



03840  
4

# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

## Efectos de Dopamina en el condicionamiento de preferencia de lugar inducido por la cópula regulada en la rata hembra

Sonia Patricia García Horsman

Entidad Académica, Instituto de Neurobiología  
Universidad Nacional Autónoma de México

Tesis que presenta Sonia Patricia García Horsman, como un requisito para obtener el grado de  
Maestro en Ciencias (Neurobiología)  
Campus Juriquilla, Querétaro Enero del 2002

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



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.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Sonia Patricia

GARCIA HORSMAN

FECHA: 20/SEP/2002

FIRMA: 

ESTE TRABAJO FUE REALIZADO EN EL DEPARTAMENTO DE NEUROBIOLOGIA CONDUCTUAL Y COGNITIVA BAJO LA DIRECCION DEL DR. RAUL G. PAREDES GUERRERO. INSTITUTO DE NEUROBIOLOGIA, CAMPUS UNAM UAQ JURIQUILLA, QUERETARO, Y APOYADO POR EL CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGIA.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco primeramente a la Universidad Nacional Autónoma de México por la oportunidad de estudiar la maestría.

Al Dr. Raúl Paredes Guerrero por su confianza y apoyo para trabajar en su laboratorio y por sus innumerables regaños que nunca pueden faltar en un buen trabajo de investigación.

A mis compañeros y amigos del hoy Instituto de Neurobiología que me apoyaron y me impulsaron a seguir, especialmente a Esperanza Melendes y Enrique Gallardo de la O.

A mis colegas de laboratorio Arturo, Wendy, Emilio y Francisco por su enorme aportación de conocimientos a mí sin fin ignorancia y por el gran cariño que siempre he obtenido de ellos.

A mi familia, especialmente a mis hijos Pablo, Martín y Andrea por su gran comprensión por los abandonos, e innumerables fines de semana que no compartimos.

Y a mi esposo Marco por las repetidas noches de insomnio que le hice pasar y porque a pesar de todo esto sigue conmigo. Y finalmente, por su interés en corregir este trabajo.

*En memoria de mi padre un "aprendiz de sabio"  
y el mayor tesoro que me dio la naturaleza*

*Dr. Juan García Ramos*

**...La verdad científica dura sólo el tiempo que transcurre  
mientras no se le encuentran sus defectos, sus errores,  
y hay siempre una legión de cazadores  
como lobos hambrientos tras la presa....**

**Pero así como pasan de ligero  
la rosa y el descubrimiento  
dejan ambos un pertinaz  
olor postrero,  
su aroma, su perfume,  
que pueden sacudir al mundo entero....**

## ÍNDICE

	Página
<b>RESUMEN</b>	<b>7</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>9</b>
<b>ANTECEDENTES</b>	<b>15</b>
<b>Capítulo 1 Conducta sexual de la rata hembra.</b>	<b>15</b>
<b>1.1 Características principales de los patrones conductuales</b>	<b>15</b>
1.1.1 Atractividad	18
1.1.2 Proceptividad	19
1.1.3 Receptividad o Lordosis	20
<b>1.2 Bases endocrinas de la conducta sexual de la rata hembra</b>	<b>22</b>
1.2.1 Ciclo estral	22
1.2.2 Esteroides ováricos y su relación con la proceptividad y la receptividad	26
1.3 Estructuras cerebrales y conducta sexual de la rata hembra	28
1.4 Conducta sexual y Dopamina	33
<b>Capítulo 2 Cópula regulada y condicionamiento</b>	<b>36</b>
2.1 Cópula Regulada	36
2.2 La cópula como generador de un estado afectivo-positivo	37

2.3	Paradigma de condicionamiento de preferencia de lugar y Cópula Regulada	39
<b>Capítulo 3 Trabajo de investigación</b>		<b>42</b>
3.1	Planteamiento del problema	42
3.2	Hipótesis	43
3.3	Objetivos	43
3.4	Sujetos materiales y métodos	44
3.5	Experimento (1)	52
3.5.1	Resultados	54
3.6	Experimento (2)	56
3.6.1	Resultados	58
3.7	Experimento (3)	61
3.7.1	Resultados	62
<b>Capítulo 4 Discusión y Conclusiones</b>		<b>65</b>
<b>Referencias bibliográficas</b>		<b>69</b>



# Lista de Figuras

		Página
<b>Figura 1</b>	Diferentes componentes del comportamiento sexual	17
<b>Figura 2</b>	Cuantificación del grado de lordosis según Hardy y DeBol	21
<b>Figura 3</b>	Lordosis durante el proestro	23
<b>Figura 3.1</b>	Patrón de secreción hormonal durante el ciclo estral de la rata	25
<b>Figura 4</b>	Sección sagital y transversal de un cerebro representativo de mamífero. Áreas en las cuales una lesión o estimulación eléctrica afectan la receptividad	31
<b>Figura 5</b>	Smart Rod.	45
<b>Figura 6</b>	Caja de Preferencia de Lugar	46
<b>Figura 7</b>	Caja de Cópula Regulada (CR)	47
<b>Figura 8</b>	Cópula No Regulada (CN)	48
<b>Figura 9</b>	Esquema del procedimiento de la prueba de condicionamiento de preferencia de lugar	51
<b>Figura 10</b>	Resultados del Experimento 1	55
<b>Figura 11</b>	Resultados del Experimento 2	60
<b>Figura 12</b>	Resultados del Experimento 3	63

## RESUMEN

Los aspectos motivacionales de la conducta sexual han sido estudiados utilizando una gran variedad de métodos entre los cuales se encuentra el paradigma de condicionamiento de preferencia de lugar (CPL). En estudios anteriores, utilizando este método, se ha demostrado que la conducta sexual en la rata hembra produce un estado afectivo-positivo cuando ésta tiene la posibilidad de controlar el número de contactos o interacciones sexuales con el macho. A esta conducta se le conoce como "cópula regulada".

Se ha propuesto que la dopamina está involucrada en conductas gratificantes como es el beber agua o consumir alimento. El objetivo del presente trabajo es investigar el efecto de la administración de antagonistas dopaminérgicos sobre el estado afectivo positivo inducido por la cópula regulada.

Los resultados de los experimentos confirman que las ratas hembras ovariectomizadas y tratadas con estradiol y progesterona desarrollan un claro CPL cuando son inyectadas con anfetamina (agonista dopaminérgico). También se encontró que antagonistas dopaminérgicos como el *cis*(Z)-flupentixol y S(+)-raclopride L-tartrato pueden bloquear la preferencia de lugar inducida por la anfetamina. Dado que dosis altas de antagonistas dopaminérgicos pueden interferir con la actividad motora de las ratas, se establecieron curvas dosis-efecto tanto de flupentixol como de raclopride. Los resultados obtenidos en los experimentos de coordinación motora nos permitieron establecer que las dosis de 0.25 mg/kg de flupentixol y 0.125mg/kg de raclopride no interfieren con la coordinación motora de los animales. También se comprobó que las mismas dosis de flupentixol y raclopride bloquean el CPL inducido por anfetamina.

Posteriormente, se comprobó que la cópula regulada en ratas hembras ovariectomizadas y tratadas hormonalmente, induce un CPL asociado al estado afectivo-positivo que produce este tipo de apareamiento. Con el propósito de comprobar si este estado inducido por la cópula regulada podía ser bloqueado por flupentixol o raclopride, se evaluaron ratas hembras ovariectomizadas tratadas con BE y P sin experiencia sexual. Los resultados de los experimentos demostraron que

las dosis de 0.25 mg/kg de flupentixol y 0.125mg/kg de raclopride, además de no tener ningún efecto motor, tampoco pueden bloquear el CPL asociado a la cópula regulada. Estos resultados podrían sugerir que la dopamina no esta involucrada en el estado afectivo-positivo inducido por la cópula regulada.

# INTRODUCCIÓN

La conducta sexual de la rata hembra ha sido ampliamente estudiada y se caracteriza por dos aspectos principales. El componente motivacional, o apetitivo, engloba a la conducta proceptiva y receptiva, y el componente aversivo relacionado con el número excesivo de intromisiones o cópulas. Se ha demostrado que para las ratas la conducta sexual es un reforzador similar a los reforzadores clásicos primarios como el alimento o el agua (Agmo y Berenfeld, 1990). Por esta razón, la actividad sexual se ha utilizado como "reforzador" en experimentos de aprendizaje como el Condicionamiento de Preferencia de Lugar (CPL). El apareamiento induce un CPL tanto en ratas hembra como en machos, cuando ambos sexos tienen la posibilidad de controlar su interacción sexual, es decir, si se les permite tanto a la hembra como al macho regular la estimulación coital que reciben del sexo opuesto (Agmo y Berenfeld, 1990; Paredes y Alonso, 1997; Paredes y Vázquez, 1999). A este tipo de conducta se le conoce como cópula regulada y ha sido observada tanto en condiciones semi-naturales como de laboratorio (Erskine 1989, Paredes y Alonso 1997; Paredes y Vázquez 1999).

Hasta ahora se conoce poco acerca de los sistemas de neurotransmisores involucrados en los aspectos afectivo-positivos\* producidos por la cópula. Se ha propuesto que durante el curso de la actividad sexual existe una liberación de opioides endógenos que facilita la eyacuación y permite obtener gratificación de la cópula (Agmo y Paredes, 1988; Trujillo et al., 1991; Agmo y Berenfeld, 1990), ya que la actividad sexual afecta la sensibilidad al dolor alterando los mecanismos de receptores a opioides en el sistema nervioso. En ratas macho, se ha demostrado que la sensibilidad a estímulos sexuales disminuye hasta casi desaparecer, inmediatamente después de la eyacuación. A medida que transcurre el período posteyaculatorio la sensibilidad aumenta nuevamente (Forsberg et al., 1987). Forsberg y su grupo demostraron que la administración de antagonistas opioides,

---

\* En este trabajo se utiliza el término afectivo-positivo para describir el estado inducido por la cópula regulada que provoca un condicionamiento en el animal.

como la naloxona, a ratas macho incrementa la sensibilidad al dolor y a los estímulos sexuales y la inyección de agonistas produce el efecto inverso (Forsberg et al., 1987). La liberación de péptidos opioides durante y después de la cópula reduce la sensibilidad a estímulos dolorosos durante la interacción sexual y facilita los mecanismos de la eyaculación. La liberación de opioides durante la consumación de la conducta sexual tiende a facilitar la conducta sexual subsecuente, lo que provoca una reducción en el número de intromisiones en la siguiente fase de cópula (Agmo y Paredes, 1988).

Otro neurotransmisor que se ha propuesto está relacionado con los aspectos afectivo-positivos inducidos por la cópula es la dopamina (DA). En 1982, Wise propuso la hipótesis de que la dopamina actúa como un mediador en el reforzamiento a estímulos primarios. Años después se propuso que la dopamina podía mediar el reforzamiento por opioides (Agmo y Berenfeld 1990, Trujillo et al. 1991). Experimentos realizados con ratas macho indican que diversos aspectos de la conducta sexual de estos animales, pueden ser afectados por antagonistas de los receptores DA (Pfaus y Phillips 1991). Sin embargo, los estudios utilizando el condicionamiento de preferencia de lugar (CPL) para evaluar los efectos reforzantes inducidos por ingesta de agua y conducta sexual sugieren que ambas conductas no involucran los mismos neurotransmisores. Mientras que antagonistas dopaminérgicos como el pimozide y el raclopride bloquean el CPL por el efecto afectivo-positivo inducido por la ingestión de agua (Agmo et al., 1993), antagonistas de DA como el flupentixol reducen la actividad sexual pero no bloquean el CPL inducido por la eyaculación en machos (Agmo y Berenfeld, 1990; Agmo y Fernández, 1989). Agmo y Fernández (1989) sugieren que el incremento en la neurotransmisión dopaminérgica podría estimular la conducta sexual de una manera indirecta, aumentando la disposición a la acción del animal a la cópula, ya que el uso de antagonistas dopaminérgicos disminuyen el número de montas e intromisiones antes de la eyaculación.

La mayor parte de los estudios utilizando antagonistas como agonistas dopaminérgicos no dejan en claro cuál es el papel que tiene la dopamina en el control

de la conducta sexual tanto en hembras como en machos. La especificidad de la acción farmacológica de los compuestos utilizados no es clara. Los efectos de la estimulación o inhibición dopaminérgica afectan la actividad locomotora del animal incrementándola o disminuyéndola, lo que podría ser mal interpretada como una disminución en la actividad sexual ya que ambas conductas están altamente correlacionadas. Sin embargo, contradictoriamente también se ha observado la falta de correlación entre la actividad locomotora y la conducta sexual. Por ejemplo, la anfetamina, especialmente el ácido anfonélico, estimula considerablemente la actividad locomotora sin influir la conducta sexual del animal. Esto significa que una reducción en la actividad locomotora no necesariamente implica una disminución en la conducta sexual, por lo que no es posible establecer una relación causal (Agmo y Paredes, 1987, Agmo y Fernández 1989).

Otro factor importante a considerar cuando se evalúan los efectos de un fármaco es la sensibilidad a éste por la cepa de roedores que se utilice. Por ejemplo, en el caso de los opiáceos, la morfina tiene un efecto neuroquímico diferente al conductual. Ratas de la cepa Wistar requieren de dosis altas de morfina (5.0mg/Kg), para presentar PLC a estímulos novedosos, mientras que la cepa Sprague-Dawley sólo requiere de una dosis de 3.0 mg/Kg, para inducir un cambio de preferencia. Paralelamente, estudios de microdiálisis muestran que la cepa Wistar requiere de dosis más altas de morfina para producir incremento significativo en los niveles de DA en el accumbens, que las dosis requeridas por la cepa Sprague-Dawley (Shoab et al., 1995).

Algunas de las estructuras cerebrales que se han propuesto como centros involucrados en estados afectivo-positivos son: el núcleo accumbens, el área tegmental ventral y el estriado (Rivas y Mir, 1990, Mermelstein y Becker, 1995; Xiao y Becker, 1997; Packard et al., 1998, Becker y Rudick, 1999, Jenkins y Becker, 2001). La testosterona administrada bilateralmente intra-accumbens tiene propiedades "afectivas reforzantes" en ratas macho evaluadas utilizando el paradigma de condicionamiento de preferencia de lugar (CPL). Estos resultados van de acuerdo con la hipótesis de que el núcleo accumbens está encargado de modular los aspectos motivacionales y apetitivos de la conducta sexual (Packard et al., 1997).

El condicionamiento inducido por testosterona puede ser bloqueado utilizando  $\alpha$ -flupentixol, lo que sugiere que las propiedades reforzantes de la testosterona podrían interactuar con el sistema dopaminérgico. Estos resultados están de acuerdo con la hipótesis de que la testosterona incrementa la motivación sexual por la interacción con el "sistema de reforzamiento cerebral" (Packard et al., 1998). Inyecciones de  $\alpha$ -flupentixol intra-accumbens también bloquean la PLC inducida por anfetamina (Hiroi y White, 1990). La administración de haloperidol (antagonista dopaminérgico) intra-accumbens reduce las respuestas sexuales anticipatorias en ratas macho (Pfaus y Phillips, 1991; Pfaus y Smith, 2000). Los niveles de dopamina tanto en el núcleo accumbens como en el estriado y el área tegmental ventral se encuentran elevados durante la cópula tanto en la rata hembra como en el macho, sin embargo estos niveles dependen del estado motivacional, de las condiciones experimentales y del estado hormonal en que se encuentra el animal (Mermelstein y Becker, 1995; Xiao y Becker, 1997; Packard et al., 1997, Becker y Rudick, 1999, Jenkins y Becker, 2001). Estudios recientes proponen que en ratas la actividad dopaminérgica del estriado está asociada primeramente con la eyaculación, y la actividad dopaminérgica del núcleo accumbens está asociada con las montas e intromisiones que son consideradas parte fundamental en la motivación por la conducta sexual (Pfaus y Phillips, 1991; Pfaus y Smith, 2000; Mermelstein y Becker, 1995; Xiao y Becker, 1997; Packard et al., 1998). Una hembra está motivada cuando los intervalos de contacto después de una *monta o intromisión son cortos, después de una eyaculación los periodos de contacto comienzan a alargarse a medida que la motivación disminuye*. Para que una hembra esté motivada necesita estar receptiva lo que implica que sus niveles hormonales estén elevados. Si altos niveles hormonales incrementan la transmisión dopaminérgica podría pensarse que, en una hembra en estro libera dopamina cada vez que recibe una intromisión, por consiguiente un incremento en la estimulación incrementará los niveles de dopamina hasta llegar a la cópula. Cuando la hembra busque al macho nuevamente será porque los niveles de dopamina han disminuido. Agmo y Fernández (1989) en sus estudios con ratas macho y utilizando tanto agonistas como antagonistas dopaminérgicos demostraron que la dopamina tiene un efecto estimulante en la conducta sexual. Agonistas dopaminérgicos como lo son la

anfetamina y el ácido anfonélico incrementan la actividad locomotora y por consiguiente reducen la latencia de monta. Trujillo y colaboradores (1991) demostraron que las anfetaminas inducen un estado positivo afectivo a través de la liberación de dopamina principalmente en las terminales nerviosas mesolímbicas en el núcleo accumbens, estructura en la cual también se encuentran receptores a opioides.

Estos estudios demuestran que la neuroquímica que interviene en los estados afectivos inducidos por diferentes estímulos es mucho más compleja de lo que se piensa. La existencia de algunos estudios contradictorios hace difícil establecer conclusiones definitivas. Tal es el caso de los experimentos de Agmo y Berenfeld (1990) que, utilizando pimozide un antagonista de dopamina (D2), no lograron bloquear el condicionamiento de preferencia de lugar inducido por la eyaculación. Los autores concluyen que la dopamina podría no ser tan importante en los efectos reforzantes de la eyaculación en el macho. Hasta el momento no hay estudios de este tipo utilizando ratas hembra.

Mermelstein y Becker (1995) fueron los primeros en demostrar en sus experimentos de microdiálisis que ratas hembras, ovariectomizadas (OVX) y tratadas con benzoato de estradiol (BE) y progesterona (P) y que controlan la cópula, presentan un incremento significativo en los niveles de DA en el estriado y en el núcleo accumbens. Ellos concluyen que los niveles de DA dependen principalmente del ambiente en el cual la hembra tiene contacto con el macho, del estado hormonal y de las condiciones experimentales en las que la hembra se encuentra. Otro grupo de investigadores que ha realizado experimentos con hembras es el grupo de Meisel y colaboradores (1993, 1994, 1996). Ellos trabajan con hámsters y han demostrado que la actividad sexual induce un condicionamiento de preferencia de lugar que puede ser bloqueado con antagonistas dopaminérgicos a receptores D2 principalmente. Los estudios de microdiálisis demuestran una elevación de DA en el estriado de una hembra hámster cuando es expuesta a un macho. Sin embargo, no es posible determinar qué aspectos de la interacción de la hembra con el macho son los asociados a dicha elevación ya que ésta se relaciona con otros factores sensoriales de la conducta además de los hormonales. De cualquier manera los hámsters presentan



una conducta sexual diferente a la de las ratas, por lo que no es posible generalizar sus conclusiones.

El estudio del comportamiento sexual de la rata hembra resulta entonces necesario para entender los mecanismos neuroendócrinos, neuroanatómicos y neuroquímicos involucrados en la conducta sexual. Hasta ahora sabemos que la interacción sexual de la rata hembra posee tanto componentes aversivos como apetitivos y que la cópula regulada induce un estado afectivo-positivo que puede ser mediado por diversos factores.

