds): *Parental care in mammals*. Plenum Press, New York, Pp. 347-387.

Knapp, R., Wingfield, J. C. and Bass, A. H. 1999. Steroid hormones and paternal care in the plainfin midshipman fish (*Porychtis notatus*). *Hormones and Behavior*, 35(1): 81-89.

Kirkpatrick, B. and Bryant, N. L. 1995. Sexual dimorphism in the brain: it's worse than you think. *Biological Psychiatry*, 38 (6): 347-348.

Kirkpatrick, B., Kim, J. W. and Insel, T. R. 1994. Limbic system *fos* expression associated with paternal behavior. *Brain Research*, 658: 112-118.

Klug, H., Alonzo, S. H. and Bonsall, M. B. 2012. Theoretical foundations of parental care. In Royle, N. J., Smiseth, P. T. and Kölliker, M. (eds). *The evolution of parental care*. Oxford University Press, Pp. 24-25.

Lee, A. W. and Brown, R. E. 2002. Medial preoptic lesions disrupt parental behavior in both male and female California mice (*Peromyscus californicus*). *Behavioral Neuroscience*, 116 (6): 968-975.

Lee, H. J., MacBeth, A. H., Pagani, J. H. and Young, W. S. 3er. 2009. Oxytocin: the great facilitator of life. *Progress in Neurobiology*, 88 (2): 127-151.

Luis, J., Carmona, A., Delgado, J., Cervantes, F. A. and Cárdenas, R. 2000. Parental behavior of the volcano mouse, *Neotomodon alstoni* (Rodentia: Muridae) in captivity. *Journal of Mammalogy*, 81 (2): 600-605.

Luis, J., Cervantes, F. A., Martínez, M., Cárdenas, R., Delgado, J. and Carmona, A. 2004. Male Influence on Maternal Behavior and Offspring of Captive Volcano Mice (*Neotomodon alstoni*) from Mexico. *Journal of Mammalogy*, 85 (2): 268-272.

Luis, J., Ramírez L., Carmona, A., Ortiz, G., Delgado, J. and Cárdenas, R. 2009. Paternal behavior and testosterone plasma levels in the volcano mouse *Neotomodon alstoni* (Rodentia: Muridae). *Revista de Biología Tropical* 57 (1-2): 433-439.

Luis, J., Vázquez-Gaytán, B., Martínez-Torres, M., Carmona, A., Ramos-Blancas, G. and Ortiz, G. 2010. Neither testosterone levels nor aggression decrease when the male Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*) displays paternal behavior. *Hormones and Behavior*, 57 (2): 271-275.

- Luis, J., Cadena, C., Zedillo, B., Reyes, J., Ramos, G. and Martínez, M. 2012. Testosterone, replacement induced paternal behavior in the Mexican volcano mouse *Neotomodon alstoni* (Rodentia Muridae) *Ethology, Ecology & Evolution*, 24 (3): 275-283.
- Lukas, D. and Clutton-Brock, T. H. 2013. The evolution of social monogamy in mammals. *Science*, 341 (6145): 526-530.
- Lynn, S. E. 2015. Endocrine and neuroendocrine regulation of fathering behavior in birds. *Hormones and Behavior*, 71: 91-95.
- Martínez, A., Ramos, G., Martínez-Torres, M., Nicolás, L., Carmona, A., Cárdenas, M. and Luis, J. 2015. Paternal behavior in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*): estrogenic and androgenic regulation. *Hormones and Behavior*, 71: 91-95.
- Maruniak, J. A. and Bronson, F. H. 1976. Gonadotropic responses of male mice female urine. *Endocrinology*, 99 (4): 963-969.
- McGuire, B. 1988. Effects of cross-fostering on parental behavior of meadow voles (*Microtus pennsylvanicus*) *Journal of Mammalogy*, 69 (2): 332-341.
- Miller, J. R. and Engstrom, M. D. 2008. The relationships of major lineages within Peromyscine rodents: a molecular phylogenetic hypothesis and systematic reappraisal. *Journal of Mammalogy*, 89 (5): 1279-1295.
- Monaghan, E.P. and Glickman, S. E. 1992. Hormones and aggressive behavior. In J. B. Becker, S. M. Breedlove y D. Crews (eds). *Behavioral Endocrinology*. Cambridge, MA; MIT Press, pp. 261-286.

Newman S. W. 1999. The medial extended amygdala in male reproductive behavior. A node in the mammalian social behavior network. *Annals of the New York Academy of Science* 877: 242–257.

O'Connell, L. A., Matthews, B. J. and Hofmann, H. A. 2012. Isotocin regulates paternal care in a monogamous cichlid fish. *Hormones and Behavior*, 61 (5): 725-733.

Reburn, C. J. and Wynne-Edwards, K. E 1999. Hormonal changes in males of a naturally biparental and a uniparental mammal. *Hormones and Behavior*, 35 (2): 163-176.

Reeder, S. A. and Bradley, R. D. 2004. Molecular systematics of Neotomine-Peromyscine rodents based on the dentin matrix protein 1 gene. *Journal of Mammalogy*, 85 (6): 1194-1200.

Reynolds, J. D., Goodwin, N. B. and Freckleton, R. P. 2002. Evolutionary transitions in parental care and live bearing in vertebrates. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B, Biological Series*. 357 (1419): 269-281.

Rodgers, E. W., Earley, R. L. and Grober, M. S. 2006. Elevated 11-ketotestosterone during paternal behavior in the bluebanded goby (*Lythrypnus dalli*). *Hormones and Behavior*, 49 (5): 610-614.

