



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

ACTIVIDAD CEREBRAL EVALUADA POR RESONANCIA MAGNÉTICA POR
INCREMENTOS DE MANGANESO, EN EL CIRCUITO DE RECOMPENSA Y CIRCUITO DE
CONDUCTA SOCIAL, INDUCIDOS POR LA CONDUCTA SEXUAL Y EL EJERCICIO EN
RATAS HEMBRA.

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGÍA)

PRESENTA:
MARIA FELISA BARRERA TENORIO

TUTOR
DR. RAÚL GERARDO PAREDES GUERRERO
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR

DR. LUIS CONCHA LOYOLA
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA
DRA. MARGARITA MARTÍNEZ GÓMEZ
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM.

JURIQUILLA, QUERÉTARO. MAYO DE 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

A mis papás Pedro Pablo y Aida María.

A mi hermano Juan Pablo.

A Príncipe, Mina, Artemis, Luna y Rita.

Al resto de mi familia, en especial a María Isabel.

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México por abrirme las puertas y acogerme dentro de su alumnado. Al Instituto de Neurobiología por todas las experiencias, las clases, las prácticas, el nuevo conocimiento, los maestros de primer nivel y todos sus maravillosos recursos. A México que se convirtió en mi segundo hogar. A la maestría, así como a su directora la Dra. Maricela Luna y a todos mis compañeros. Al consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca otorgada CVU 1012734.

Agradezco al laboratorio D11, a sus jefes, a mis compañeros y los colaboradores en especial a la Dra. Wendy Portillo, Dra. Lorena Gaytán, y la Dra. Marie Bedos por su apoyo y su paciencia. A mi compañero y amigo Alejandro Aguilar que siempre me guió con paciencia y me rescató en varias ocasiones para poder construir el presente trabajo. A mi amigo Edgar Hernández y su familia por su colaboración y acompañamiento tanto académico como personal. Mis agradecimientos más sinceros y especiales al Dr. Raúl Gerardo Paredes por ser un excelente mentor y guía, por su interés, por su paciencia, por su colaboración incondicional y por su confianza en mí. A sus donativos.

Al Laboratorio Universitario de Bioterio, a todo su personal y a sus jefes: MVZ. José Martín García Servín, Dra. Alejandra Castilla León y la Dra. María A. Carbajo Mata. El Laboratorio Nacional enfocado en Imagenología por Resonancia magnética (LANIREM) a cargo del Dr. Luis Concha Loyola con el apoyo del Dr. Juan José Ortiz Retana. A la Unidad de Análisis Conductual en la que funge como responsable la Dra. Deisy Gasca, a quien también agradezco.

A mi comité tutor formado por el Dr. Luis Concha Loyola, gracias por su apoyo, su paciencia, su dirección y sus enseñanzas; Y la Dra. Margarita Martínez por su apoyo y colaboración. A las dos gracias por hacer parte de éste proyecto, acompañarme durante dos años y ayudarme a materializarlo. A mi jurado, el Dr. Raúl Paredes, el Dr. Luis Concha, la Dra. Gina Quirarte, el Dr. Erick Humberto Pasaye y el Dr. Armando Ferreira por sus

sugerencias y correcciones que enriquecieron de manera impecable esta tesis. Gracias por tomarse el tiempo de ser mi jurado y ayudarme a crecer como profesional. Al Dr. Sarael Alcauter Solórzano por sus conocimientos y enseñanzas. A todo el apoyo administrativo en especial a la Dra. Nuri Aranda López y Ma. Carmen Mendoza López. Al departamento jurídico de la UNAM campus Juriquilla a cargo del licenciado Rodrigo García.

Al grupo de divulgación científica Neurokuni por su amistad, compañerismo y sus aportes para ayudarme a ser una divulgadora competente. A mi amigo Diego Ángeles por haberme compartido sus conocimientos y rescatarme en más de una ocasión. A mis amigos Eliseo Domínguez, Iván Montiel, Alejandra Parra, Ana Ocampo, Karla Tejeda, Deyanira Munguía, David Cortés, Alejandra Díaz, Alejandra López, Paola Rodríguez, la Dra. Sandra Londoño, la Dra. Elisa Ventura y todos los que me brindaron su amistad y su apoyo para superar los retos de esta maestría. Al Dr. Mario Rodríguez del Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada (CFATA).

A mis almas mater, la Universidad Icesi y la Fundación Valle del Lili en Cali, Colombia, por brindarme las herramientas para llegar a este posgrado. A mis amigos de pregrado. A mi país, Colombia.