En el presente trabajo se utilizan dos métodos: de condicionamiento de preferencia de lugar (CPL) y la prueba de cópula regulada con el fin de determinar si el estado afectivo-positivo inducido por la cópula regulada está mediado por dopamina en la rata hembra.

# **ANTECEDENTES**

## **CAPITULO 1**

### **Conducta sexual de la rata hembra**

#### **1.1 Características principales de los patrones conductuales**

El comportamiento sexual ha sido considerado como parte de una serie de patrones conductuales que se despliegan con el propósito de mantener la especie. Sin embargo, esta aseveración presupone que existe una intención por parte del ejecutante, de reproducirse. Cuando una rata copula con otra no puede decirse que lo hace con este fin, por lo que la conducta sexual en la rata no tiene otro significado que su propia ejecución. De acuerdo con Agmo (1999), la conducta sexual es un acto consumatorio que es intrínsecamente reforzante y como tal debe ser estudiada. En este trabajo, la conducta sexual es considerada como un comportamiento autoestimulante, intrínsecamente reforzante y parte del repertorio conductual de la rata. Las consecuencias que esta conducta pueda tener para el animal serán de particular importancia para su comportamiento sexual futuro. En otras palabras, si la cópula provoca un estado placentero afectivo-positivo, los estímulos medio ambientales relacionados con ésta serán estímulos suficientes para incrementar la conducta de acercamiento hacia el sexo opuesto y por consiguiente la cópula (Agmo, 1999).

El proceso por el cuál una hembra busca tener un contacto sexual con un macho se conoce como motivación sexual. El primer análisis sistemático de la motivación sexual fue realizado por Beach en 1956. Él postula que existe un mecanismo de excitación sexual que activa la conducta de cópula. Posteriormente Hardy en 1974 describió a la motivación sexual como motivación apetitiva o lo que se conoce ahora como motivación incentiva (Agmo, 1999). De acuerdo con Agmo (1999), a los estímulos que poseen propiedades reforzantes se les llama incentivos ya

que éstos por si mismos pueden activar una conducta. En el caso de la conducta sexual en hembras, por ejemplo, la sola presencia del macho puede ser sexualmente motivante pero desde luego no es suficiente para desencadenar la conducta sexual de la hembra; para esto es necesaria la interacción con el macho. Esta interacción sexual tanto en la hembra como en el macho es mutua, ambos asumen conductas de acercamiento y alejamiento (motivantes) y en ambos sexos existe una fase consumatoria y una post consumatoria seguida de un período de calma o poca actividad que le servirá de información relevante para la siguiente interacción sexual (Beach, 1976).

Existen tres conceptos que caracterizan los aspectos de atracción, acercamiento y consumación de conducta sexual de la rata hembra: atractividad, proceptividad y receptividad (Beach, 1976; Dewsbury, 1979; Morali y Beyer, 1979). En la Figura 1 se observan los diferentes componentes de la conducta sexual.

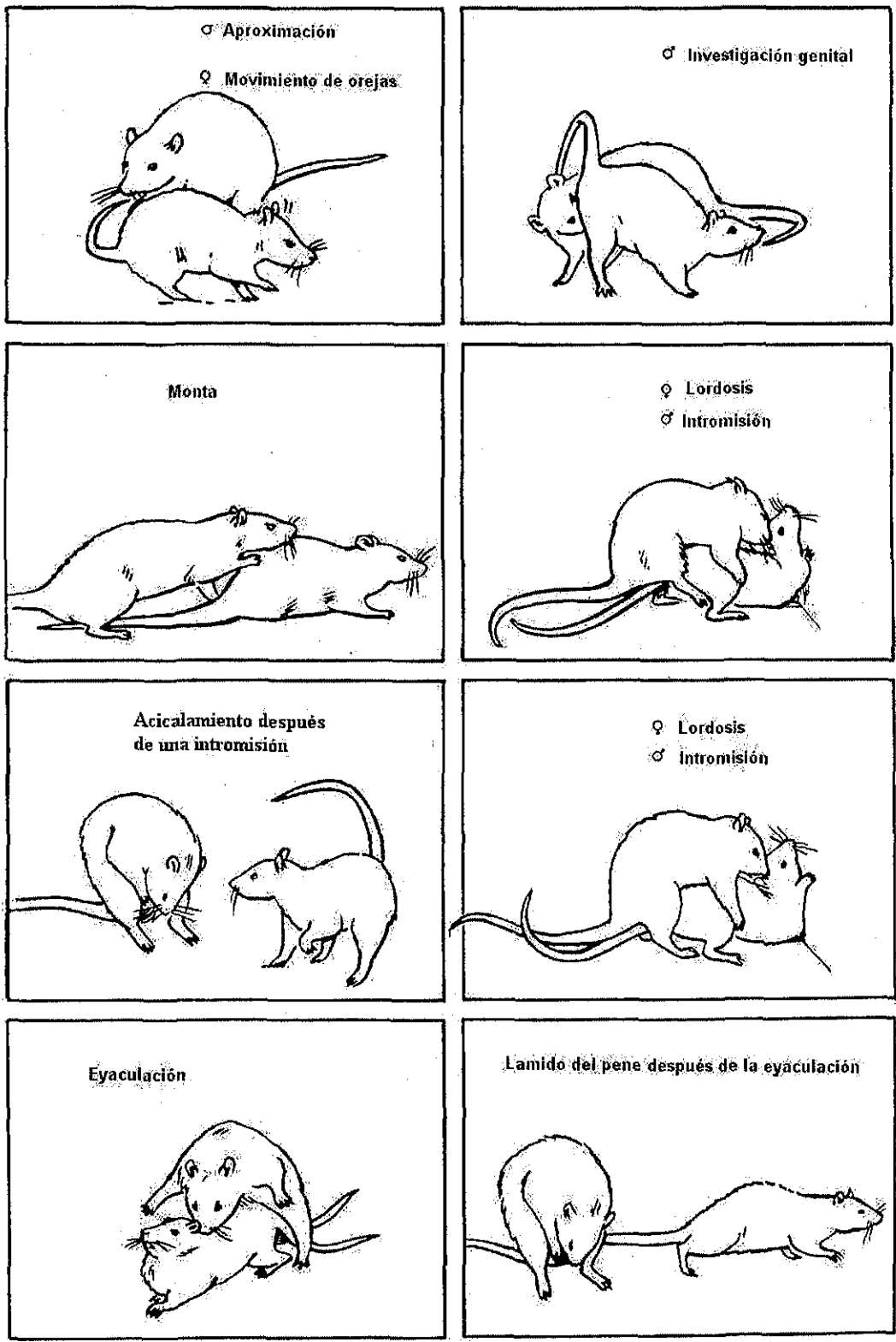


Figura 1 Diferentes componentes del comportamiento sexual (Modificado de Slob y Vander Werff ten Bosch en Haensel, 1998).

### **1.1.1 Atractividad**

Uno de los investigadores que propuso el concepto de atractividad como una característica esencial de la conducta de la hembra fue Frank Ambrose Beach en 1976. Este autor define a la atractividad como la habilidad que tiene una hembra para atraer a un macho a distancia con el fin de llevar a cabo la cópula. La conducta sexual del macho está directamente relacionada con las características específicas de estimulación por parte de la hembra. Por ejemplo, las reacciones de acercamiento del macho hacia la hembra dependen de señales olfativas y visuales mientras que las respuestas consumatorias de la eyaculación provienen del contacto estimulante de la vagina abierta y lubricada. La atractividad incluye diferentes aspectos que son considerados resultado de un proceso de adaptación. Dichos aspectos van desde el acercamiento del macho a la hembra. Es decir, que el macho identifique tanto el sexo como el estado del ciclo hormonal en el que se encuentra la hembra, hasta que el macho oriente y sincronice sus respuestas coitales y finalmente que se promueva la emisión de espermatozoides cuando el pene del macho se encuentra introducido en la vagina.

La atractividad depende de manera significativa de las hormonas ováricas. Es decir, es mucho más intensa cuando los niveles de estrógenos son más altos. Como la producción de estrógenos está asociada con el período de ovulación, la atractividad sexual resulta esencial para la supervivencia de la especie ya que durante este período se aumenta considerablemente la probabilidad de un apareamiento. De acuerdo con Beach (1976), aún cuando en una gran variedad de especies las hembras en estro son atractivas la mayoría de las veces, se ha observado en el mono rhesus que no todas las hembras que se encuentran en la fase de ovulación son preferidas por los machos, inclusive ratas hembras ovariectomizadas tratadas con las mismas cantidades de estrógenos evocan por alguna razón mayor o menor respuesta sexual por parte del macho. Ratas macho que han eyaculado repetidas veces con una misma hembra eventualmente tienden a dejar de responder temporalmente hacia ella y reanudar la cópula si una nueva hembra se aproxima. Es claro entonces que existen otras señales además de las hormonales que contribuyen a la atracción de la hembra por el macho y viceversa. En algunas especies como el chimpancé las señales que activan las respuestas

apetitivas del macho pueden ser visuales, auditivas, olfatorias y gustativas. En la rata se sabe que las señales olfatorias y táctiles juegan un papel primordial en el desencadenamiento de la conducta sexual (Matthews et al., 1997). Es interesante observar que en la rata hembra disminuye su valor como estímulo atrayente o lo pierde, cuando ésta ha copulado varias veces con un mismo macho a pesar de que la hembra esté receptiva y sea atrayente para otros machos (Beach, 1976).

### **1.1.2 Proceptividad o conducta de solicitud**

La proceptividad se define como el conjunto de actos de solicitud, es decir, todas aquellas conductas apetitivas que muestra la hembra como respuesta a los estímulos emitidos por un macho, las cuales dan inicio e incrementan la probabilidad de que se dé la cópula. Estas conductas incluyen: movimiento de orejas, brincoteo, movimiento en zig-zag, movimientos de acercamiento y alejamiento y emisión de sonidos ultrasónicos. Este comportamiento está determinado por la interacción de ambos sexos, es decir lo que el macho haga será relevante para que la hembra muestre proceptividad. Una hembra en estro es tanto atraída por el macho como atractiva para él. De esta manera es como la conducta apetitiva de la hembra depende de la atraktividad sexual del macho, la proceptividad de la hembra estará descrita en función de la conducta sexual masculina. Esto no significa de ninguna manera que el papel de la hembra durante la conducta sexual sea menos importante.

Existen diferentes conductas que pueden ser apreciadas en el comportamiento proceptivo y que incluyen: *el comportamiento afiliativo* que se refiere al establecimiento y mantenimiento de la proximidad con el macho que incrementa la probabilidad de una interacción heterosexual; *el comportamiento de solicitud* que se describe como la “invitación” a que el macho se acerque (antes de que exista un contacto físico) aunque éste se encuentre lejos de la hembra (Erskine, 1989). En algunas especies se requiere de una postura especial de la hembra o algún sonido especial que invita al macho a la cópula; en el caso de la rata *la conducta de aproximación y evitación* se repite tantas veces sea necesaria si el macho no responde. Por último están

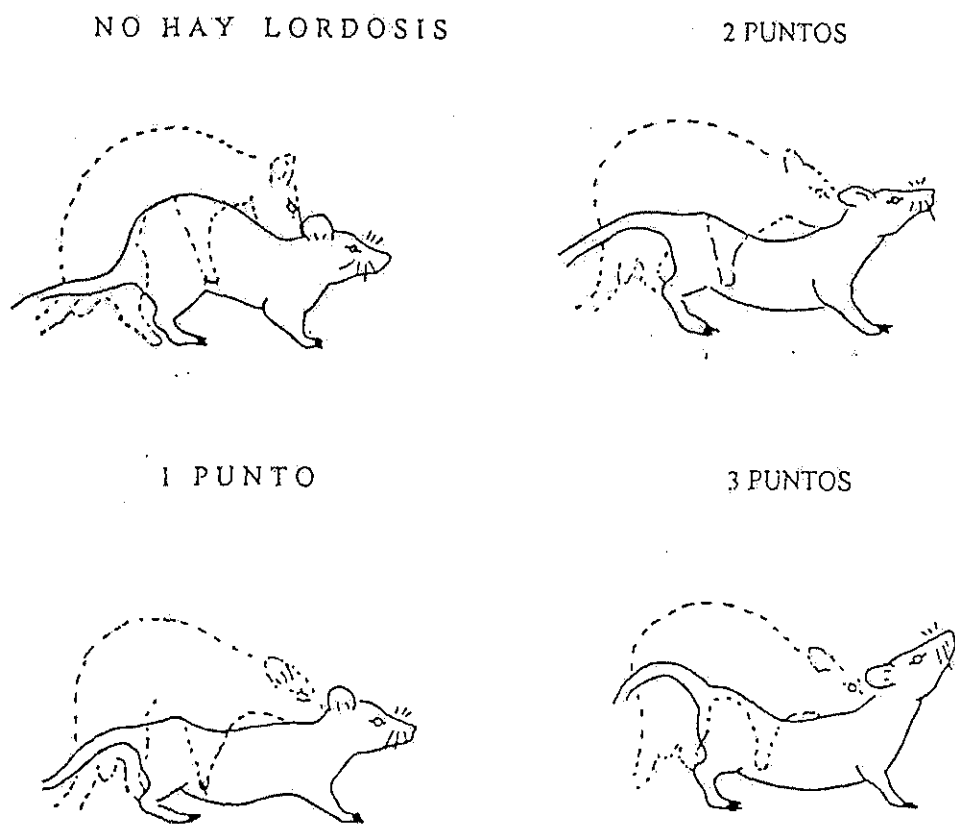
las respuestas *de contacto físico*, como lo es el escudriñamiento del área anogenital y la monta o los movimientos pélvicos por parte de la hembra activa que también se ha observado en diferentes especies. La conducta proceptiva llamada también indistintamente de solicitud se manifiesta virtualmente en todos los mamíferos a través de diferentes formas de contacto particularmente iniciadas por la hembra en estro (Beach, 1976).

Cabe mencionar que en el laboratorio existen factores importantes que influyen o afectan el despliegue y la frecuencia de las conductas de solicitud durante la cópula, como es el tamaño de la caja de observación en el caso de la conducta de aproximación/evitación; el número de machos disponibles y la densidad de la población en la que la hembra se encuentra ya que las hembras evitan contactos continuos cuando hay más de dos machos.

### **1.1.3 Receptividad o Lordosis**

La receptividad se define como la conducta que exhibe una hembra en respuesta a la estimulación física de un macho (Beach, 1976; Erskine, 1989). Este comportamiento es definido como el componente pasivo de la conducta de la rata y es caracterizado por la postura de lordosis: la rata hembra arquea el lomo, eleva la cabeza y el tren posterior, y finalmente mueve la cola hacia un lado permitiendo que el macho pueda lograr una intromisión (Beach, 1942; Hardy y DeBold, 1971; Whalen, 1974; Zipse et al., 2000). Las respuestas receptivas o de lordosis, constituyen la fase consumatoria de la secuencia de eventos que confirman el comportamiento de apareamiento. La probabilidad de que la lordosis se presente está relacionada directamente con los niveles de estradiol y progesterona y se manifiesta, según la especie, en diferentes formas. Sin embargo, en todos los casos se refiere a la adopción de una postura corporal que facilite la inserción del pene en la vagina y la eyacuación dentro de ésta (Whalen, 1974; Beach, 1976). En las ratas la respuesta puede variar desde un ligero arqueo del lomo hasta una respuesta muy pronunciada. La intensidad de la lordosis puede cuantificarse de acuerdo a la escala propuesta por Hardy y DeBold (1972) (Figura 2).

Una de las formas más usadas para evaluar el comportamiento receptivo de la rata hembra es el llamado coeficiente de lordosis que se calcula obteniendo el cociente del número de lordosis de la hembra sobre el número de montas e intromisiones multiplicado por cien. Cuando la hembra presenta un coeficiente de lordosis alto, se dice que tiene una alta receptividad, si por el contrario su coeficiente es bajo, su receptividad es menor (Beach, 1976).



**Figura 2** Cuantificación del grado de lordosis, según Hardy y DeBold (1972).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



## 1.2 Bases endocrinas de la conducta sexual de la rata hembra

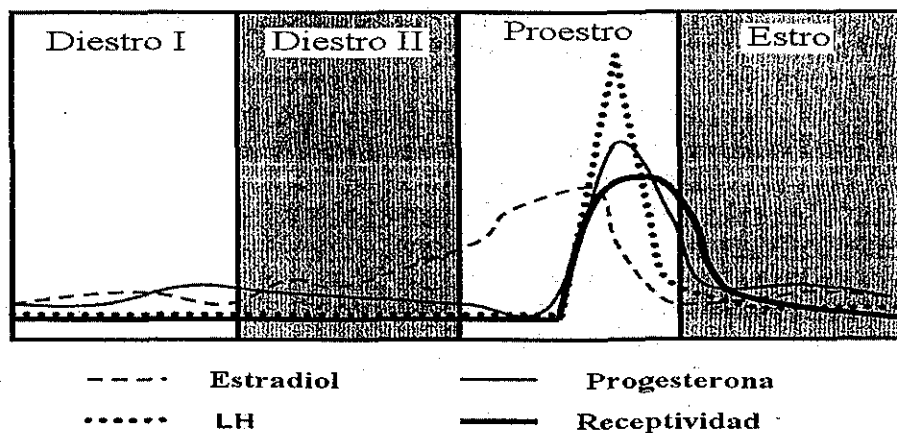
Está bien establecido que la conducta sexual de la rata hembra depende en gran medida de la interacción sinérgica de las hormonas gonadales, estrógenos y progesterona (Whalen, 1974; Komisaruk, 1974; Beach, 1976; Fadem et al., 1979; Delville, 1991; Menard y Dohanich, 1995; Mani et al., 1994; Brandling-Bennett et al., 1999). Como en otras especies, la rata hembra presenta períodos de actividad sexual cíclicos, es decir, períodos de receptividad que se presentan alternadamente con períodos de no-actividad, *estro* y *anestro* respectivamente (Moralí y Beyer, 1979). Estos períodos se conocen como ciclo estral y obedecen a cambios en la función ovárica. Durante el ciclo estral, la aparición y la duración del comportamiento sexual están determinadas por la liberación de estradiol seguido de progesterona. La rata hembra adopta una postura receptiva y una variedad de patrones complejos de conducta proceptiva o de solicitud que desencadenan la conducta de monta con intromisión de parte del macho.

A continuación se presentan los aspectos más importantes del ciclo estral de la rata.

### 1.2.1 Ciclo estral

La rata hembra presenta un ciclo estral de cuatro o cinco días, aproximadamente. Las hormonas más importantes involucradas en este ciclo son el estradiol (E2) y la progesterona (P). Este período está dividido en cuatro fases: *metaestro* o *diestro I*, *diestro II*, *proestro* y *estro*. Las fluctuaciones en el comportamiento de la rata dependen de las variaciones en la función ovárica. Se considera que el *estro* es la fase de actividad sexual y el *diestro* la de no-actividad, las otras dos fases son de transición. (Moralí y Beyer, 1979). El período preovulatorio del ciclo estral se caracteriza por un crecimiento de los folículos ováricos y un concomitante aumento en la secreción de estrógenos.

Durante el primer día del período *diestro* (I) no hay grandes variaciones hormonales en los niveles de estradiol. Hacia el período *diestro* II el estradiol empieza a incrementarse. A medida que el *proestro* transcurre, el estradiol se incrementa hasta llegar a su máximo nivel hacia la mitad del *proestro* y disminuye significativamente al inicio del *estro*. Cuando el estradiol ha alcanzado su pico máximo se presenta un incremento en la liberación de la hormona liberadora de la hormona luteinizante (LHRH) liberada por la eminencia media. Esta hormona llega por vía sanguínea hasta la pituitaria que incrementa la secreción de la hormona luteinizante (LH) que llega a su más alto nivel al final del *proestro* (Freeman, 1994). La secreción de progesterona proviene de las células granulosas del folículo en el ovario y presenta dos incrementos; uno al final del *metaestro* y el otro al final del *proestro* en el cual esta hormona llega a su nivel máximo. El incremento de estradiol y progesterona coincide con el período de ovulación y es en este momento cuando la hembra está más receptiva.