Roney, J. R., Lukaszewski, A. W. and Simmons, Z. L. 2007. Rapid endocrine responses of young men to social interactions with young women. *Hormones and Behavior*. 52 (3): 326-333.

Rosenblatt, J. S. and Ceus, K. 1998. Estrogen implants in the medial preoptic area stimulate maternal behavior in male rats. *Hormones and Behavior*, 33 (1): 23-30.

Sakaguchi, J., Tanaka, M., Ohkubo, T., Doh-ura, K., Fujikawa, T., Sudo, S. and Nakashima, K. 1996. Induction of brain prolactin receptor long-form mRNS expression and maternal behaviour in pup-contacted male rats: promotion by prolactin administration and suppression by female contact. *Neuroendocrinology*, 63 (6): 559-568.

Schneider, J. S., Stone, M. K., Wynne-Edwards, K. E., Horton, T. H., Lydon, J. P., O'Malley, B. and Levine, J. E. 2003. Progesterone receptors mediate male aggression toward infants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100 (5): 2951-2959.

Schradin C. and Azenberger, G. 1999. Prolactin, the hormone of paternity. *Physiology*. 14 (6): 223-231.

Schradin, C. and Pillay, N. 2004. Prolactin levels in paternal striped mouse (*Rhabdomys pumilio*) fathers. *Physiology and Behavior*. 81 (1): 43-50.

Schum, J. E. and Wynne-Edwards, K. E. 2005. Estradiol and progesterone in paternal and non-paternal hamsters (*Phodopus*) becoming fathers: conflict with hypothesized roles. *Hormones and Behavior*. 47 (4): 410-418.

Siegel, H. I. and Rosenblatt, J. S. 1978. Duration of estrogen stimulation and progesterone inhibition of maternal behavior in pregnancy-terminated rats. *Hormones and Behavior*. 11 (1): 12-19.

Sokolowski, K and Corbin, J. G. 2012. Wired for behaviors: from development to function of innate limbic system circuitry. *Frontiers in molecular neuroscience*. abril 2012 5 (55): 1-15.

Sturgis, J. D. and Bridges, R. S. 1997. N-methyl-DL-aspartic acid lesions of the medial preoptic area disrupt ongoing parental behavior in male rats. *Physiology and Behavior*. 62 (2): 305-310.

Torres J. M. and Ortega E. 2003. Differential regulation of steroid 5 alpha-reductase isozymes expression by androgens in the adult rat brain. *FASEB Journal*. 17 (11):1428-33.

Townsend, D. S., Palmer, B. and Guillette, L. J. 1991. The lack of influence of exogenous testosterone on male parental behavior in a neotropical frog (*Eleutherodactylus*): a field experiment. *Hormones and Behavior*. 25 (3): 312-322.

Trainor, B. C. and Marler, C. A. 2001. Testosterone, paternal behavior, and aggression in the monogamous California mouse (*Peromyscus californicus*). *Hormones and Behavior*. 40 (1): 32-42.

Trainor, B. C. and Marler, C. A. 2002. Testosterone promotes paternal behavior in a monogamous mammal via conversion to oestrogen *Proceedings of the Royal Society Biological Sciences*, 269 (1493): 823-829.

Trainor, B. C., Bird, I. M., Alday, N.A., Schlinger, B. A. and Marler, C. A. 2003. Variation in aromatase activity in the medial preoptic area and plasma progesterone is associated with the onset of paternal behavior. *Neuroendocrinology*, 78 (1): 36-44.

Trivers, R. L. 1972. Parental investment and sexual selection. In: Campbell, B. (ed), *Sexual selection and descent of man*. Aldine, Chicago, pp. 139-17.

Villa-Ramírez, B. y Cervantes, F. A. 2002. *Neotomodon alstoni*. Base de datos digital En: *Los mamíferos de México v. 1.0*. Grupo Editorial Iberoamericana, México.

Vom Saal, F. S. 1984. Time-contingent change in infanticide and parental behavior induced by ejaculation in male mice. *Physiology & Behavior*, 74: 7-15.

Wang, Z., Ferris, C. F. and De Vries, G. J. 1994. Role of septal vasopressin innervation in paternal behavior in prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U. S. A*, 91 (1): 400-404.

Williams, S. L., Ramirez-Pulido, J. and Baker, R. J. 1985. *Peromyscus alstoni*. *Mammalian Species*, 242 (13 dec.): 1-4.

Wynne-Edwards, K. E. 1998. Evolution of parental care in *Phodopus*: Conflict between adaptations for survival and adaptations for rapid reproduction. *American Zoologist*, 38 (1): 238-250.

Wynne-Edwards, K. E. 2000. Hormonal changes in mammalian fathers. *Hormones and Behavior*, 40 (2): 139-145.

Wynne-Edwards, K. E. 2010. Parental behavior and hormones in mammals. In Breed, M. D. y Moore, J. (eds): *Encyclopedia of animal behavior*. Elsevier Ltd. Pp. 657-663.

Wynne-Edwards, K. E. and Reburn, C. J. 2000. Behavioral endocrinology of mammalian fatherhood. *Trends in Ecology and Evolution*. 15 (11): 464-468.

Wynne-Edwards, K. E. and Timonin, M. E. 2007. Paternal care in rodents: weakening support for hormonal regulation of the transition to behavioral fatherhood in rodent animal models of biparental care. *Hormones and Behavior* 50 (1): 114-121.

Woodroffe, R. and Vincent, A. 1994. Mother's little helpers: patterns of male care in mammals. *Trends in Ecology and Evolution* 9 (8): 277-309.

Young, L. J. 1999. Oxytocin and vasopressin receptors and species-typical social behavior. *Hormones and Behavior* 36 (3): 212-221.