A mi familia, mis papás: Pedro Barrera y Aida Tenorio por su amor y su apoyo constantes e incondicionales. Por siempre mantener su confianza en mí, por sostenerme a pesar de todo. A mi hermano Juan Pablo y a mi cuñada Belly, por su amor y su apoyo desde la distancia. A mi abuelita Leonor. A la familia Barrera Niño, a la familia Tenorio Rojas, familia Vargas Tenorio y familia Ramírez Vargas. Especialmente, muchas gracias a María Isabel, mi prima, mi amiga, mi madrina, donde sea que te encuentres, gracias por ser un ejemplo profesional y personal para mí. Los amo.

Resumen

La conducta sexual y el ejercicio realizado en la rueda son conductas motivadas que permiten a los roedores adaptarse y sobrevivir en su medio ambiente. Diversos estudios han demostrado que la práctica frecuente de estas conductas se traduce en cambios biológicos y estructurales en algunas regiones y circuitos del sistema nervioso central relacionados con estados placenteros. La imagenología por resonancia magnética con contraste del ion manganeso permite obtener información anatómica y funcional del sistema nervioso, enfocándose en regiones cerebrales activadas como consecuencia de la ejecución de conductas. El presente trabajo tuvo como objetivos identificar y comparar, en la rata hembra, las estructuras cerebrales activadas por la conducta sexual en su modalidad de cópula regulada y la rueda de ejercicio al ser realizadas cada una por separado y juntas en una misma sesión. Adicionalmente, se determinó si la activación de las estructuras identificadas se modifica con la experiencia a través del tiempo. Se incluyeron 4 diferentes grupos de hembras ovariectomizadas suplementadas con estradiol y progesterona. En el primer grupo se realizó una prueba de movilidad en campo abierto como control. En el segundo evaluamos la conducta sexual de la rata hembra en una sesión semanal de cópula regulada. En el tercero la distancia recorrida en la rueda de ejercicios. Las hembras del cuarto grupo podían realizar ambas conductas (cópula regulada y ejercicio) durante la misma sesión. Las sesiones de campo abierto y rueda de ejercicio fueron llevadas a cabo en 5 sesiones semanales de una hora de duración cada una, por un periodo de 10 semanas. Las sesiones de cópula se realizaron una vez por semana por 10 semanas. Se tomaron imágenes estructurales por resonancia magnética en diferentes puntos de tiempo: semana 0 sin realizar conducta ni contraste de manganeso con el fin de obtener imágenes control, semana 1 con la primera exposición conductual sin experiencia previa, semana 5 con experiencia y semana 10 como punto final en el tiempo. Se administró una dosis de 16 mg / kg de manganeso en las semanas 1, 5 y 10, 24 horas antes de las pruebas conductuales. Los resultados demostraron que cuando la cópula regulada se alterna con el ejercicio, no hay diferencias en los parámetros de conducta sexual o en la distancia recorrida, en comparación con los grupos que desplegaron una sola de estas conductas. La cópula regulada fue la conducta que activó significativamente la mayoría de las estructuras estudiadas: el núcleo accumbens, el núcleo estriado, el hipocampo, el bulbo olfatorio, el núcleo de la cama de la estría terminal, el área preóptica medial, el hipotálamo ventromedial y la amígdala, excepto el área tegmental ventral. El análisis de la activación de los circuitos demostró que la cópula regulada activa, desde la primera sesión, tanto el circuito socio-sexual como el circuito de recompensa. Esta activación se incrementa a lo largo de las 10 semanas y es mayor en intensidad que la de los otros grupos. Tanto el grupo de ejercicio como el de cópula y ejercicio activaron ambos circuitos en la primera semana, pero después la activación se redujo o se mantuvo constante. La cópula regulada induce mayor activación en ambos circuitos que la cópula regulada alternada con el ejercicio. El presente trabajo ha permitido demostrar que la imagen de resonancia magnética mejorada con contraste de manganeso (MEMRI por sus siglas en inglés) fue útil para evaluar cambios plásticos en el mismo sujeto, como resultado de la experiencia.