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

**Figura 3.** Acción secuencial de estradiol y progesterona a nivel del hipotálamo durante el ciclo estral (Figura tomada de Schumacher 1999).

Cuando la concentración de estrógenos en el plasma sanguíneo comienza a decrecer, el ciclo ha llegado a la última fase, el *estro*, que dura entre cuatro y veinte horas (Moralí y Beyer, 1979). La receptividad sexual en la rata dura entre 13 y 15 horas. En la Figura 3.1 se muestran los niveles circulantes de progesterona, prolactina, estradiol, LH, y FSH en plasma obtenidos cada dos horas durante cada día en las diferentes fases del ciclo reproductor de la rata hembra (Freeman, 1994).

Cuando una hembra es ovariectomizada los ciclos hormonales desaparecen y el animal permanece en anestro continuo. Solamente la administración de estradiol y progesterona activarán la aparición de los ciclos nuevamente.

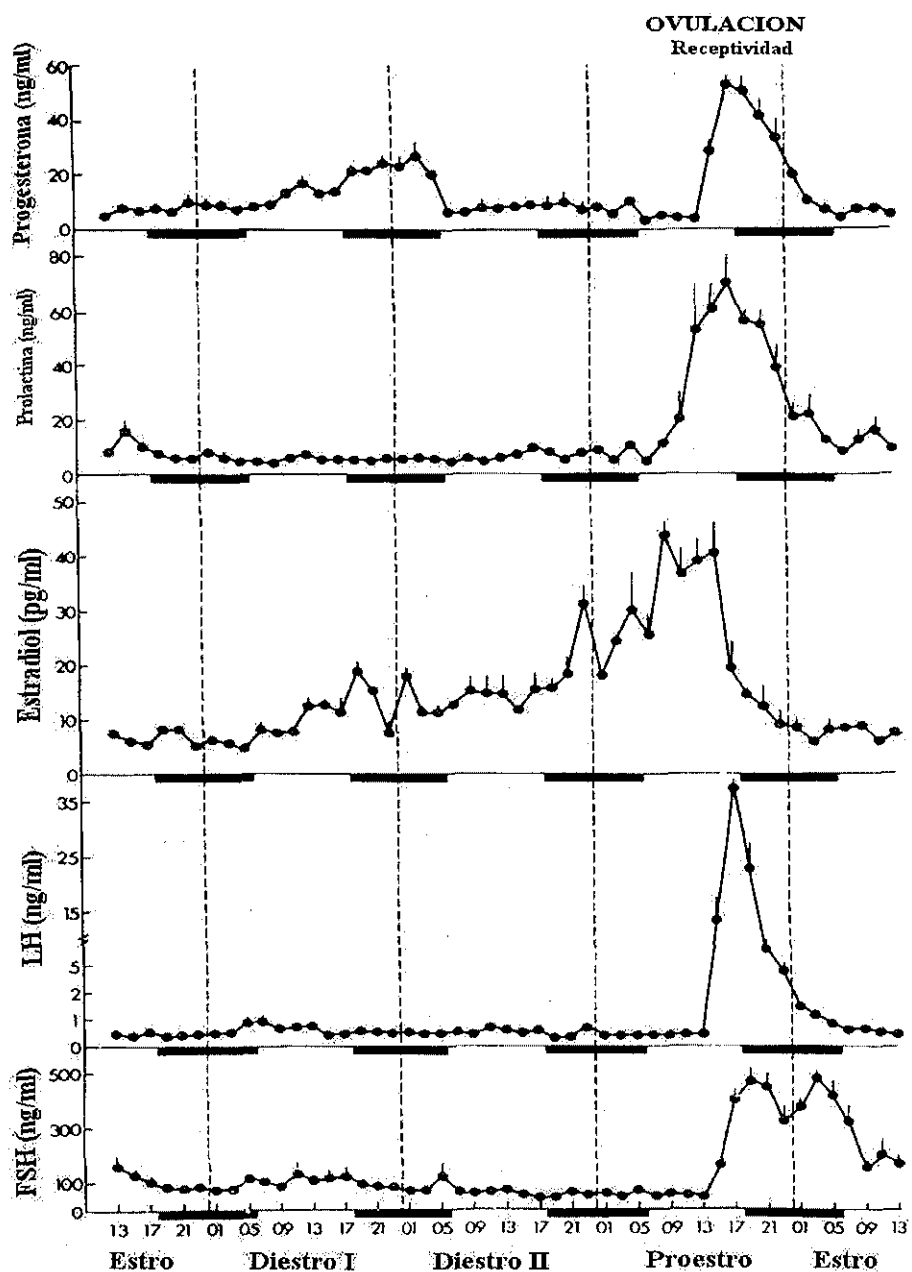


Figura 3.1 Patrón de concentración hormonal en plasma a intervalos de 2-hr durante el ciclo estral de la rata. En la gráfica se indica el período en el cual ocurre la receptividad sexual y la ovulación. Las barras negras representan el intervalo de oscuridad en un ciclo (12-12). (Figura tomada de Freeman, 1994).

## **1.2.2 Esteroides ováricos y su relación con la proceptividad y la receptividad o lordosis**

Es un hecho que las conductas de proceptividad y receptividad que la rata manifiesta, están determinada principalmente por hormonas ováricas (Erskine, 1989; Mani et al., 1994; Brandling-Bennett et al., 1999). La postura de lordosis que presenta una rata hembra es un reflejo sensorial hormonal en respuesta a la estimulación táctil de ambos flancos y de la estimulación del tracto genital por el macho (Komisaruk y Diakow, 1973; Komisaruk, 1974). La probabilidad e intensidad de la conducta de lordosis varía significativamente en función del período del ciclo estral en que la hembra se encuentre. Como se puede observar en la Figura 3.1, el pico de incremento de estradiol (E<sub>2</sub>) sucede en un lapso muy corto por lo que los períodos de receptividad son también muy cortos. El incremento en el pico de progesterona está relacionado también con la facilitación de la conducta sexual, específicamente con la proceptividad más que con la receptividad (Fadem et al., 1979; Landau y Madden, 1982; Erskine, 1989; Albert et al., 1991; Pfau et al., 1999). Estos resultados implican que estos dos componentes de la conducta sexual, la proceptividad y la receptividad podrían estar representados por dos sistemas de comportamiento separados. (Fadem et al., 1979).

El E<sub>2</sub> es el estrógeno más potente que puede inducir lordosis. La intensidad y la frecuencia de algunos patrones proceptivos como el movimiento de orejas, los pequeños saltos que ejecuta la rata o el arqueado del cuerpo durante la lordosis, están directamente relacionados con los niveles de estradiol (Komisaruk, 1974; Morali y Beyer, 1979; Albert et al., 1991). Sin embargo, esto no significa que la progesterona no sea importante. A pesar de que la hembra está receptiva antes de que se presente el incremento de progesterona, esta hormona facilita las conductas tanto proceptivas como receptivas (Campel y Baum, 1979). También se sabe que la intensidad del reflejo de lordosis está relacionada con el período en que la LH se eleva y por supuesto también la edad (Gans y McClintock 1993).

En el caso de las ratas ovariectomizadas, el grado de conducta receptiva dependerá de la administración de hormonas exógenas. Aún cuando una hembra puede

mostrar receptividad parcialmente sin progesterona, las conductas proceptivas raramente se muestran en la ausencia de progesterona (Fadem et al., 1979) inyectando benzoato de estradiol en combinación con progesterona se induce y se facilita una alta receptividad además del completo despliegue de las conductas proceptivas (Campel y Baum 1979). La idea que prevalece hasta ahora es que se requieren estrógenos y progesterona para la completa expresión de la conducta de lordosis.

Como se explico anteriormente el período de mayor receptividad ocurre durante el proestro y principios del estro, según pruebas histológicas (Eliasson y Meyerson, 1975; Morali y Beyer, 1979; Freeman, 1994). Es claro entonces que la duración de la conducta de lordosis en una rata ovariectomizada va a depender directamente de los niveles de estradiol y progesterona que le sean administrados. Se ha demostrado que ratas ovariectomizadas a las que se les administra concentraciones constantes de estradiol y progesterona similares a las cantidades que presenta un animal intacto, presentan conducta proceptiva y receptiva comparable a ratas no ovariectomizadas ciclantes (Fadem, 1979; Edwards y Pfeifle, 1981; Erskine 1989; Fadem et al., 1979; Beach, 1976; Albert et al., 1990). El período para medir receptividad puede ser fácilmente predecible, puesto que el intervalo entre la administración de estrógenos y la aparición de la lordosis es más o menos constante. Cuando una rata es ovariectomizada y es inyectada con estradiol 48 horas antes y con progesterona 4 horas antes de una prueba o evaluación, el animal presenta un estro conductual, es decir, un incremento en la conducta proceptiva y en la intensidad del reflejo de lordosis. Es importante señalar que cuando se evalúa conducta sexual se administran varios pulsos de estradiol en presencia de progesterona con el fin de que el coeficiente de lordosis se mantenga (Clark y Roy, 1987).

La información que se tiene hasta ahora sobre los mecanismos que regulan la conducta de lordosis en la hembra proviene de los estudios acerca de los cambios en el sistema endocrino, los cuales también afectan los aspectos sociales y ambientales en los que la rata se encuentra.

### **1.3 Estructuras cerebrales y conducta sexual de la rata hembra.**

El área preóptica media del hipotálamo anterior ha sido asociada filogenéticamente con la expresión de la conducta sexual masculina las lesiones en esta región interfieren con la conducta de apareamiento en una gran variedad de vertebrados (Clancy et al., 2000). En ratas hembra la conducta de apareamiento o conducta de solicitud se ha relacionado principalmente con el núcleo ventromedial del hipotálamo (NVM). Tanto lesiones bilaterales como unilaterales de la región peripeduncular eliminan la ocurrencia de lordosis. Este tipo de lesiones daña específicamente la vía lateral que conecta al NVM con el cerebro medio reduciendo así la expresión de lordosis en la rata hembra. Dado que las neuronas de la región peripeduncular establecen conexiones con el hipotálamo ventromedial y éstas a su vez tienen conexiones recíprocas laterales con el cerebro medio, es posible concluir que las lesiones bilaterales de estas vías son las responsables, ya sea total o parcialmente de los déficits en la lordosis de estos animales. Dado que el NVM tiene conexiones con otras estructuras como la habénula, la amígdala y la sustancia gris central del cerebro medio, cualquiera de éstas conexiones podría jugar un papel importante en la ejecución de la conducta sexual femenina (Edwards y Pfeifle, 1981).

Las áreas del cerebro anterior están relacionadas con la función de la conducta sexual (aspectos tanto apetitivos como copulatorios) son sensibles a estrógenos y progesterona y están relacionadas también con aspectos de otras conductas como la conducta de locomoción, agresividad, alertamiento e ingesta de alimento (Rivas y Mir 1990). Así, utilizando marcadores radioactivos se han encontrado receptores a estrógenos en los núcleos hipotalámicos: ventromedial, anterior, ventrolateral, posterior, área preóptica media, premamilar y en los núcleos de la habénula medial preóptico lateral y triangular septal así como en el área gris central del cerebro medio (Feder et al., 1979). Se ha demostrado que el NVM contiene una gran cantidad de receptores tanto a estradiol como a progesterona. Específicamente, la acción de los estrógenos a

través de la vía lateral que va del NVM al cerebro medio a través de la región peripeduncular activando la sustancia gris central, es la responsable de la evocación y/o ejecución de la conducta de lordosis (Edwards y Pfeifle, 1981). La activación de los receptores en esta región puede ser crítica para el despliegue de la conducta de lordosis. Implantes del antiestrógeno monohydroxytamoxifen o keoxifen en el núcleo ventromedial actúan como antagonistas 24 h antes de un tratamiento de estradiol disminuyendo la conducta de lordosis. En hembras OVX tratadas con estradiol y progesterona se observan cambios en la morfología de las neuronas de esta área, que están estrechamente relacionados con el nivel de conducta sexual (Meisel et al., 1987; Meisel y Pfaff, 1988),

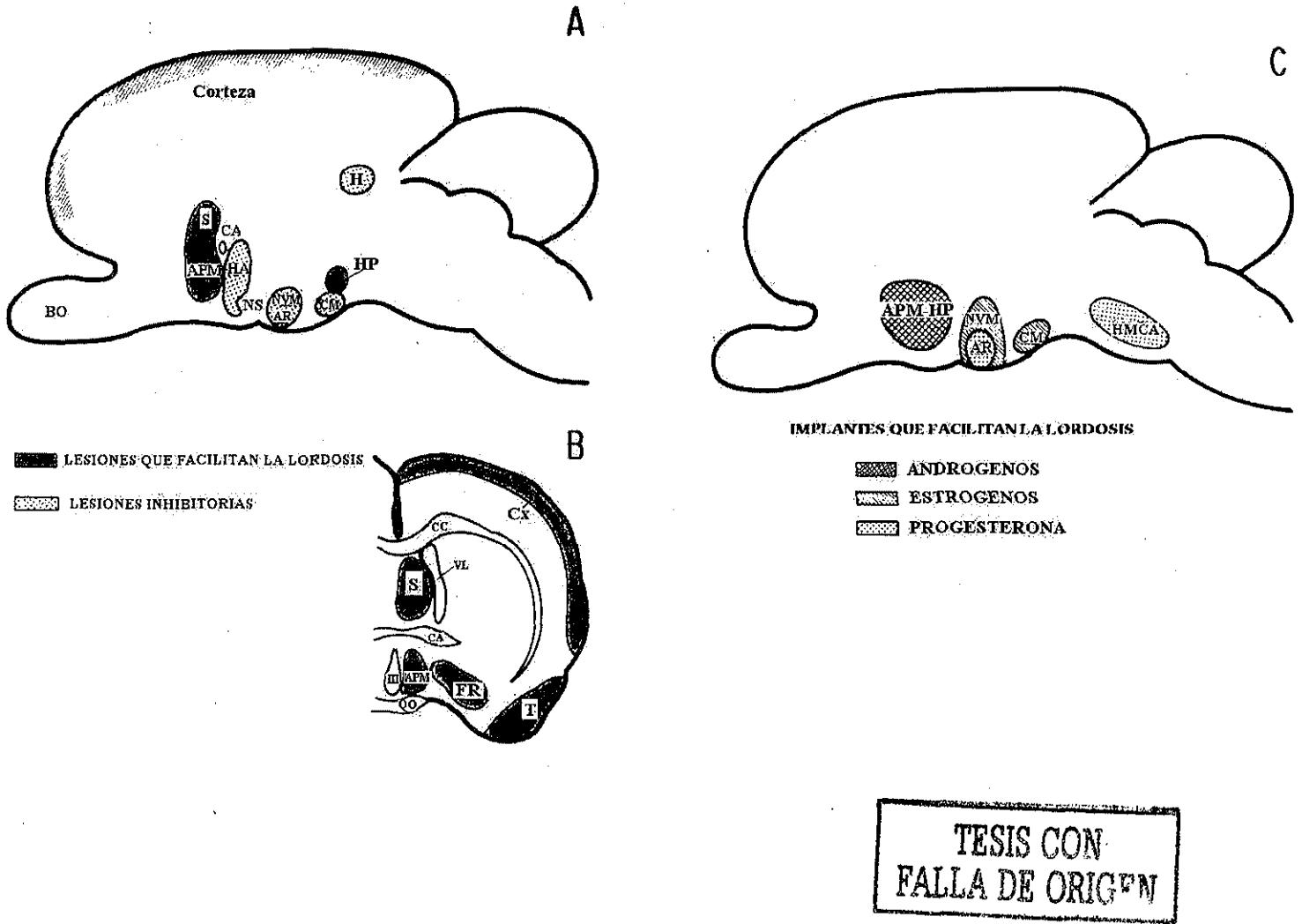
Por otro lado, lesiones electrolíticas en varias partes del hipotálamo suprimen la conducta sexual en ambos sexos. Se han obtenido resultados similares con lesiones del núcleo ventro medial (NVM), lesiones septales o deafferentación del área anterior dorsal y del área preóptica (Yang y Clemens, 2000). Las lesiones del estriado y núcleo accumbens bloquean la conducta motivacional femenina e incrementan la conducta de rechazo por parte de la hembra, sin modificar el reflejo de lordosis (Rivas y Mir, 1990; Jenkins y Becker, 2001). Lesiones bilaterales del núcleo accumbens con ácido quinolínico interfieren con la conducta de cópula regulada, las hembras rechazan la interacción sexual con el macho al igual que las lesiones en el estriado (Jenkins y Becker, 2001). Implantes de estrógenos en el accumbens y en el estriado inducen receptividad sexual (Xiao y Becker, 1997).

El área preóptica media (APOM) también juega un papel importante en la regulación del comportamiento sexual femenino (Yang y Clemens, 2000). Cambios en la actividad de disparo de las neuronas de esta área podrían estar asociadas a componentes específicos de la conducta sexual de la hembra (Kato y Sakuma, 2000). Lesiones electrolíticas o con ácido iboténico en esta área, interfieren en la regulación del comportamiento sexual femenino, disminuyendo la conducta proceptiva y de afiliación y aumentando los intervalos de contacto con el macho y no tienen efecto alguno en la lordosis (Yang y Clemens, 2000). Lesiones en el área dorsal del APOM en ratas ovariectomizadas tratadas con estrógenos incrementan la conducta de lordosis (Yamanouchi y Arai, 1977). Estos estudios sugieren que la parte anterior del APOM



incluyendo el núcleo lecho de la estría terminal, juegan un papel importante en la regulación del comportamiento de aproximación e iniciación de la conducta sexual de la rata hembra, además de interferir con el procesamiento de la estimulación genital. Por otro lado, la parte dorsal del APOM participa en el procesamiento de la conducta de lordosis. Otros estudios de lesiones citados por Morali y Beyer en 1979, proponen la existencia de un sistema inhibitorio como parte del despliegue de la conducta sexual femenina ya que lesiones en diferentes partes del APOM (septales y dorsal anterior) de ratas ovariectomizadas requieren menor cantidad de estrógenos para mostrar conducta de lordosis. La localización de estas lesiones sugiere la existencia de un sistema inhibitorio que podría originarse en el telencéfalo y pasar por el hipotálamo anterior a través del área preóptica (Figura 4) (Morali y Beyer, 1979). Infusiones bilaterales de oxitocina en el área preóptica media y en la parte rostral del hipotálamo ventral elevan el cociente de lordosis en ratas ovariectomizadas y tratadas con estrógeno y progesterona (Caldwell et al., 1989).

En resumen, todas estas áreas cerebrales, el área preóptica media, el área ventromedial del hipotálamo, núcleo accumbens, estriado, amígdala medial posterodorsal, entre otras, están relacionadas con el control de la conducta sexual y son sensibles a los estrógenos y a la progesterona. La conducta de apareamiento depende también en gran parte de la habilidad de la hembra para discriminar los estímulos copulatorios que recibe. Para las hembras, la estimulación táctil asociada al apareamiento es mucho más importante que para los machos. Estas diferencias pueden relacionarse con la actividad neuroendocrina que se desencadena como resultado de la cópula. Mientras que en el macho la liberación de LH y testosterona se activa por un estímulo distante, en la hembra es necesaria la estimulación cérvico-vaginal para la liberación de LH y asegurar un estado pregestacional (Agmo, 1999). En la hembra, la transición de una conducta de aproximación (llamada también conducta proceptiva o solícita) a una conducta receptiva (acto copulatorio o lordosis) dependerá de la estimulación sensorial proveniente del macho y del estado hormonal en el que se encuentre la hembra.