Abstract

Motivated behaviors such as pacing and wheel running allow rodents to adapt and survive in the environment. Several studies have shown that frequent display of these behaviors produce biological and structural changes in brain regions and circuits related to reward states. Manganese-enhanced magnetic resonance imaging allows obtaining anatomical and functional information of the brain focusing on behavior-activated brain regions. We aimed to identify and compare brain regions activated by pacing and wheel running performed separately and simultaneously in the same session. We also determined whether the activation of the identified structures is modified by experience over time. To achieve that, four different groups of ovariectomized females supplemented with estradiol and progesterone were included. An open field mobility test was performed in the control group. In the second group, we evaluated the sexual behavior of the female rat in a weekly pacing session. In the third group we evaluated the distance traveled in the running wheel. The fourth group could perform both behavioral tests (pacing and wheel running) during the same session. The open field and exercise wheel running tests were performed in 5 weekly sessions of one hour each for 10 consecutive weeks. Pacing sessions were performed once a week for 10 weeks. Structural magnetic resonance imaging was taken at different time points: a zero week without performing any behavior or using manganese chloride to obtain control images; week 1, after the first behavioral test, and after the behavioral tests in weeks 5 and 10. A dose of 16 mg/kg of manganese chloride was administered at weeks 1, 5, and 10, 24 hours before behavioral tests. The results showed that when pacing and wheel running are performed in the same session no differences were observed in the mating parameters nor in the distance travel in comparisons to the groups that performed only 1 of the tests. Pacing was the only behavior that significantly activated most of the brain regions studied: the nucleus accumbens, the striatum, the hippocampus, the olfactory bulb, the bed nucleus of the stria terminalis, the medial preoptic area, the ventromedial nucleus of the hypothalamus, and the amygdala, except the ventral tegmental area. The analysis of the brain circuits demonstrated that pacing behavior activates the reward and social behavior circuit in the first session. This activation increases along the 10 weeks and is higher than the activation of the other groups. The wheel running group and the pacing and wheel running group induce activation in both circuits, but after the first week the activation was reduced or stayed constant. Pacing induced greater activation in both circuits than pacing alternated with running wheel exercise. The present study has shown that manganese-enhanced magnetic resonance imaging (MEMRI) is useful to evaluate plastic brain changes in the same subject as a result of experience.

Índice

Capítulo 1. Antecedentes	9
1.1 Conductas motivadas y circuitos neuronales	9
1.1.1 Conducta sexual: cópula regulada en la rata hembra.....	9
1.1.2 Rueda de ejercicio (RW por sus siglas en inglés)	12
1.1.3 Relación entre cópula regulada y el uso de la rueda de ejercicio	15
1.2 Imágenes de resonancia magnética.....	16
1.2.1 Fundamentos de las imágenes de resonancia magnética	16
1.2.2 Resonancia magnética con contraste de manganeso (MEMRI).....	21
1.2.3 Relación entre la resonancia magnética con contraste de manganeso y conductas motivadas	23
Capítulo 2. Trabajo de Investigación	25
2.1 Justificación.....	25
2.2 Hipótesis	25
2.3 Objetivos	26
2.3.1 Objetivo General:	26
2.3.2 Objetivos Específicos:	26
2.4 Material y Métodos.....	26
2.4.1 Sujetos	26
2.4.2 Grupos	27
2.4.3 Pruebas Conductuales.....	28
2.4.4 Análisis de resultados.....	35
Capítulo 3. Resultados.	38
3.1 Parámetros de conducta sexual	38
3.1.1 Comparación entre sesiones semanales.....	39
3.1.2. Comparación entre grupos por sesión	40
3.2 Rueda de ejercicio, cópula regulada + ejercicio y prueba de campo abierto	41
3.2.1 Comparación entre sesiones semanales de conducta.	41
3.2.2 Comparaciones entre grupos por sesión semanal.	43
3.3 Resonancia magnética.....	44

3.3.1 Análisis por estructuras	46
3.3.2 Circuitos cerebrales	50
Capítulo 4. Discusión	56
Capítulo 5. Conclusiones.....	63
Capítulo 6. Referencias bibliográficas.....	65
Capítulo 7. Anexos	71
Anexo 1. Conducta sexual: Tablas comparaciones estadísticas de conducta sexual. Datos de la primera serie eyaculatoria.....	71
Anexo 2. Tabla de resultados del grupo de ejercicio, cópula regulada + ejercicio y campo abierto.	76
Anexo 3. Tablas resultados estadísticos análisis MEMRI.....	83