**Figura 4.** Sección sagital y transversal de un cerebro representativo de mamífero  
**A y B:** Áreas en las cuales una lesión o estimulación eléctrica afectan la receptividad.  
**C:** Localización de áreas en las que implantes de esteroides facilitan la receptividad CA  
 comisura anterior. HA hipotálamo anterior. AR núcleo arcuato. CC cuerpo calloso, Cx  
 corteza cerebral. H habenula. VL ventrículo lateral. CM cuerpos mamilares. HMCA híz  
 medio del cerebro anterior. FRM formación reticular meencefalica. BO bulbo

olfatorio. QO quiasma óptico HP hipotálamo posterior. APO área preóptica. S septum. SO núcleo supraóptico. T lóbulo temporal incluyendo amígdala. NVM núcleo ventro medial. III tercer ventrículo.

De acuerdo con algunos estudios (Fadem et al.,1979; Agmo, 1999), las conductas proceptivas son completamente independientes de las receptivas, es decir, obedecen a dos sistemas diferentes. Mientras las primeras dependen de la progesterona, las conductas de receptividad y lordosis dependen de estrógenos. En la rata hembra la transición entre las conductas de aproximación (llamadas también de solicitud o conductas proceptivas) y la conducta de lordosis podría ser continua y dependiente de la estimulación proveniente del macho. También se ha propuesto que tanto las conductas proceptivas como receptivas podrían estar reguladas por diferentes regiones del cerebro (Fadem et al.,1979; Erskine, 1997).

Es importante destacar que la integridad del hipotálamo ventromedial es esencial para la expresión de la conducta sexual. Sin embargo, otros mecanismos inhibitorios y excitatorios inducidos por otras partes del encéfalo no son menos importantes (Moralí y Beyer, 1979). Lesiones en el área preóptica media interfieren en la lordosis pero no afectan las conductas de solicitud (Yang y Clemens, 2000), lo que implica que no todos los aspectos del comportamiento sexual de la hembra dependen de un solo sistema neuronal. Hasta ahora, no se conoce el sustrato que controla los aspectos apetitivos del comportamiento sexual femenino.

## 1.4 Conducta sexual y Dopamina

Durante las últimas décadas se han estudiado con gran interés a los neurotransmisores involucrados en la conducta sexual (Agmo y Paredes, 1988; Agmo y Fernández, 1989; Mermelstein y Becker, 1995; Agmo y Berenfeld, 1990; Melis y Argiolas, 1995; Lorrain et al., 1998; Lorrain et al., 1999; Fiorino y Phillips, 1999; Dominguez et al., 2001; López y Ettenberg, 2001; Meisel et al., 1993; Meisel y Joppa, 1994; Meisel et al., 1996; Miller y Baum, 1987; Agmo y Paredes, 1988; Paredes et al., 1998). Durante la cópula, las ratas hembras liberan opioides los cuales tienen un efecto analgésico que contribuye a las consecuencias positivas del apareamiento (Wise 1989, Paredes et al., 1998; Paredes y Martínez, 2001). Se ha comprobado tanto en hembras como en machos utilizando el CPL, que la naloxona (antagonista opioide) puede bloquear las consecuencias afectivo-positivas de la cópula (Mehrara y Baum 1990; Paredes et al., 1998; Paredes y Martínez, 2001). Sin embargo, este sistema no actúa aislado sino que podría interactuar con otros, como es el caso del sistema dopaminérgico. Se ha propuesto que la activación de opioides podría ser mediada por dopamina ya que ambos compuestos participan en el sistema endógeno de reforzamiento.

Los estudios recientes que relacionan al sistema dopaminérgico y sus diversos tipos y subtipos de receptores con aspectos específicos de la conducta sexual, son sujeto de grandes controversias. Mientras que agonistas dopaminérgicos en ciertas dosis estimulan la conducta sexual en hembras (incremento en la lordosis), antagonistas dopaminérgicos no tienen ningún efecto (Foreman y May, 1987; Agmo y Picker, 1990; Agmo y Berenfeld, 1990; Meisel et al., 1993; Meredith et al., 1998) y antagonistas dopaminérgicos inhiben la motivación o excitación sexual en los machos (Agmo y Fernández 1989; López y Ettenberg 2001).

Por otro lado, se sabe que el sistema dopaminérgico nigro-estriado es importante para el control de la coordinación sensorio-motora que se requiere para la cópula, el

sistema mesolímbico-mesocortical es clave en la fase preparatoria o motivacional y posiblemente reforzante de la conducta sexual en los machos y el área preóptica media es esencial para los aspectos consumatorios de la cópula, emisión seminal y erección (Melis y Argiolas 1995). Estos autores proponen que la dopamina juega un papel facilitador en la conducta sexual en las ratas macho y tiene tanto un papel estimulador como inhibidor de la conducta sexual de la rata hembra.

Estudios de microdiálisis indican que los niveles de dopamina se incrementan en el accumbens y en el estriado, cuando la hembra regula la cópula (Mermelstein y Becker 1995). Meisel y colaboradores (1993), utilizando microdiálisis, han podido registrar un aumento de los niveles de dopamina en el estriado ventral en los primeros 15 min de exposición de la hembra al macho, misma que decrece gradualmente a lo largo de los 45min siguientes (Meisel et al., 1993). El grupo de Meisel (1993) propone que la dopamina inhibe la expresión de la conducta sexual. Este grupo ha demostrado también que la conducta sexual induce un CPL en hembras hámster y que la administración de antagonistas dopaminérgicos D2 (raclopride y sulpiride) no producen ningún efecto sobre la conducta de lordosis durante las sesiones de condicionamiento. El raclopride bloquea completamente la adquisición del condicionamiento de preferencia de lugar inducido por conducta sexual. Los autores concluyen que los antagonistas a los receptores dopaminérgicos de tipo D2 alteran los procesos apetitivos independientemente de cualquier efecto en la expresión de la lordosis. Cabe señalar que la dosis administrada de raclopride en este trabajo fue de 1.25 mg/Kg, una dosis tan alta podría interferir y afectar la actividad locomotora en estos animales y por consiguiente confundir la interpretación de los resultados obtenidos (Meisel et al., 1996).

El núcleo accumbens y el área tegmental ventral son estructuras asociadas con la preferencia de lugar inducida por opioides. Estas estructuras también contienen receptores a dopamina, por lo que se ha propuesto que este neurotransmisor podría mediar los efectos reforzantes de los opioides. En ratas hembra ovariectomizadas tratadas hormonalmente, la administración de micro-infusiones en dosis moderadas (entre 2.5-25µg/Kg.) de soluciones que contienen agonistas dopaminérgicos (apomorfina o selectivos a los receptores D2 como el LY163502, quinpirole, peribedil, bromocriptina, o lergotril) en el área preóptica media o el área ventromedial del núcleo

arcuato estimulan la lordosis (Foreman y Hall, 1987). Sin embargo, la respuesta de lordosis se suprime cuando estos fármacos son administrados en dosis muy bajas o muy altas. Existe también evidencia de que los receptores de dopamina D1 juegan un papel importante en la circuitería neuronal activada por estimulación vagino-cervical durante el apareamiento. La estimulación vagino-cervical induce fosforilación de dopamina y síntesis de AMP cíclico que a su vez regulan la fosfoproteína (DARPP-32) en respuesta a la estimulación de receptores D1. Ratas tratadas con estradiol y estimuladas vagino-cervicalmente, presentan un incremento celular que expresa pDARPP-32 92% en el núcleo preótico medial, 123% en la amígdala posterodorsal medial y 103% en el núcleo lecho de la estria terminal (Meredith et al., 1998). Si el accumbens recibe proyecciones dopaminérgicas del área tegmental ventral entonces los efectos reforzantes de la conducta sexual podrían estar mediados por dopamina (Packard et al., 1998). Otras drogas como la morfina tienen la propiedad de incrementar la liberación de dopamina en la vía dopaminérgica mesolímbica (Shoaib et al., 1995). Se ha sugerido también que el incremento de la actividad dopaminérgica facilita la iniciación de la conducta sexual debido a un incremento general de excitación pero no porque tenga un efecto directo en la conducta (Agmo y Berenfeld 1990; Agmo y Picker, 1990). Además, estudios realizados utilizando el antagonista de DA (pimozide) indican que este fármaco no tiene ningún efecto sobre el valor reforzante de la eyaculación (Agmo y Berenfeld, 1990).

Es importante saber que la mayor parte de los estudios realizados para evaluar el papel que juega la dopamina en la conducta sexual han sido realizados en ratas machos (Agmo y Fernández 1989, Mermelstein y Becker 1995, Agmo y Berenfeld 1990, Melis y Argiolas 1995, Lorrain et al., 1998, Lorrain et al., 1999, Fiorino y Phillips 1999, Dominguez et al., 2001, López y Ettenberg 2001) o hámsters de ambos sexos (Meisel et al., 1993, Meisel y Joppa 1994, Meisel et al., 1996).

El presente trabajo tiene como propósito evaluar de qué modo la dopamina podría estar involucrada en los procesos motivacionales que intervienen en la conducta sexual de las hembras. Particularmente el papel que juega la DA en el estado afectivo-positivo inducido por la cópula regulada.

## Capítulo 2

# Cópula Regulada y condicionamiento

## 2.1 Cópula Regulada

La conducta sexual en las ratas es diferente en hembras que en machos. Debido a su estado fisiológico, las ratas macho siempre están dispuestas a iniciar una interacción sexual y la experiencia incrementa esta actividad, mientras que en las hembras esta conducta es dependiente de su ciclo hormonal, de la estimulación del macho y de un patrón de preferencia temporal a la cópula. Las ratas hembras prefieren períodos más largos entre las intromisiones que los requeridos por los machos. De cualquier manera, en ambos sexos existen respuestas precopulatorias o motivacionales que dirigen al animal a la búsqueda o inicio de la ejecución de la conducta sexual.

Una de las características más importantes de la conducta sexual de la rata hembra es que ésta posee tanto componentes atractivos como aversivos. En ambientes seminaturales es interesante observar que una hembra en estro se acerca (componente atractivo) y aleja consecutivamente del macho, hasta que comienza a ser estimulada. Posteriormente, si la estimulación es prolongada, las conductas proceptivas y de lordosis disminuirán significativamente y tenderán a desaparecer, al punto de que la hembra rechazará al macho (componente aversivo). Las conductas tanto de alejamiento como de acercamiento permiten entonces que la hembra desarrolle y mantenga contacto con el macho, controlando así el número de estimulaciones con el fin de evitar una sobre-estimulación. Finalmente, el tipo y la calidad de la estimulación vaginocervical que la hembra recibe durante el apareamiento será un factor decisivo en la regulación de la cópula (Yang y Clemens, 1998).

Es claro entonces que la estimulación durante el apareamiento desencadena una variedad de cambios fisiológicos y de comportamiento que promueven la preñez, facilitan la lordosis, decrecen la duración de la receptividad e incrementan la analgesia.

## **2.2 La cópula como generador de un estado afectivo-positivo**

De acuerdo con Thorndike y su "Ley del Efecto" cuando un estímulo asociado a una respuesta va seguido de un estado gratificante esta respuesta volverá a presentarse. Si por el contrario, la respuesta está asociada con un estado desagradable o aversivo, la probabilidad de que esta respuesta vuelva a repetirse será menor (White, 1989). Dicho de otra manera, un estado afectivo-positivo asociado a una respuesta aumenta la probabilidad de que la respuesta se repita, mientras que un castigo o un estado afectivo negativo asociado a la respuesta tenderá a disminuir su probabilidad de ocurrencia. Esta modificación de la conducta como resultado de la experiencia se conoce como aprendizaje. Las conductas de solicitud están consideradas como un tipo de sistema motivacional que incrementan la conducta de búsqueda del sexo opuesto (e incrementa la intensidad de la respuesta) con el fin de realizar la cópula. Esta conducta puede ser comparada con aquella que se presenta cuando un estado de privación incita al animal a obtener una recompensa como el agua o el alimento (reforzadores homeostáticos). El estudio del comportamiento de la conducta sexual ha sido de particular interés ya que aún cuando no es necesaria para la supervivencia del organismo es considerada esencial para la supervivencia biológica a través de las especies (Matthews et al.,1997).

Los aspectos motivacionales de la conducta sexual tanto en hembras como en machos han sido ampliamente estudiados y evaluados por diferentes métodos de aprendizaje instrumental y condicionamiento tanto clásico como operante (Peirce y Nuttall, 1961; Bermant y Westbrook, 1966; Hill y Thomas, 1973; Gilman y Westbrook, 1978; Coopersmith et al., 1996; Agmo y Berenfeld, 1990; Paredes y Vázquez, 1999; Pfaus et al.,1999; Pfaus y Smith, 2000). Bermant (1961) fue uno de los primeros que utilizaron el condicionamiento operante para evaluar los aspectos motivacionales de la cópula en la rata hembra. Estos animales fueron entrenados a apretar una palanca para obtener la presencia de un macho con el cual ya habían tenido contacto. 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 fue mucho mayor después



de una eyaculación que posterior a una intromisión y mucho menor después de una monta. Cuando la vagina de las hembras fue anestesiada, los intervalos de respuesta fueron menores después de un contacto sexual que cuando no estaba anestesiada. Es posible entonces concluir que las hembras evitan contactos sexuales continuos (Bermant, 1961; Hill y Thomas, 1973; Hardy y DeBold, 1972). Otro método utilizado para evaluar la conducta sexual en las hembras es el uso de una barrera electrificada en donde la hembra era capaz de soportar altas corrientes eléctricas con el fin de estar con un macho activo (French et al., 1972). El uso del laberinto de un solo brazo es otro ejemplo de cómo medir la motivación sexual. Las hembras durante el proestro tardío corren más rápido hacia un macho activo que durante el diestro. Esta preferencia disminuye durante la preñez y aumenta gradualmente durante la lactancia, es decir, el grado de motivación en la rata hembra está relacionado particularmente con su estado hormonal (Eliasson y Meyerson, 1975). En los experimentos de preferencia de pareja, las hembras también prefieren un macho activo si se les da la opción entre éste y una hembra o un macho castrado o inactivo. Lo mismo se ha observado en hembras ovariectomizadas y tratadas con estradiol y progesterona (Gilman y Westbrook, 1978; Paredes y Vázquez, 1999). Hembras sobre-estimuladas vaginalmente (cinco eyaculaciones) que han sido colocadas en una caja de tres compartimentos en los que a los lados se encuentran machos activos, prefieren estar más tiempo en el compartimento del centro o bien prefieren estar con un macho castrado que con un macho activo (Broekman et al., 1988). Estos estudios revelan la importancia de disociar los aspectos apetitivos y aversivos que involucra la conducta sexual femenina.

El sistema olfatorio también juega un papel importante en la conducta sexual. Las hembras prefieren una jaula en donde ha estado un macho activo que una donde ha estado uno castrado, lo que permite concluir que los estímulos olfatorios son necesarios y suficientes para inducir una preferencia (Stern, 1970).

Uno de los aspectos que ha sido particularmente estudiado es que la conducta sexual induce un estado afectivo-positivo si tanto el macho como la hembra pueden controlar el número de interacciones sexuales durante la cópula (Erskine, 1989; Paredes y Alonso, 1997). Esta conducta se conoce con el nombre de cópula regulada o "pacing". Uno de los procedimientos más usados con el fin de estudiar los aspectos

motivacionales tanto reforzantes como aversivos del comportamiento sexual femenino es el paradigma de condicionamiento de preferencia de lugar (CPL) (Agmo y Berenfeld, 1990; Paredes y Alonso, 1997; Martínez y Paredes, 2001). Se ha demostrado que las hembras que regulan la cópula y cuando reciben de 10 a 15 intromisiones desarrollan una clara preferencia de lugar (Paredes y Vázquez, 1999).

En el caso de los machos, cuando controlan la cópula requieren menos intromisiones para obtener una eyaculación y por consiguiente un cambio de preferencia. Ratas macho a las que se les permitió copular hasta tener una eyaculación e inmediatamente fueron transferidas a la caja de preferencia de lugar, después de varias sesiones de condicionamiento mostraron un cambio de preferencia. Esto implica que el estado afectivo inducido por la eyaculación puede ser asociado a estímulos ambientales y estos a su vez inducir un cambio de preferencia de lugar.

## **2.3 Paradigma de condicionamiento de preferencia lugar (CPL) y Cópula Regulada.**

El condicionamiento de preferencia de lugar (CPL) es un procedimiento que ha sido ampliamente usado para evaluar los efectos que tienen algunos fármacos sobre la conducta sexual. Estos efectos son asociados a las características físicas de la caja de prueba y permiten inducir en el animal un cambio de preferencia.

Utilizando la prueba de CPL se ha demostrado que la conducta sexual induce un estado afectivo-positivo tanto en ratas macho como en hembra (Miller y Baum, 1987; Agmo y Berenfeld, 1990; Paredes y Alonso, 1997; Martínez y Paredes 2001). Peirce and Nuttal (1961) establecieron que el comportamiento de la hembra en estro natural puede no tener cambios observables durante una sesión de cópula. En cambio, la actividad del macho es muy clara (patrón de monta intromisión y eyaculación).

En los últimos años se han estudiado los aspectos ambientales y sociales que contribuyen a la preferencia de pareja, cómo las hembras adquieren información sobre el sexo opuesto y qué beneficios obtienen de escoger un macho en particular (Rivas y Mir, 1990). Actualmente ha sido posible estudiar no sólo el complejo despliegue de

conductas que realiza la hembra para atraer al macho sino bajo qué circunstancias se presentan y cuáles son los parámetros que las controlan.

Los estudios recientes que han combinado el CPL con la cópula regulada han demostrado que ratas ovariectomizadas sexualmente inexpertas e inyectadas con benzoato de estradiol y progesterona desarrollaron un CPL cuando se les permitió regular la cópula. Por el contrario, a las hembras que no se les permitió regular la cópula no modificaron su preferencia (Paredes y Alonso, 1997; Martínez y Paredes 2001).

De acuerdo con Pfaus y colaboradores (1999), los patrones de comportamiento sexual que la rata hembra utiliza para regular sus interacciones sexuales con el macho son muy complicados y muy difíciles de cuantificar pues se requiere de cajas de prueba lo suficientemente grandes para poder evaluar la conducta. A pesar de esto, cada día se sabe más acerca de los mecanismos hormonales y neurológicos del comportamiento de la hembra (Pfaus et al., 1999; Pfaus y Smith, 2000).

Entre los métodos que se han utilizado para que las hembras regulen la cópula, además de las observaciones de apareamiento en grupo en ambientes semi-naturales, está el método operante que consiste en presionar una palanca para que la hembra pueda obtener la compañía de un macho (Mathews et al., 1997). Otro método es amarrar al macho para medir la conducta sexual dejando a la hembra en libertad de movimiento para que se acerque al macho tantas veces como quiera. El uso de cajas con dos niveles es otro método usado recientemente para evaluar la cópula regulada, estas cajas están conectadas por unas rampas por las cuales la hembra puede moverse hacia otro nivel alejándose del macho cuando este la persigue y regresar con el macho cuando lo requiera (Pfaus et al., 1999; Pfaus y Smith, 2000). Otra alternativa para evaluar el comportamiento sexual femenino es la caja con dos compartimentos dividida por un acrílico con cuatro agujeros pequeños por los cuales sólo la hembra puede pasar (Yang y Clemens, 1998 y 2000). Esta caja, similar a la utilizada por Paredes y Vázquez (1999), consiste en una caja dividida por una pared de madera con un orificio en el centro a nivel del suelo por el cual sólo la hembra puede pasar. Utilizando esta caja se ha podido demostrar que las intromisiones reguladas, inclusive sin eyaculación, pueden inducir un estado afectivo-positivo.

Todos estos métodos se han utilizado para establecer que la hembra es capaz de regular los contactos copulatorios con el macho durante el apareamiento y qué conducta puede inducir un estado afectivo-positivo (Paredes y Alonso, 1997; Paredes y Vázquez, 1999; Martínez y Paredes, 2001).

## Capítulo 3

### Trabajo de investigación

#### 3.1 Planteamiento del problema

Se ha propuesto que los opioides endógenos participan en el control de la conducta sexual en ratas. La acción de estos péptidos produce un estado de analgesia que disminuye los efectos aversivos de la cópula y facilitan la eyaculación. El estado afectivo producido por la eyaculación es dependiente de opioides. Agonistas de receptores a opioides como la morfina y las  $\beta$ -endorfinas (según la dosis), inducen condicionamiento de preferencia de lugar, mientras que antagonistas como la naloxona bloquean el CPL inducido por la cópula tanto en ratas hembra como en macho. Durante una experiencia placentera los opioides activan al sistema dopaminérgico (Wise, 1989). Sin embargo, aún no ha sido comprobado como es que la dopamina participa en la conducta sexual.

El papel que juega la dopamina en los diversos estados motivacionales especialmente en la conducta sexual ha sido muy discutido. La dopamina interviene en múltiples procesos y las vías neuronales que se activan por estímulos placenteros estimulan a su vez al sistema dopaminérgico. Mermelstein y Becker (1995) han reportado un incremento en los niveles de dopamina en el estriado y en el accumbens en ratas hembra que regulan la cópula. Hembras hamster receptoras muestran un incremento en los niveles de dopamina extracelular durante la conducta receptiva (Meisel et al., 1993). Inclusive ha sido posible bloquear el CPL inducido por el apareamiento en hembras hamster utilizando antagonistas dopaminérgicos como el raclopride, lo que sugiere que la dopamina está involucrada en los aspectos apetitivos de la conducta sexual de la hembra hamster (Meisel y Joppa, 1996). Ningún estudio de este tipo se ha realizado utilizando ratas hembra.

Bermant y Westbrook (1966) fueron los primeros en demostrar que la conducta sexual induce un estado "reforzante" cuando la hembra tiene la posibilidad de espaciar los contactos con el macho. Recientemente, utilizando el CPL se ha podido confirmar

que la conducta sexual regulada induce un estado afectivo-positivo en la rata hembra (Meisel y Joppa, 1996; Paredes y Alonso, 1997; Paredes y Vázquez, 1999).

El propósito de este estudio es determinar si el estado afectivo-positivo inducido por la cópula regulada y evaluado utilizando el CPL, se bloquea por antagonistas dopaminérgicos. Esto permitirá determinar si además de los opioides la DA interviene en los aspectos apetitivos de la conducta sexual en la rata hembra.

### **3.2 Hipótesis**

Si los niveles de dopamina aumentan durante la cópula regulada entonces la administración de antagonistas dopaminérgicos antes del apareamiento bloqueará el efecto afectivo-positivo inducidos por la cópula regulada en la rata hembra.

### **3.3 Objetivo General**

Evaluar, utilizando el método de condicionamiento de preferencia de lugar (CPL) y de cópula regulada (CR), el efecto de dos antagonistas dopaminérgicos sobre el estado afectivo-positivo inducido por la cópula regulada en la rata hembra.

#### **Objetivos particulares:**

(1) Establecer curvas dosis-efecto para los antagonistas dopaminérgicos flupentixol y el raclopride. Para este experimento se utilizó el Smart Rod, un aparato que mide coordinación motora. Se determinaron dosis de los antagonistas que no interfirieran con la coordinación motora del animal

(2) Utilizando el paradigma de CPL:

Demostrar que las dosis de cis (Z)flupentixol y raclopride además de no producir alteraciones motoras, bloquean el estado afectivo-positivo inducido por D-sulfato de anfetamina

(3) Utilizando el método de Cópula regulada, evaluar si el estado afectivo-positivo inducido por la cópula regulada en hembras puede bloquearse por los antagonistas dopaminérgicos cis (Z) flupentixol y raclopride.

## 3.4 Sujetos material y métodos

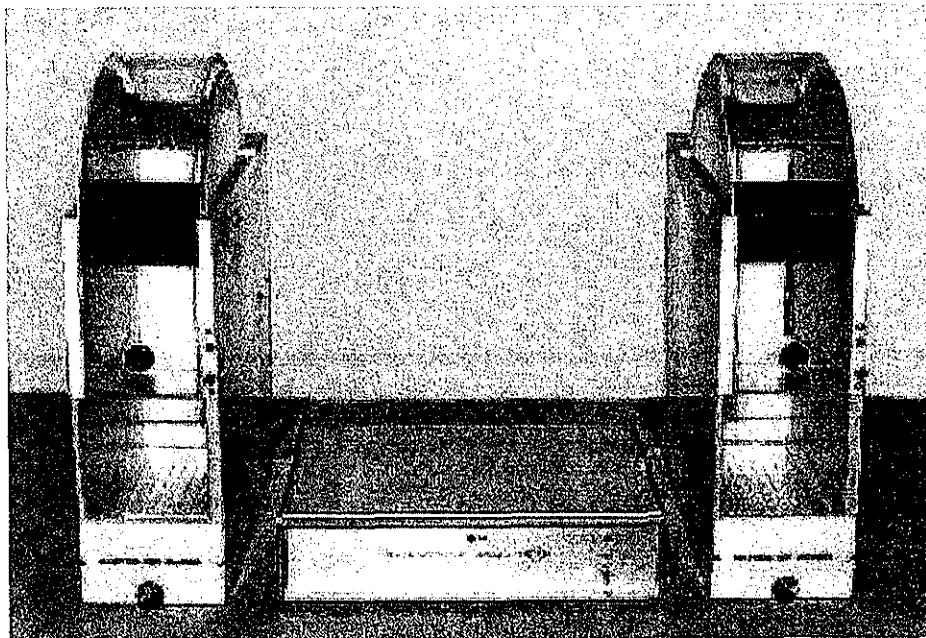
### *Animales*

Se utilizaron ratas hembras Wistar sin experiencia sexual de entre 250 y 350 gramos mantenidas en un ciclo invertido 12 h luz-12 h oscuridad, con acceso libre a comida comercial y agua. Las ratas fueron ovariectomizadas bilateralmente utilizando una mezcla de Ketamina (95mg/kg) y xylazina (12mg/kg). Después de dos semanas de recuperación, los animales fueron colocados en jaulas de laboratorio en grupos de cuatro. Todas las ratas recibieron inyecciones subcutáneas de benzoato de estradiol (EB) (25µg/rata) y progesterona (P) (1mg/kg) para simular el ciclo hormonal normal. Los esteroides fueron disueltos en aceite de maíz e inyectados en un volumen de 0.2 ml/rata. Para la prueba de cópula regulada se utilizaron machos Wistar sexualmente expertos de entre 400 y 500 gramos.

### *Aparatos*

#### **Smart Rod**

Smart Rod (Accuscan Electronics Inc, Columbus, OH). Este aparato consiste en un cilindro giratorio sobre el cual se coloca al animal. La velocidad de giro es previamente programada iniciando desde cero hasta la velocidad requerida y se cuantifica el número de caídas en un determinado intervalo. La evaluación de coordinación motora se realizó de la siguiente manera: se llevó a cabo un entrenamiento y una prueba. En el entrenamiento; las ratas fueron colocadas en cada cilindro del aparato (Figura 5). Al inicio la velocidad del cilindro fue de 10 r.p.m. durante 10 seg. y se incrementó hasta llegar a 20 r.p.m. durante cuatro minutos. El criterio para evaluar la conducta motora fue el número de caídas en 3 minutos a una velocidad sostenida de 25 r.p.m. (ver detalles en Experimento 1).



**Figura 5** Smart Rod (Accuscan Electronics Inc. , Columbus, OH).

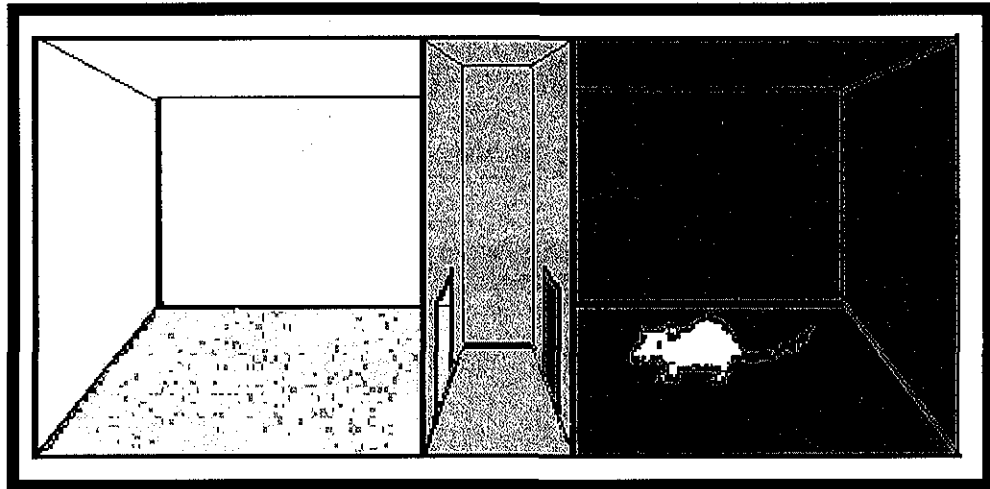
## **Caja de Condicionamiento de Preferencia de Lugar (CPL)**

La prueba para evaluar la preferencia de lugar se realiza en una caja de madera con tres compartimientos. El compartimento central (22 X 24 X 32cm) está pintado de gris y tiene dos puertas deslizables de 10 X 10cm a los lados que comunican a los compartimientos laterales. Al frente tiene una malla de plástico por donde el animal puede ser observado (Figura 6).

Los compartimientos laterales tienen las mismas dimensiones (27 X 37 X 32cm). Uno está pintado de blanco y tiene viruta de aserrín en el piso y el otro está pintado de negro y antes de colocar al animal las paredes se impregnan con una solución de ácido acético glacial al 2% en agua destilada. Ambos compartimientos ofrecen diferente estimulación en color, olor y textura. Durante el condicionamiento el animal asocia el



estado afectivo provocado por un fármaco o un evento a las características físicas del compartimiento.

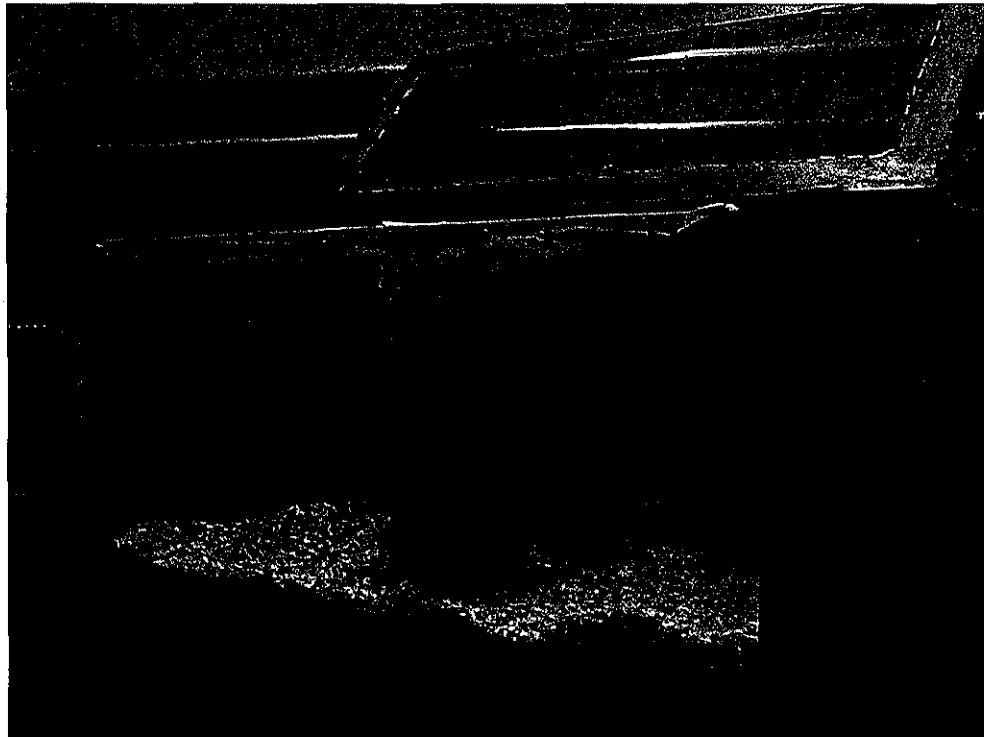


**Figura 6 Caja de Preferencia de Lugar.** El compartimiento de la izquierda es blanco y tiene aserrín en el piso, el de la derecha es negro y tiene impregnadas las paredes con ácido acético. Al centro se encuentra el compartimiento en donde es colocado el animal al inicio de la prueba.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## Caja de Cópula Regulada (CR)

Para evaluar la cópula regulada se utiliza una caja de madera de 40cm X 60cm X 40cm con aserrín en el suelo (Figura 7). En la parte superior tiene una tapa forrada por una malla de plástico por la cual se coloca al animal. El frente es de vidrio a través del cual el animal es observado. La caja está dividida en dos compartimientos por una tabla de madera con un orificio en la parte inferior. Debido al tamaño de la hembra, ésta puede pasar a través del orificio y cambiar de compartimento libremente. El macho, por ser de talla más grande que la hembra, no puede cruzar y está forzado a mantenerse en un solo compartimiento. De esta manera la hembra puede regular la cópula, es decir, entrar al compartimiento donde está el macho y salir del mismo tantas veces lo desee. La prueba termina cuando la hembra recibe 15 intromisiones o una eyaculación.



**Figura 7.** Caja de Cópula Regulada (CR)

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## Cópula No Regulada (CN)

Para evaluar la cópula no regulada se utiliza una caja de madera idéntica a la de cópula regulada pero sin la división (Figura 8). El macho es colocado en la caja y un minuto después se introduce a la caja la hembra. El macho se aparea con la hembra libremente. La prueba termina cuando la hembra recibe 15 intromisiones o una eyaculación.

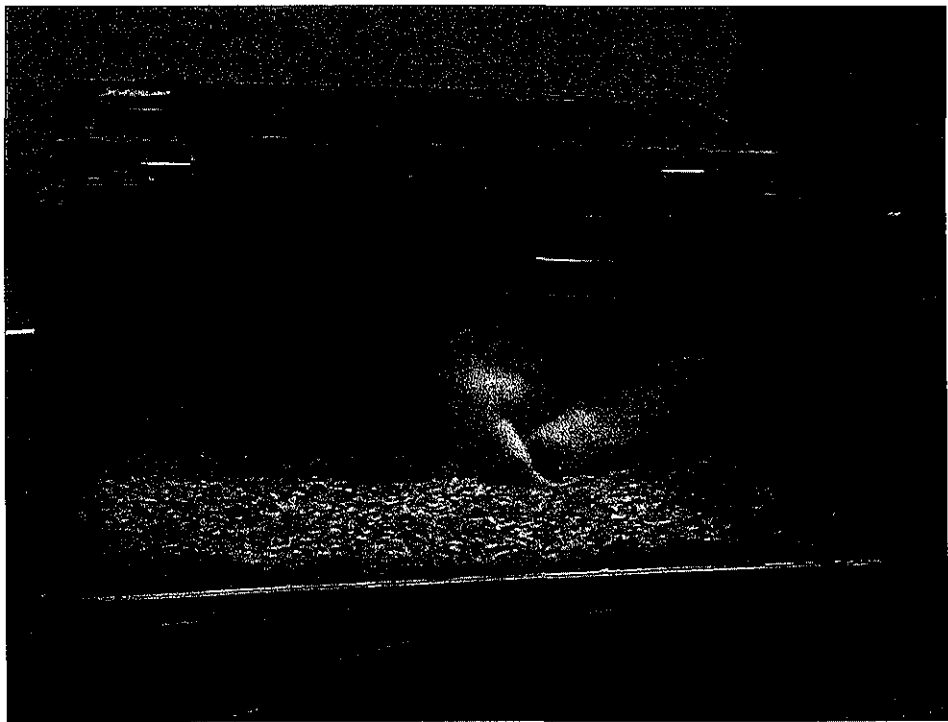


Figura 8. Caja de cópula No Regulada (CN)

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## ***Fármacos***

Todos los fármacos fueron inyectados intraperitonealmente (ip). Se administró D-sulfato de anfetamina (agonista de dopamina, SIGMA/RBI) en una dosis de 1 mg/kg 40 minutos antes de la prueba de preferencia de lugar. Se utilizaron tres dosis de Cis (Z) flupentixol, antagonista dopaminérgico con mayor afinidad para los receptores D2 que D1 (Lundbeck, Copenhagen, Dinamarca). Las dosis 0.25 , 0.5 y 1 mg/Kg se diluyeron en NaCl y fueron administradas 30 minutos antes de la prueba. Se utilizó también S(+)-raclopride L-tartrate antagonista dopaminérgico selectivo a receptores D2 (SIGMA/RBI), en dosis de 0.125, 0.25 y 0.5 mg/Kg diluidas en NaCl e inyectadas 15 minutos antes de la prueba.

## ***Hormonas esteroideas***

Benzoato de Estradiol: 17 $\beta$ -estradiol-3Benzoato, (Sigma Chemical Company, USA) disuelto en aceite de maíz y administrado en una dosis de 25 mg/rata en un volumen de 0.2 ml/rata, 48 horas antes de la prueba de cópula.

Progesterona: (Aldrich Chemical Company Inc. USA) disuelta en aceite de maíz he inyectada en una dosis de 1ml/rata en un volumen de 0.2 ml/rata, 4 horas antes de la prueba de cópula.

## **Métodos**

### **Condicionamiento de Preferencia de Lugar (CPL)**

El CPL es un procedimiento que se deriva de la teoría del aprendizaje asociativo y ha sido ampliamente usado para evaluar las propiedades recompensantes o efectos afectivo-positivos, al igual que los efectos aversivos o negativos de diversas conductas o fármacos (Hasenöhr, et al., 1989; Manzanedo et al., 2001). Se ha sugerido conductualmente que un efecto afectivo-positivo está asociado a un acercamiento y un efecto aversivo a un alejamiento. En este método, 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 administración de un fármaco. Si el tratamiento o fármaco induce un estado afectivo-positivo y éste es asociado al compartimento no preferido inicialmente, el animal cambiará su preferencia inicial y permanecerá más tiempo en el compartimento asociado al fármaco. El resultado de este proceso será entonces un cambio de preferencia de lugar condicionada.

En este trabajo se pretende que las características específicas de color olor y textura de la caja de preferencia sean asociadas con los efectos farmacológicos de la anfetamina el flupentixol y el raclopride, además de la cópula regulada y que si estos producen un efecto afectivo-positivo resulte entonces un cambio de preferencia.