Capítulo 1. Antecedentes

1.1 Conductas motivadas y circuitos neuronales

Las conductas motivadas son aquellas orientadas a lograr objetivos que optimicen la supervivencia y adaptación al medio ambiente de un individuo y las especies (Chen & Hong., 2018). Diversos estudios en humanos y modelos animales han demostrado que la práctica de múltiples conductas motivadas puede producir cambios cerebrales a nivel químico, biológico, y estructural, en los que se ven involucrados circuitos neuronales que pueden, en consecuencia, modificar la conducta (Lerner et al., 2016). Estos circuitos son vías interconectadas, formadas por neuronas para comunicar y transmitir información entre las diferentes estructuras del sistema nervioso, por medio de conexiones sinápticas. (Purves et al., 2001). Durante el desarrollo embrionario y a lo largo de la vida de los seres vivos, hay adición de células nuevas en diferentes estructuras del cerebro (neurogénesis) (Corona et al., 2011), a partir de lo cual se forman nuevas conexiones sinápticas y nuevos circuitos, los cuales son producto de la exposición a diferentes actividades, estímulos y conductas. (Garcés & Suarez, 2014). Dentro de estas conductas se encuentran la crianza y maternidad, las conductas agresivas o de ataque, y dos de las conductas motivadas más estudiadas en roedores: la conducta sexual y el uso de la rueda de ejercicio (Chen & Hong, 2018), hacia las cuales se enfoca el presente trabajo.

1.1.1 Conducta sexual: cópula regulada en la rata hembra.

La conducta sexual en la rata hembra se reconoce por dos componentes de comportamiento que se presentan en el periodo hormonal alto o periodo de estro. Las conductas proceptivas (o apetitivas) y las receptivas que permiten la interacción con el macho (Erskine, 1989). El componente proceptivo es aquel en el que la hembra demuestra su disposición y motivación para llevar a cabo la interacción sexual con el macho y consisten en saltos y movimientos de las orejas, acompañados de carreras de huida y vocalizaciones ultrasónicas que son atractivas para el macho. Estas conductas son las que conforman el componente apetitivo de la conducta sexual (Beach, 1976; Erskine, 1989). El componente receptivo tiene que ver más con actos consumatorios propios de la interacción sexual. En la hembra se presenta la lordosis

que consiste en una postura refleja, en la que la dorsi-flexión de la columna y elevación de la cabeza, expone el área genital para permitir la intromisión del pene por el macho (Beach, 1976; Erskine, 1989). El componente consumatorio en el macho, consiste en ejecución de patrones motores que incluyen monta (ejecución de movimientos pélvicos sobre la hembra), intromisión (ejecución de movimientos pélvicos asociados a inserción peneana) y eyaculación (movimientos pélvicos con inserción peneana que terminan con expulsión seminal) (Guevara et al., 2012).

Estudios en condiciones seminaturales demostraron que las hembras tienen un papel muy activo en el despliegue de la conducta sexual controlando o regulando la estimulación sexual que reciben (McClintock & Adler, 1978; McClintock et al. 1982). Esto también se ha demostrado en condiciones de laboratorio, utilizando diferentes metodologías, entre ellas la cópula regulada (Martínez & Paredes, 2001). En la cópula regulada, la hembra puede controlar la tasa de interacciones sexuales con el fin de lograr su máxima estimulación (Erskine & Hanrahan, 1997). Esto parte del hecho de que, tanto para machos como para hembras, el tiempo óptimo entre la estimulación sexual de intromisión es diferente. Mientras los machos prefieren intromisiones rápidas y regulares que los llevan a una rápida eyaculación, las hembras requieren intervalos más largos entre cada intromisión para optimizar la estimulación vagino-cervical (Erskine, 1989). La posibilidad de regular la conducta sexual (pacing o cópula regulada, CR) tanto en machos como en hembras, induce cambios fisiológicos y conductuales importantes. En las hembras, la cópula regulada aumenta la liberación de la hormona luteinizante, incrementa la probabilidad de que la hembra quede preñada y aumenta el número de crías por camada en comparación con hembras que no regulan los contactos copulatorios (Erskine, 1989). Además, cuando las hembras y los machos regulan la cópula, se induce un estado afectivo positivo, placentero, evaluado por el condicionamiento de preferencia de lugar. Este estado placentero está mediado por opioides (Paredes, 2014). También la cópula regulada produce cambios plásticos permanentes, ya que hemos demostrado que la posibilidad de regular los contactos copulatorios, induce neurogénesis en diferentes áreas del cerebro, como el bulbo olfatorio accesorio (BOA) y el hipocampo (Hipp) en ambos sexos (Bedos et al. 2018).