La prueba consta de 8 sesiones. En la primera sesión se determina el compartimento preferido. Esta preprueba dura diez minutos. El animal es colocado en el compartimento del centro por un minuto; posteriormente las puertas deslizables laterales se retiran y se toma el tiempo que el animal permanece en cada compartimento. Si el tiempo que pasa en el compartimento blanco con aserrín en el piso es mayor que el tiempo que pasa en el compartimento negro con las paredes impregnadas con ácido acético, se concluye que el animal "prefiere" la caja blanca y viceversa. Durante las sesiones 2, 4 y 6 el animal es colocado en la caja preferida durante 30 minutos sin ningún tratamiento. En las sesiones alternas 3,5 y 7 el animal se coloca en la caja no preferida después de ser sometido al tratamiento según el experimento, en este caso a la inyección de raclopride o flupentixol o cópula tanto regulada como no regulada. Después de las seis sesiones de condicionamiento se realiza la última sesión o prueba; en ésta se evalúa nuevamente la preferencia de cajas de la misma manera que en la sesión uno (Figura 9).

## CONDICIONAMIENTO DE PREFERENCIA DE LUGAR

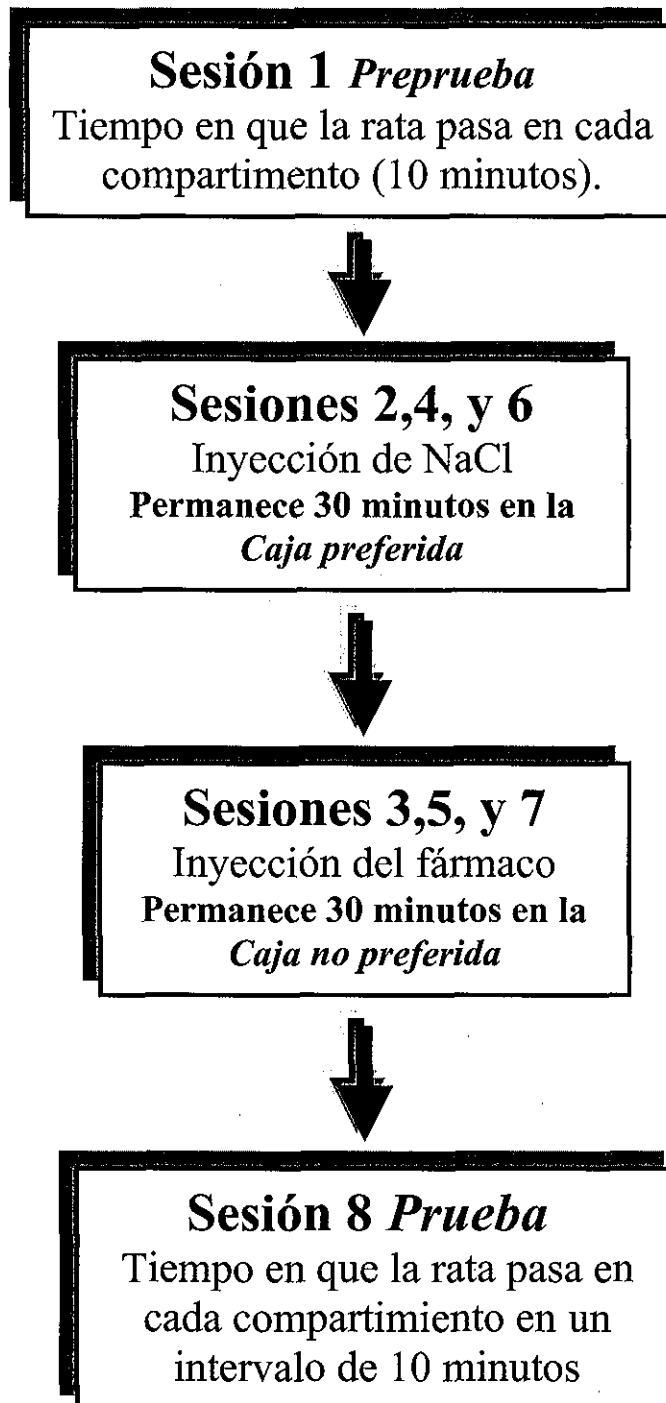


Figura 9 Procedimiento del condicionamiento.

## Procedimiento

### 3.5 Experimento (1)

#### Ejecución Motora

Se realizó una curva dosis-efecto para determinar la dosis adecuada tanto de flupentixol como de raclopride que no afectara la ejecución motora fina de los animales. Se utilizaron dos grupos de 12 hembras para cada fármaco. Ambos grupos fueron inyectados de acuerdo a un cuadro latino, es decir todos los animales de cada grupo recibieron todas las dosis del fármaco. Se administraron intraperitonealmente (ip) las siguientes dosis de flupentixol: 0.25, 0.5 y 1mg/Kg en un volumen de 1ml/Kg 30minutos antes de la prueba de coordinación motora. Se administró NaCl como control. El raclopride se administró (ip) en dosis de 0.125, 0.25 y 0.5 mg/Kg, y en un volumen de 1 ml/Kg y NaCl como control. El raclopride fue inyectado (ip) 15 minutos antes de la prueba motora.

La evaluación de coordinación motora se realizó de la siguiente manera: Como entrenamiento, las ratas fueron colocadas en cada cilindro del aparato; al inicio, la velocidad del cilindro fue de 10 r.p.m. durante 10 segundos y se incrementó hasta llegar a 20 r.p.m. durante cuatro minutos.

#### Programa de entrenamiento:

Duración (seg.)	Velocidad (r.p.m.)
10	10
20	15
240	20
12	1
1	0

Cada vez que una rata caía se le colocaba de nuevo en el cilindro hasta lograr que los animales permanecieran corriendo sin caer. El entrenamiento terminó cuando los animales fueron capaces de mantenerse caminando sin caerse por cuatro minutos consecutivos. Durante las sesiones experimentales los animales fueron colocados en los carretes del Smart Rod a una velocidad que fue incrementando gradualmente de 0 a 25 r.p.m. registrado el número de caídas en un lapso de tres minutos.

Programa de prueba:

Duración (seg.)	Velocidad (r.p.m.)
5	10
5	15
180	25
5	1
1	0

El intervalo entre cada prueba fue de 48h, tiempo suficiente para eliminar los posibles efectos de la sesión previa. (Agmo y De Avila, 1985; Agmo et al., 1987).



### **3.5.1 Resultados Experimento (1)**

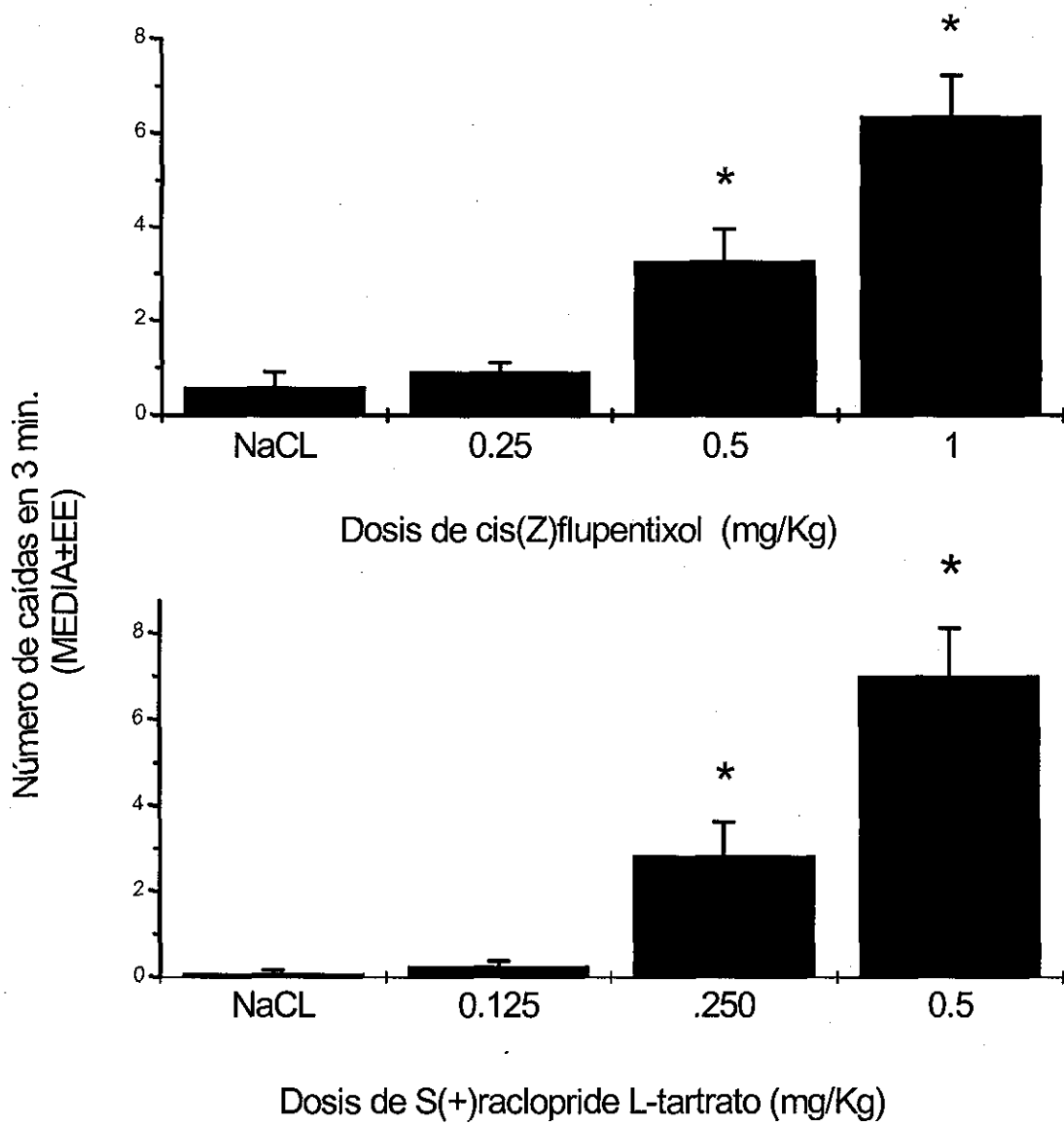
Los datos de la Prueba Motora fueron evaluados con un ANOVA de medidas repetidas y posteriormente una prueba post-hoc de Fisher.

#### **Prueba de coordinación motora para el cis (Z)flupentixol**

Los resultados se muestran en la Figura 10. El ANOVA demostró diferencias significativas entre grupos [ $F(3,11)=25.48393$ ,  $p,<,0.0001$ ]. Los resultados de la prueba post-hoc revelaron que los grupos a los que se les administró 0.5mg/Kg y 1mg/Kg de flupentixol difieren significativamente, tanto del grupo al que se le administró 0.25mg/Kg como del grupo control ( $p < 0.01$ ). No se encontraron diferencias significativas entre el grupo inyectado con NaCl y el grupo inyectado con 0.25 mg/Kg de flupentixol, lo que indica que no hay efectos motores para la dosis de 0.25mg/Kg de flupentixol.

#### **Prueba de coordinación motora para el S(+)-raclopride L-tartrate**

Los resultados estadísticos muestran (Figura 10) diferencias significativas entre los grupos [ $F(3,11)=26.71937$ ,  $p < 0.0001$ ]. Los resultados de la prueba Fisher indican que las dosis más altas de raclopride (0.25mg/Kg y 0.5mg/Kg) causan un aumento considerable de caídas que es significativamente diferente a los animales inyectados con NaCl y 0.125 mg/Kg de raclopride ( $p < 0.01$ ). Estos dos últimos grupos no muestran diferencias significativas. En conclusión, la dosis de 0.125 mg/Kg de raclopride no tiene efectos motores significativos.



**Figura 10. Resultados del Experimento 1.** Efecto del flupentixol (arriba) y del raclopride (abajo). Número de caídas en el Smart Rod en un intervalo de 3 minutos.

\* Diferencia con respecto al control  $p < 0.001$  (n=12).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## 3.6 Experimento (2)

### **Bloqueo del CPL inducido por anfetamina después de la administración de flupentixol o raclopride**

Ratas hembras ovariectomizadas se dividieron en cuatro grupos: (1) NaCl + NaCl, (2) anfetamina + NaCl, (3) anfetamina + flupentixol y (4) anfetamina + raclopride. Todos los animales fueron inyectados con esteroides alternando BE 48 horas y P 4 horas antes del condicionamiento de preferencia.

Durante la primera sesión del CPL se determinó la preferencia inicial. Se colocó al animal en el compartimento central y después de un minuto se retiraron las puertas de los compartimentos laterales y se inició el registro del tiempo que pasó el animal en cada uno de los compartimentos. Para considerar que el animal estaba en un compartimento, ya fuese el negro, el blanco o el gris central, la rata tenía que tener la cabeza y las dos patas delanteras dentro del compartimento, como criterio para poder comenzar a registrar el tiempo en dicho compartimento.

En las sesiones 2,4 y 6 los animales fueron inyectados intraperitonealmente con NaCl a diferentes tiempos antes de ser colocado en la caja preferida por 30 minutos. En las sesiones 3,5 y 7 los animales fueron colocados en la caja no preferida inicialmente de acuerdo al siguiente intervalo: el grupo control fue inyectado (ip) con NaCl 40 minutos y 30 minutos antes de ser colocado en la caja no preferida, al grupo (2) se le administró anfetamina 40 minutos y NaCl 30 minutos antes de ser colocados en la caja no preferida, al grupo (4) se les administró anfetamina 40 minutos y raclopride 15 minutos antes de entrar en la caja no preferida. Ningún animal fue inyectado con más de una droga o combinación de las mismas.

Los tiempos estándares utilizados en el presente trabajo están basados en los estudios farmacocinéticos y de comportamiento que muestran la mayor concentración cerebral y/o efecto en el comportamiento entre la inyección y la prueba (Agmo et al., 1987; Agmo y Fernández, 1989; Meisel et al., 1996).

Durante la sesión de condicionamiento los tres grupos de animales fueron inyectados con solución salina y colocados en la caja preferida por 30 minutos. Al

siguiente día se les expuso a la droga y fueron colocados en la caja no preferida por 30 minutos de tal forma que todos los animales estuvieron tres sesiones en la caja preferida, y tres en la no preferida. En la octava sesión se evaluó la preferencia de caja de la misma manera que en la sesión uno. El intervalo entre el último condicionamiento y la sesión de prueba para todos los grupos fue siempre de 24 horas.

En el CPL se utilizaron dos criterios para evaluar si el tratamiento indujo un condicionamiento de preferencia de lugar. **1) El índice de preferencia (IP)**

$$IP = \frac{T_1}{T_1 + T_2}$$

$T_1$  = tiempo en el compartimento no asociado al evento

$T_2$  = tiempo en el compartimento asociado al evento

El índice de preferencia (IP) debe incrementarse entre la primera sesión y la última. Un incremento en el índice de preferencia podría deberse a una reducción en el tiempo que la rata pasó en el compartimento no asociado a ningún evento sin ningún cambio correspondiente en el tiempo que pasó en el compartimento asociado al evento. Por lo que se utilizó un segundo criterio. **2) Diferencia entre compartimientos (DC)**

$$DC = T_1 - T_2$$

$T_1$  y  $T_2$  significan lo mismo que en la formula anterior.

DC es la diferencia entre el tiempo que permaneció en la caja no asociada al evento menos el tiempo en la caja asociada al evento. Este criterio debe reducirse después del condicionamiento de tal manera que se elimina la influencia del tiempo que el animal pasa en el compartimento de en medio.

El índice de preferencia y la diferencia entre compartimientos se evaluó utilizando un análisis de varianza (ANOVA) de medidas repetidas con un factor entre grupos (tratamiento) y un factor dentro del grupo (preprueba vs prueba).

## 3.6.1 Resultados Experimento (2)

### **Anfetamina más flupentixol**

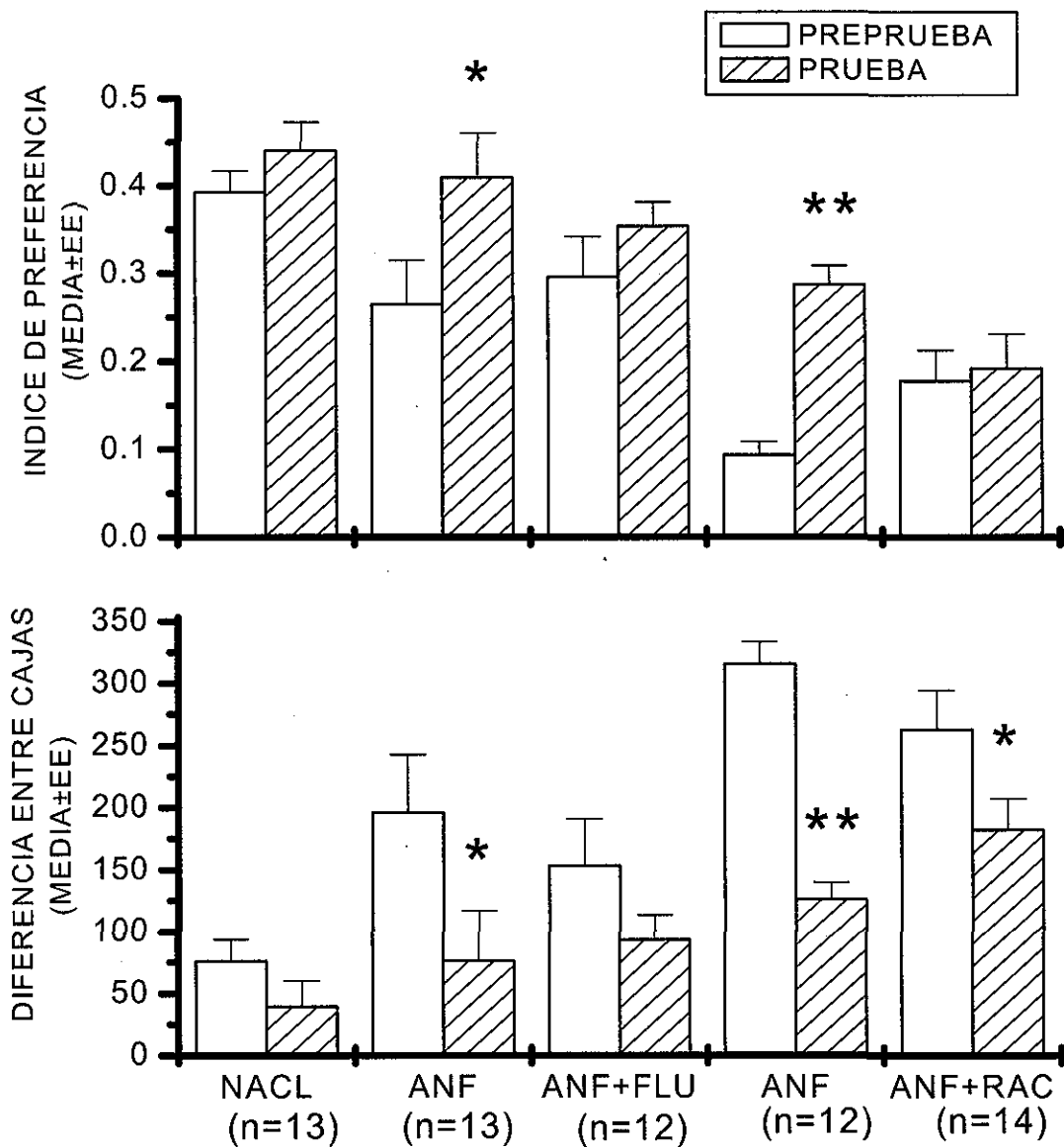
El ANOVA del índice de preferencia reveló un efecto significativo de la sesión,  $[F(1,35) = 6,22, p < 0.02]$  y grupo,  $[F(2,35) = 3.24, p = 0.051]$  pero no de grupo por sesión,  $[F(2,35) = 0.85, p = 0.435]$ . Al analizar los efectos principales simples se encontró que sólo el grupo inyectado con anfetamina mostró un incremento significativo en el índice de preferencia  $[F(1,35) = 6.38, p < 0.02]$ . Estos resultados se muestran en la Figura 11. Es interesante observar que el grupo inyectado con anfetamina y flupentixol no mostró diferencias significativas. Aún cuando la anfetamina por si sola indujo una clara preferencia de lugar ésta fue bloqueada con una dosis de 0.25 mg/Kg de flupentixol.

El análisis de diferencia entre compartimentos reveló efectos significativos de sesión,  $[F(1,35) = 6.77; p < 0.02]$  y de grupo  $[F(2,35) = 3.69; p < 0.05]$ . Las diferencias de grupo por sesión no fueron significativas  $[F(2,35) = 0.81; p = 0.452]$ . Al analizar los efectos principales simples, tal y como se esperaba, la diferencia entre el tiempo en la caja no reforzada y el tiempo en la caja reforzada fue significativamente menor en el grupo de hembras inyectadas con anfetamina  $[F(1,35) = 6.39, p < 0.02]$ . No hubo diferencias significativas en los otros dos grupos (Figura 11).

### **Anfetamina más Raclopride.**

El análisis estadístico del índice de preferencia detectó un efecto significativo de la sesión  $[F(1,24) = 9.17 p < 0.01]$  y del grupo por sesión  $[F(1,24) = 6.84, p < 0.02]$ . No hubo efecto significativo de grupo  $[F(1,24) = 0.04 p = 0.8]$ . El análisis de los efectos principales simples demostró que sólo el grupo inyectado con anfetamina presentó un incremento significativo en el índice de preferencia  $[F(1,24) = 14.79 p < 0.01]$ , mientras que el grupo inyectado con anfetamina más raclopride no mostró ningún aumento  $[F(1,24) = 0.09 con una p = 0.765]$ . La administración de 1 mg/Kg de anfetamina induce un claro CPL que puede ser bloqueado con una dosis de 0.125 mg/Kg de raclopride (ver Figura 5).

Los resultados estadísticos indican que la diferencia entre compartimentos fue significativa para la sesión [ $F(1,24) = 30.09, p < 0.001$ ] y para el grupo por sesión [ $F(1,24) = 4.85, p < 0.05$ ] y no significativa para el grupo [ $F(1,24) = 0.01, p = 0.9$ ]. Los resultados de los efectos principales simples indican que el tiempo en la caja reforzada fue significativamente menor en los grupos a los que se le administró anfetamina [ $F(1,24) = 27.45, p < 0.001$ ], y anfetamina más raclopride [ $F(1,24) = 5.84, p < 0.05$ ].



**Figura 11** Resultados del Experimento 2. Índice de preferencia (arriba) y diferencia entre cajas en segundos (abajo), en animales tratados con anfetamina (ANF) o con anfetamina más los antagonistas dopaminérgicos flupentixol (FLU) o raclopride (RAC). Datos obtenidos en todos los grupos antes y después del condicionamiento.

Diferente de la preprueba, \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.001$

## 3.7 Experimento (3)

### CÓPULA REGULADA

Para esta prueba se utilizaron cuatro grupos de hembras ovariectomizadas, (1) NaCl + Cópula no regulada, (2) NaCl + Cópula regulada, (3) flupentixol + Cópula regulada y (4) raclopride + Cópula regulada. Las ratas fueron inyectadas con hormonas como en el experimento uno para inducir receptividad.

Durante la primera sesión o preprueba se determinó la caja preferida. La prueba de cópula no regulada se realizó en la caja sin división, colocando a la hembra en la caja en donde se encontraba un macho experto. Se registraron montas e intromisiones y se evaluó el tipo de lordosis: se calificó **0** si no hubo lordosis, **1** leve arqueamiento de la columna dorso lumbar y **2** arqueamiento de la columna dorso lumbar con elevación de la región perineal, asociado con un movimiento lateral de la cola para dar acceso a la intromisión. La prueba terminó cuando las ratas recibieron 15 intromisiones o una eyaculación.

El experimento de cópula regulada se realizó en la caja con división y se realizó de la siguiente manera: a la hembra se le colocó en el lado izquierdo de la caja de copulación y al macho en el lado derecho. La caja está dividida por una pared de madera con un orificio en el centro de una medida proporcional al tamaño de la hembra por donde sólo ésta puede pasar. Se registró el tiempo en que la hembra logró su primer contacto con el macho y los intervalos entre éste y los contactos siguientes. También se evaluó el tipo de lordosis. La prueba terminó cuando las ratas recibieron 15 intromisiones o una eyaculación.

En las sesiones 2,4 y 6 todos los animales fueron inyectados con NaCl antes de ser colocados en la caja preferida por 30 minutos.

En las sesiones 3,5 y 7, los animales del primer grupo, después de ser inyectados con NaCl 30 minutos antes de la prueba de cópula no-regulada fueron colocados en el compartimento no preferido de la caja de preferencia por 30 minutos. El segundo grupo de cópula regulada, en las mismas sesiones, fue inyectado con flupentixol 30 minutos antes de la cópula regulada y al finalizar ésta los animales fueron colocados por 30 minutos en el compartimento no preferido de la caja de preferencia. Los animales del último grupo (mismas sesiones) fueron inyectados con raclopride 15 minutos antes de

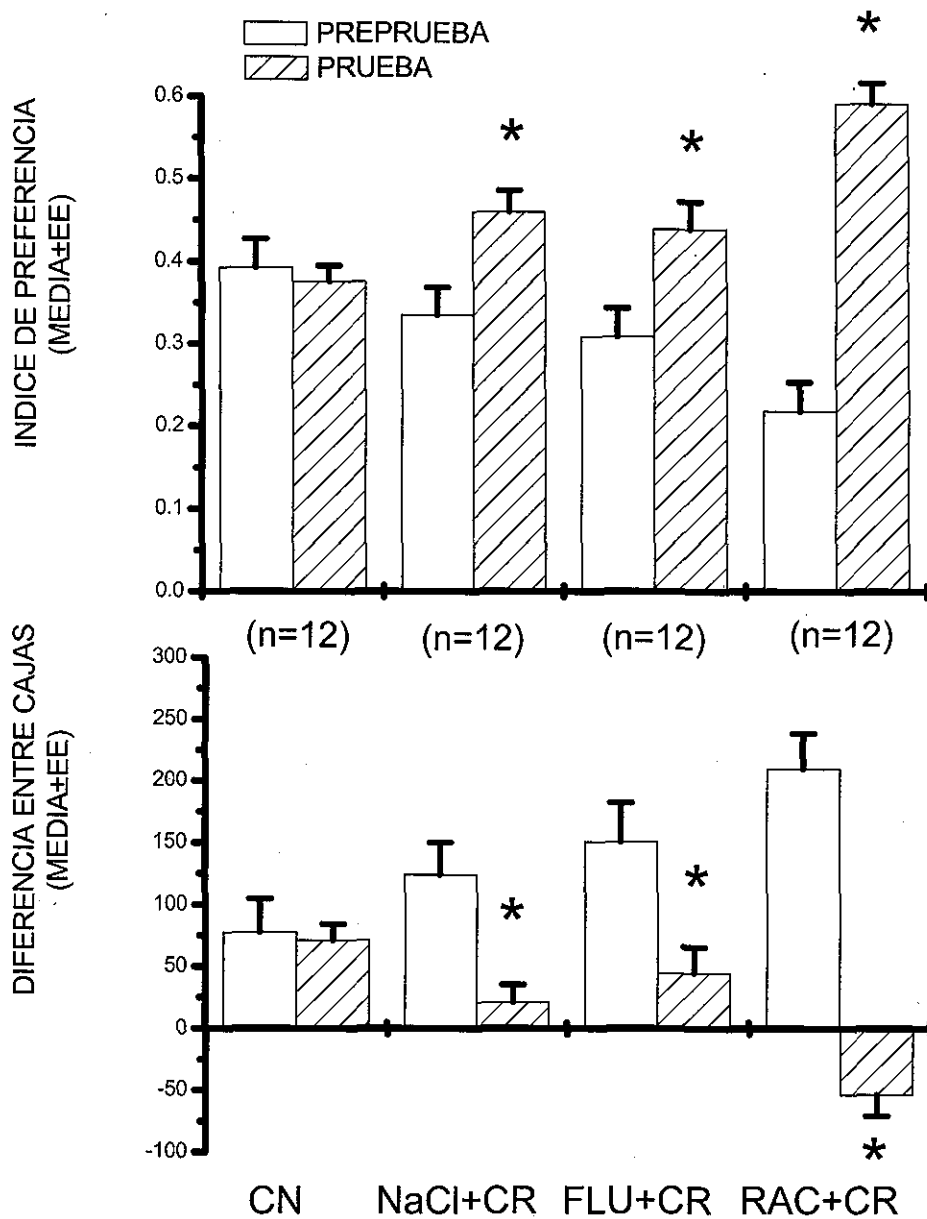


ser colocados en la caja de cópula regulada y finalmente colocados en la caja no preferida de la caja de preferencia por 30 minutos.

### 3.7.1 Resultados experimento (3)

El análisis estadístico para el índice de preferencia reveló un efecto significativo de sesión [ $F(1,44) = 82.15, p < 0.001$ ] y grupo por sesión [ $F(3,44) = 23.04, p < 0.001$ ], pero no de grupo [ $F(3,44) = 0.29, p = 0.8$ ]. Los resultados de los efectos principales simples indican que el índice de preferencia aumentó significativamente tanto para el grupo de Cópula Regulada más NaCl [ $F(1,44) = 13.47, p = 0.001$ ] y para el grupo de Cópula Regulada más flupentixol [ $F(1,44) = 14.95, p < 0.001$ ], como para el grupo de Cópula Regulada más raclopride [ $F(1,44) = 122.62, p < 0.001$ ]. Sin embargo, el grupo de Cópula No-regulada no mostró diferencias significativas entre la Preprueba y la Prueba [ $F(1,44) = 0.23, p = 0.632$ ]. Estos resultados se muestran en la Figura 12. Es evidente que la cópula regulada (CR) induce un claro CPL. La preferencia en las ratas que no regularon la cópula (CN) no cambió, lo cual demuestra que si la hembra no puede regular el número de contactos con el macho, el apareamiento no le induce un estado afectivo-positivo. Es evidente también que ninguno de los antagonistas dopaminérgicos, flupentixol o raclopride, bloquean el CPL inducido por la cópula regulada.

Los resultados de las pruebas estadísticas con relación a la diferencia entre cajas indican que hay diferencias significativas para la sesión [ $F(1,44) = 89.34, p < 0.001$ ] y grupo por sesión [ $F(3,44) = 17.67, p < 0.001$ ], pero no para el grupo [ $F(3,44) = 0.35, p = 0.7$ ]. El tiempo entre cajas disminuyó significativamente en la prueba para los grupos de Cópula Regulada más NaCl [ $F(1,44) = 16.49, p < 0.001$ ], Cópula Regulada más flupentixol [ $F(1,44) = 17.41, p < 0.001$ ], y Cópula Regulada más raclopride [ $F(1,44) = 108.38, p < 0.001$ ] mientras para el grupo de Cópula No-Regulada más NaCl no hubo diferencias.



**Figura 12.** Resultados del experimento 3. Indice de preferencia (arriba) y diferencia entre cajas en segundos (abajo), antes y después del condicionamiento en los diferentes grupos de animales. CN = Cópula No Regulada; NaCl + CR = solución salina y cópula regulada; FLU+CR = flupentixol y cópula regulada y RAC+CR = raclopride y Cópula Regulada.

\* Diferencias significativas preprueba-prueba  $p < 0.001$

## Capítulo 5

### DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Los resultados confirman que los aspectos motivacionales de la conducta sexual de la rata hembra pueden ser evaluados utilizando el paradigma de condicionamiento de preferencia de lugar. Una vez más se comprueba la hipótesis de que la Cópula Regulada induce un estado afectivo-positivo y que este estado puede ser condicionado a las características del medio ambiente en que se lleva a cabo la cópula. Los resultados demuestran que las ratas hembras ovariectomizadas y tratadas con estradiol y progesterona presentan una clara preferencia de lugar asociada al estado afectivo positivo inducido por la cópula regulada. Estos datos son comparables a los obtenidos por Paredes y Alonso (1997), Paredes y Vázquez (1999) y Martínez y Paredes (2001).

Estudios realizados en ratas macho sugieren que la DA juega un papel clave en el control de la conducta sexual que facilita la expresión de la misma. Sin embargo los resultados no han sido muy claros, en hembras. El uso de antagonistas dopaminérgicos representa en algunos casos problemas, ya que éstos fármacos administrados en altas dosis interfieren con la capacidad motora del animal. Aún cuando se ha demostrado que un decremento en la conducta locomotora no necesariamente indica una reducción en la conducta sexual, es evidente que representa un obstáculo para su evaluación (Agmo y Fernández, 1989; Agmo et al., 1993). En nuestros experimentos las dosis de 0.25 mg/Kg de *cis*(Z)flupentixol y 0.125 mg/Kg de raclopride no tienen ningún efecto motor que impida el funcionamiento adecuado del animal durante la cópula, por lo que podemos descartar que los resultados obtenidos se deban a problemas motores.

Se ha propuesto que las anfetaminas inducen un estado afectivo-positivo que puede ser condicionado utilizando el paradigma de CPL. También se ha comprobado que la anfetamina tienen un efecto estimulante y mediador en la producción y liberación de DA (Agmo y Fernández, 1989). Los resultados de los experimentos de CPL utilizando anfetamina, claramente demuestran que ratas hembra OVX, tratadas con estradiol y progesterona e inyectadas con 1 mg/Kg de anfetamina muestran un claro

CPL asociado a este fármaco. Los antagonistas dopaminérgicos flupentixol y raclopride (en dosis de 0.25 mg/Kg y 0.125 mg/Kg respectivamente), bloquearon el CPL inducido por anfetamina. Estos resultados concuerdan con los datos obtenidos en experimentos en los que se evalúa los efectos estimulantes de la anfetamina y cómo éstos se bloquean por antagonistas dopaminérgicos (Michanek y Meyerson, 1977).

Los agonistas de los receptores de DA tienen influencia tanto inhibitoria como estimuladora sobre la respuesta de lordosis en ratas hembra ovariectomizadas tratadas hormonalmente. Agonistas de DA específicos a los receptores D2, como el LY163502, administrado subcutáneamente en dosis moderadas incrementa la conducta de lordosis, mientras que dosis bajas (250 pg/Kg) o muy altas (0.25 mg/Kg), la suprime. Los efectos del LY163502 en la conducta de lordosis se bloquean utilizando antagonistas de DA como el haloperidol y el *cis*-flupentixol (Foreman y Hall, 1987). Por otro lado, Mermelstein y Becker (1995) han reportado altos niveles de dopamina en el estriado y en el accumbens en ratas hembra que regulan los contactos con el macho. Estudios realizados en hámsters reportan que hembras receptoras muestran un incremento en los niveles de dopamina extracelular durante la conducta receptiva (Meisel et al., 1993), inclusive ha sido posible bloquear el CPL inducido por el apareamiento en hembras hamster utilizando antagonistas dopaminérgicos como el raclopride, lo que sugiere que la dopamina está involucrada en los aspectos apetitivos de la conducta sexual de la hembra hamster (Meisel y Joppa, 1996).

La conducta sexual de la rata hembra se activa principalmente por las hormonas esteroides, estradiol y progesterona secretadas por los ovarios y éstas a su vez activan diferentes sistemas de neurotransmisores. Aún no se conoce la secuencia de eventos neuronales de cómo estas hormonas aunadas a diferentes neurotransmisores o neuropéptidos desencadenan respuestas tan complejas de comportamiento. El hecho de que el sistema dopaminérgico esté relacionada con mecanismos emocionales, motivacionales o de reforzamiento hace suponer que podría intervenir también en los efectos afectivo-positivos inducidos por la cópula. En los experimentos aquí descritos ratas OVX y tratadas hormonalmente que regularon la cópula mostraron un cambio de preferencia lo cual implica que el estado afectivo inducido por la cópula fue positivo. Estos resultados concuerdan con estudios anteriores en los que la conducta sexual

induce un condicionamiento de preferencia de lugar (Meisel y Joppa, 1994; Meisel et al., 1996; Agmo y Berenfeld, 1990; Paredes y Alonso, 1997; Martínez y Paredes, 2001).

Los estudios que relacionan al sistema dopaminérgico y sus diversos tipos de receptores con aspectos específicos de la conducta sexual en ratas macho han propuesto que los receptores D1 son importantes en la expresión de la conducta precopulatoria o conducta de iniciación, mientras que la estimulación de los receptores D2 es importante en la expresión de la conducta de eyaculación (Melis y Argiolas, 1995; Woolley et al., 2001). Los estudios realizados con ratas hembras sugieren que la conducta sexual de estos animales se incrementa estimulando principalmente a los receptores D2 (Foreman y Hall, 1987; Melis y Argiolas, 1995; Woolley et al., 2001).

El hecho de que los receptores D2 estén involucrados en diferentes aspectos de la conducta sexual y no intervengan en los aspectos afectivos inducidos por la cópula, sugiere la posible intervención de otros sistemas de neurotransmisores.

Aún cuando la DA parece intervenir en algunos aspectos de la conducta sexual precopulatoria o de iniciación, puede no tener ningún efecto específico en los aspectos afectivos inducidos por la cópula. Es posible que la DA no sea el único neurotransmisor responsable de dichos efectos. Otros neurotransmisores o neuromoduladores como la noradrenalina y la oxitocina también facilitan la lordosis en ratas hembra (Flanagan y McEwen, 1995). De cualquier manera, la inactivación de los receptores D2 en este estudio no bloqueó el condicionamiento de preferencia de lugar a la cópula regulada. Esto contradice los resultados obtenidos por Mermelstein y Becker (1995) en los experimentos de microdiálisis que reportan un incremento en los niveles de DA (estriado y accumbens), cuando la hembra regula la cópula. Una posible explicación del por qué ninguno de los antagonistas utilizados en estos experimentos bloqueó los efectos afectivo positivos inducidos por la cópula regulada podría ser que la DA estuviera actuando de manera indirecta a través de algún otro neurotransmisor como los péptidos opioides (Agmo y Paredes, 1988). Se ha demostrado la existencia de receptores a opioides en las neuronas dopaminérgicas del sistema mesolímbico. Utilizando el paradigma de CPL en hembras se ha demostrado que el efecto afectivo-positivo inducido por la cópula puede bloquearse utilizando antagonistas de los opioides (Paredes y Martínez y 2001). De acuerdo a esto, la activación de opioides podría estar

mediada por dopamina ya que ambos compuestos participan en el sistema endógeno de reforzamiento. (Wise 1989, Paredes et al., 1998; Trujillo et al., 1991).

En conclusión, estos experimentos sugieren que la DA no está participando en los efectos afectivo-positivos inducidos por la cópula regulada en la rata hembra; sin embargo, es evidente que la neuroquímica del reforzamiento es mucho más compleja y no es posible descartar la posibilidad de que otros sistemas de neurotransmisores estén involucrados.

## BIBLIOGRAFIA

Agmo, A. Sexual motivation - an inquiry into events determining the occurrence of sexual behavior. *Behavior Brain Research*. 1999, Vol. 105, 129-150.

Agmo, A. y Picker, Z. Catecholamines and the Initiation of Sexual Behavior in Male Rats without sexual experience. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1990, Vol.35,327-334.

Agmo, A. y Berenfeld, R. Reinforcing properties of ejaculation in the male rat: role of opioids and dopamine. *Behavioral Neuroscience* 1990, Vol.104 No.1, 177-182.

Agmo, A. y De Avila, N. Interactions between enkephalin and dopamine in the control of locomotor activity in the rat: A new hypothesis. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1985, Vol.22, 599-603.

Agmo, A. y Fernández, H. Dopamine and sexual behavior in the male rat: a reevaluation. *J Neural Transm* 1989 Vol. 77: 21-37.

Agmo, A. y Paredes, R. Opioids and sexual behavior in the male rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1988, Vol.30, 1021-1034.

Agmo, A., Paredes, R. y Fernández, H. Differential effects of GABA transaminase inhibitors on sexual behavior, locomotor activity, and motor execution in the male rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1987. Vol. 28, 47-52.

Agmo, A., Federman, I., Navarro, V., Padua, M., Velazquez, G. Reward and reinforcement produced by drinking water: role of opioids and dopamine receptor subtypes. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1993, Vol. 46, 183-194.

Albert, D. J., Jonik, R. H., Gorzalka, B. B., Newlove, T., Webb, B. y Walsh, M. L. Serum estradiol concentration required to maintain body weight, attractiveness, proceptivity and receptivity in the ovariectomized female rat. *Physiology and Behavior*, 1991, Vol. 49, 225-231.

Beach, F. A. Importance of progesterone to induction of sexual receptivity in spayed female rats. *Protocol of Society of Experimental Biology and Medicine*. 1942, Vol.51, 369-367.

Beach, F. A. Sexual attractiveness, proceptivity, and receptivity in female mammals. *Hormones and Behavior*. 1976, Vol. 7, 105-138.

Becker J. B. y Rudick, Ch. N. Rapid effects of estrogen or progesterone on the amphetamine - induced increase in striatal dopamine are enhanced by estrogen priming: A microdialysis study. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1999 Vol. 64, No. 1, 53-57.

Bermant G. Response latencies of female rats during sexual intercourse. *Science* 1961; Vol. 133, 1771-3.

Bermant, G. y Westbrook, W. H. Peripheral factors in the regulation of sexual contact by female rats. *Journal of Comparative Psychology*. 1966, Vol. 61, 244-250.

Bolles, R. C., Rapp, H. M., y White, G. C. Failure of sexual activity to reinforce female rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*. 1968, Vol. 65, No. 2, 311-313.

Brandling-Bennett, E. M., Blasberg, M.E. y Clark, A. S. Pace mating behavior in female rats in response to different hormone priming regimens. *Hormones and Behavior*. 1999, Vol. 35, 144-154.

Broekman, M., De Bruin M., Smeenk, J., Slob, A. K. y Van der Schoot, P. Partner preference behavior of estrous female rats affected by castration of tethered male incentives. *Hormones and Behavior*. 1988, Vol. 22, 324-337.

Caldwell, J. D., Greer, E. R., Jirikowski, G. F. y Pedersen C. A. Medial Preoptic area oxytocin and female sexual receptivity. *Behavioral Neuroscience*. 1989, Vol. 103, 655-662.

Campbell, C. S. y Baum, F. R. Long-term maintenance of receptivity by subcutaneous implants of estradiol. *Physiology and Behavior*. 1979 Vol. 22, 1073-1078.

Clancy, A. N., Zumpe, D. y Michael, R. P. Estrogen in the medial preoptic area of male rats facilitates copulatory behavior. *Hormones and Behavior*. 2000, Vol. 38, 86-93.

Clark, A. S. y Roy, E. J. Effective intervals for the administration of estradiol pulses and the induction of sexual behavior in female rats. *Physiology and Behavior*. 1987, Vol. 39, 665-667.

Coopersmith, C., Candurra, C. y Erskine, M. S. Effects of paced mating and intromissive stimulation of feminine sexual behavior and estrus termination in the cycling rat. *Journal of Comparative Psychology*. 1996, Vol. 110, No. 2, 176-186.



Delville, Y. Progesterone-facilitated sexual receptivity: A review of arguments supporting a nongenomic mechanism. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 1991, Vol.15, 407-414.

Dewsbury, D. A. Description of sexual behavior in research on hormonal-behavior interactions. *Endocrine Control of Sexual behavior*, editado por C. Beyer. Raven Press, New York 1979, 3-32.

Dohanich, G. Cholinergic regulation of female sexual behavior. *Capítulo 8 de Neurobiological Effects Sex Steroid hormones*. Editado por Paul E. Micevych y Ronald P. Hammer, Jr., 1995.

Dominguez, J., Riolo, J. V., Xu, Z. y Hull, E. M. Regulation by the medial amygdala of copulation and medial preoptic dopamine release. *The journal of Neuroscience*. 2001, Vol. 21, No. 1, 349-355.

Edwards, D. A. y Pfeifle, J. K. Hypothalamic and midbrain control of sexual receptivity in the female rat. *Physiology and Behavior*. 1981, Vol. 26, 1061-1067.

Eliasson, M., Meyerson, B.J. Sexual preference in female rats during estrous cycle, pregnancy and lactation. *Physiology and Behavior*. 1975, Vol.14, 705-710.

Erskine, M. S. Solicitation behavior in the estrous female rat: a review. *Hormones and behavior* 1989, Vol. 23, 473-502.

Erskine, M. S. Y Hanrahan, S. H. Effects of Paced mating on c-fos gene expression in the female rat brain. *Journal of Neuroendocrinology*. 1997, Vol. 9, 903-912.

Fadem, B. H., Barfield, R. J. y Whalen, R. E. 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*. 1979, Vol. 13, 40-48.

Feder, H. H., Landau, I. T., y Walker, W. A. Anatomical and biochemical substrates of the action of estrogens and antiestrogens on brain tissues that regulate female sex behavior of rodents. *Endocrine Control of Sexual behavior*, editado por C. Beyer. Raven Press, New York 1979, 317-340.

Fiorino, D. F. y Phillips, A.G. Facilitation of sexual behavior and enhanced dopamine efflux in the nucleus accumbens of male rats after D-amphetamine-induced behavioral sensitization. *The Journal of Neuroscience*. 1999, Vol. 19, No. 1, 456-463.

Flanagan y McEwen B. S. Cholinergic regulation of female sexual behavior. *Neurobiological Effects Sex Steroid hormones*, Capítulo 5 1995.

Foreman, M. M. y Hall, J. L. Effects of D<sub>2</sub> - dopaminergic receptor stimulation on the lordotic response of female rats. *Psychopharmacology*. 1987, Vol. 91, 96-100.

Forsberg, G. , Wiesenfeld-Hallin, Z., Eneroth, P., y Sodersten, P. Sexual behavior induces naloxone-reversible hypoalgesia in male rats. *Neuroscience Letters* 1987, 31 151-154.

Forsberger, G., Bednar, I., Eneroth, P. y Södersten, P.  $\beta$ -Endorphin acts on reproductive tract of female rats to suppress sexual receptivity. *Neuroscience Letters*. 1990, Vol. 115, 92-96.

Freeman, M. E. The neuroendocrine control of the ovarian cycle of the rat. *The physiology of reproduction, Second edition*, editado por E. Knobil y J. D. Neill, Raven Press, Ltd., New York 1994.

Gans, S. E. y Mcclintock, M. K. Individual differences among female rats in the timing of the preovulatory LH surge are predicted by lordosis reflex intensity. *Hormons and Behavior*. 1993, Vol. 27, 403-417.

Gilman, D. P. y Westbrook, W. H. Mating preference and sexual reinforcement in female rats. *Physiology and Behavior*. 1978, Vol. 20, 11-14.

Grossowicz, N. Y Mandelbaum, F. Response latencies of female rats during sexual intercourse. *Science*. 1961, 1771-1773.

Haensel, S. M. Serotonergic modulation of sexual behavior in male rats and men, publicado por *Köchel Society*, 1998.

Hardy, D. F. y DeBold, J. F. Effects of coital stimulation upon behavior of the female rat. *Journal of Comparative Physiological Physiology*, 78, 400-408, 1972.

Hardy, D. F. y DeBold, J. F. The relationship between levels of exogenous hormones and the display of lordosis by the female rat. *Hormons and Behavior*, 2, 287-297, 1971.

Hasenöhrl, R. U., Oitzl, M. S. y Huston, J. P. Conditioned place preference in the corral: a procedure for measuring reinforcing properties of drugs. *Journal of Neuroscience Methods* 1989. Vol. 30, 141-146.

Hill, T. E. y Thomas, T. R. The role of reinforcement in the sexual behavior of the female rat. *Physiology and Behavior*. 1973, Vol. 11, 911-913

Hiroi, N., y White, N. M. The reserpine-sensitive dopamine pool mediates amphetamine conditioned reward in the place preference paradigm. *Brain Research*. 1990, Vol. 510,33-42.

Jenkins, W. J. y Becker, J. B. Role of the striatum and nucleus accumbens in paced copulatory behavior in the female rat. *Behavioural Brain Research*. 2001, Vol. 121, 119-128.

Kato, A. y Sakuma, Y. Neuronal activity in female rat preoptic area associated with sexually motivated behavior. *Brain Research*. 2000, Vol. 862, 90-102.

Kaufman, L. S., MCEwen, B. S. Y Pfaff, D. W. Cholinergic Mechanisms of Lordotic behavior in Rats. *Physiology and Behavior*. *Pergamon Press plc*. 1988 Vol. 43, pp.507-514.

Komisaruk, B. R. *Neural and hormonal interactions in the reproductive behavior of female rats*. *Reproductive behavior*. Editado por William Montagna y William A Sadler. 97-128, 1974.

Komisaruk, B. R. y Diakow, C. Lordosis reflex intensity in rats in relation to the estrous cycle, ovariectomy, estrogen administration and mating behavior. *Endocrinology*. 1973, Vol.93, No. 3 548-557.

Landau, T. y Madden, J. E. Hormonal regulation of female proceptivity and its influence on male sexual preference in rats. *Physiology and Behavior*. 1982, Vol.31, 679-685.

López, H. H. y Ettenberg, A. Dopamine antagonism attenuates the unconditioned incentive value of estrous female cues. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 2001, Vol. 68, 411-416.

Lorrain, D.S., Matuszewich, L y Hull, E. M. 8-OH-DPAT influences extracellular levels of serotonin and dopamine in the medial preoptic area of male rats. *Brain Research*. 1998, Vol. 790,217-223.

Lorrain, D.S., Riolo, J. V., Matuszewich, L y Hull, E. M. Lateral hypothalamic serotonin inhibits nucleus accumbens dopamine: Implications for sexual satiety. *The Journal of Neuroscience*. 1999, Vol. 19 No. 17, 7648-7652.

Mani, S. K., Allen, J. M. C., Clark, J. H., Blaustein, J. D. y O'Malley, B. W. Convergent Pathways for steroid hormone- and neurotransmitter-induced rat sexual behavior. *Science*. 1994, Vol. 265, 1246-1249.

Manzanedo, C., Aguilar, M. A., Rodríguez-Arias, M., Miñarro, J. Effects of dopamine antagonists with different receptor blockade profiles on morphine-induced place preference in male mice. *Behavioural Brain Research*. 2001, Vol. 121, 189-197.

Martinez, I. y Paredes, R. G. Only self-paced mating is rewarding in rats of both sexes. *Hormones and Behavior*. 2001, Vol. 40, 510-517.

Matthews, T. J., Grigore, M., Tang, L., Doat, M., Kow, L. y Pfaff, D. W. Sexual reinforcement in the female rat. *Journal of The Experimental Analysis of Behavior*. 1997, Vol. 68, 399-410.

Mehrara, B.J. y Baum, M.J. Naloxone disrupts the expression but not the acquisition by male rats of a conditioned place preference response for an oestrous female. *Psychopharmacology* 1990, Vol. 101, 118-125.

Meisel, R. L. y Pfaff, D. W. Progesterone effects on sexual behavior and neuronal ultrastructure in female rats. *Brain Research*. 1988, Vol. 463, 153-157.

Meisel, R. L., Dohanich, G. P., McEwen, B. S. y Pfaff, D. W. Antagonism of sexual behavior in female rats by ventromedial hypothalamic implants of antiestrogen. *Neuroendocrinology*. 1987, Vol. 45, 201-207.

Meisel, R.L. Camp, D.M. y Robinson, T.E. A microdialysis study of ventral striatal dopamine during sexual behavior in female Syrian hamsters. *Behavioural Brain Research*. 1993, Vol. 55, 151-157.

Meisel, R. L., Joppa, M. A. y Rowe, R. K. Dopamine receptor antagonists attenuate conditioned place preference following sexual behavior in female Syrian hamsters. *European Journal of Pharmacology*. 1996, Vol. 309, 21-24.

Meisel, R.L. y Joppa, M.A. Conditioned place preference in female hamsters following aggressive or sexual encounters. *Physiology and Behavior*. 1994, Vol. 56, 1115-1118.

Melis, M. R. y Argiolas, A. Dopamine and sexual behavior. *Neuroscience and Behavioral Reviews*. 1995, Vol. 19, No. 1, 19-38.

Menard, C. S. y Dohanich, G. P. Estrogen dependence of cholinergic systems that regulate lordosis in cycling female rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1994, Vol.48, No. 2,417-421.

Meredith, J. M., Moffart, Ch. A., Auger, A. P., Snyder, G. L., Greengard, P., y Blaustein, J. D. Mating-related stimulation induces phosphorylation of dopamine and cyclic AMP-regulated phosphoprotein-32 in progesterin receptor-containing areas in the female rat brain. *The Journal of Neuroscience*. 1998, Vol. 18, No. 23, 10189-10195.

Mermelstein, P.G. y Becker, J. B. Increased extracellular dopamine in the nucleus accumbens and striatum of the female rat during paced copulatory behavior. *Behavioral Neuroscience* 1995, Vol. 109, No.2 354-365.

Michanek, A y Meyerson, B. J. A comparative study of different amphetamines on copulatory behavior and stereotype activity in the female rat. *Psychopharmacology*.1977, Vol. 53, 175-183.

Miller, R.L. y Baum, M.J. Naloxone inhibits mating and conditioned place preference for an estrous female in male rats soon after castration. *Pharmacology Biochemistry and behavior*, 1987, Vol. 26, 781-789.

Morali, G. y Beyer, C. Neuroendocrine control of mammalian estous behavior. *Endocrine Control of Sexual Behavior*, edited by C.Beyer, Reven Press, New York 1979.

Packard, M. G., Cornell, A. H. y Alexander, G. M. Rewarding affective properties of intra-nucleus accumbens injections of testosterone. *Behavioral Neuroscience*. 1997, Vol. 111, No. 1, 219-224.

Packard,M.G., Schroeder,J.P. y Alexander, G.M. Expression of testosterone conditioned place preference is blocked by peripheral or intra-accumbens injection of  $\alpha$ -flupentixol. *Hormones and Behavior* 1998, Vol. 34,39-47.

Paredes, R. y Agmo, A. Stereoscopic actions of blaclofen on sociosexual behavior, locomotor activity and motor execution. *Psychopharmacology* 1989 97: 358-364

Paredes, R. G. y Alonso, A. Sexual behavior regulated (paced) by the female induces conditioned place preference. *Behavioral Neuroscience* 1997, Vol.111,No.1, 123-128.

Paredes, R. G. y Martínez, I. Naloxona blocks place preference conditioning after paced mating in female rats. *Behavioral Neuroscience* 2001, Vol.115, No.6, 1363-1367.

Paredes, R. G., Karam, P., Highland, L. y Agmo, A. GABAergic drugs and socio-sexual behavior. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1998, Vol. 57, No. 4, 1-8.

Paredes, R. G. y Vázquez, B. What do female rats like about sex? Paced mating. *Behavioural Brain Research*. 1999, Vol. 105, 117-127.

Peirce, J. T. y Nuttall, R. L. Self-paced sexual behavior in the female rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*. 1961, Vol. 54, No. 3, 310-313.

Pfaus, J. G., Smith, W. J. y Coopersmith, C. B. Appetitive and consummatory sexual behaviors of female rats bilevel chambers. I. A correlation and factor analysis and the effects of ovarian hormones. *Hormones and Behavior* 1999, Vol. 35, 224-240.

Pfaus, J. G., y Phillips, A. G. Role of dopamine in anticipatory and consummatory aspects of sexual behavior in the male rat. *Behavioral Neuroscience* 1991, Vol. 105, 727-743.

Pfaus, J. G., Smith, W. J. y Byrne, S. N. Appetitive and consummatory sexual behaviors of female rats bilevel chambers. II Patterns of estrus termination following vaginocervical stimulation. *Hormones and Behavior*. 2000, Vol. 37, 96-107

Rivas, F. J. y Mir, D. Effects of nucleus accumbens lesion on female rat sexual receptivity and proceptivity in partner preference paradigm. *Behavioural Brain Research*. 1990, Vol. 41, 239-249.

Schumacher, M., Coirini, H., Robert, F., Guennoun, R. Y El-Etr, M. Genomic and membrane action of progesterone: implications for reproductive physiology and behavior. *Behavioural Brain Research*. 1999, Vol. 105, 37-52.

Shoaib, M., Spanagel, R., Stohr, T., Shippenberg, S. Strain differences in the rewarding and dopamine-releasing effects of morphine in rats. *Psychopharmacology*. 1995, Vol. 117, 240-247.

Stern, J. J. Responses of male rats to sex odors. *Physiology and Behavior* 1970, Vol. 5, 519-524.

Trujillo, K.A., Belluzzi, J.D., y Stein, L. Naloxone blockade of amphetamine place preference conditioning *Psychopharmacology* 1991, Vol. 104, 265-274

Whalen, R. E. Estrogen-progesterone induction of mating in female rats. *Hormones and Behavior*. 1974, Vol. 5, 157-162.

White, N. M. Reward or reinforcement: What's the difference?. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 1989, Vol. 13, 181-186.

Woolley, S. C., Sakata, J.T., Gupta, A. y Crews, D. Evolutionary changes in dopaminergic modulation of courtship behavior in *Cnemidophorus* whiptail lizards. *Hormones and Behavior* 2001, Vol. 40, 483-489.

Wise, R. A. Neuroleptics and operant behavior: The anhedonia hypothesis. *Behavioral and Brain Science*. 1982, Vol.5, 39-87.

Wise, R. A. Opiate rewards sites and substrates. *Neuroscience and Behavioral Reviews*. 1989, Vol. 13, 129-133.

Woolley, S. C. Sakata, J. T, Gupta, A. y Crews, D. Evolutionary changes in dopaminergic modulation of courtship behavior in *Cnemidophorus* whiptail lizards. *Hormones and Behavior* 2001, Vol 40, 483-489.

Xiao, L. y Becker, J. B. Hormonal activation of the striatum and the nucleus accumbens modulates pace mating behavior in the female rat. *Hormones and Behavior* 1997, Vol. 32, 114-124.

Yamanouchi, K y Arai, Y. Possible inhibitory role of the dorsal inputs to the preoptic area and hypothalamus in regulating female sexual behavior in the female rat. *Brain Research* 1977, Vol.127, 296-301.

Yang, L. y Clemens, L. G. Influence of male-related stimuli on female postejaculatory refractory period in rats. *Physiology and Behavior*. 1998, Vol. 63 No. 4, 675-682.

Yang, L. y Clemens, L. MPOA lesions affects female pacing of copulation in rats. *Behavioral Neuroscience*. 2000, Vol.114, No. 6, 1191-1202.

Zipse, L. R., Brandling-Bennett, E. M. Y Clark, A. S. Paced mating behavior in the naturally cycling and the hormone-treated female rats. *Physiology and Behavior*. 2000, Vol. 70, 205-209.