Se ha demostrado la existencia de un circuito neuronal que modula el reflejo de lordosis, que como ya describimos, es un componente que indica receptividad por parte de la

hembra durante la conducta sexual. La vía inicia en la región de la amígdala posteroventral, hacia el núcleo hipotalámico ventromedial en su región dorso medial y finaliza en la sustancia gris periacueductal dorsal (Chen & Hong, 2018). También se han identificado otras estructuras que participan en el control de la conducta sexual femenina y que son fundamentales en el procesamiento de claves quimio sensoriales (feromonas) sexualmente relevantes. Los receptores en el órgano vomeronasal, que identifican a las feromonas, proyectan a los glomérulos del bulbo olfatorio (OB, por sus siglas en inglés) accesorio que a su vez proyectan a la amígdala (AMG, por sus siglas en inglés) medial y posterodorsal. De la AMG medial, la información se proyecta al núcleo del hipotálamo ventromedial (VMH por sus siglas en inglés). Las neuronas de la AMG posterodorsal, proyectan a su vez al núcleo de la cama de la estría terminal (BNST, por sus siglas en inglés) y al área preóptica medial (MPOA, por sus siglas en inglés) (Portillo & Paredes, 2004).

También se ha determinado que en ratas macho sexualmente expertos, hay aumento de actividad neuronal por la exposición al olor emitido por la rata hembra sexualmente receptiva. Esta actividad neuronal se ha identificado en regiones como el OB, que se ha relacionado con el reconocimiento entre individuos de la misma especie y también con activación en regiones como el BNST, la AMG, el MPOA, el núcleo accumbens (NAcc, por sus siglas en inglés) y el área tegmental ventral (VTA, por sus siglas en inglés) como lo muestra la siguiente figura (Portillo & Paredes, 2019).

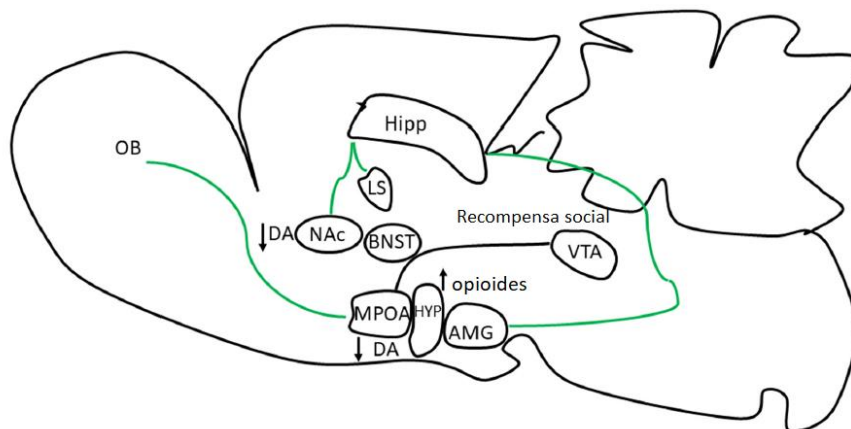


Figura 1. Esquema de cerebro de ratona que muestra las regiones cerebrales que se activan con la motivación sexual (Núcleo accumbens: NAcc; Núcleo de la cama de la estría terminal: BNST; Área preóptica medial: MPOA; Área tegmental ventral: VTA; Hipocampo: Hipp; Amígdala: AMG). Modificado de: Portillo, W., & Paredes, R. G. (2019). Motivational Drive in Non-copulating and Socially Monogamous Mammals. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 13.

Recientemente se han descrito dos circuitos relacionados con el control de conductas sociales, incluyendo la conducta sexual. El primero es el circuito mesolímbico de recompensa, el cual se relaciona con la regulación de conductas apetitivas (O'Connell & Hofmann, 2011) y el estado recompensante producido por la conducta sexual (Ventura-Aquino et al., 2018). Este circuito se compone de regiones cerebrales telencefálicas y proyecciones dopaminérgicas que se originan en el área tegmental ventral. Las estructuras que lo conforman son el núcleo estriado (STR por sus siglas en inglés), núcleo accumbens (NAcc, por sus siglas en inglés), pálido ventral (PV, por sus siglas en inglés), AMG, hipocampo (Hipp, por sus siglas en inglés), VTA, BNST, y el septum lateral (LSN) (O'Connell & Hofmann, 2011).

El segundo circuito (figura 1) es el de conducta social o SBN por sus siglas en inglés (Social Behavior Network) descrito por Newman, se ha descrito que está relacionado en la regulación de conductas sociales, como la conducta sexual, la agresión y la paternidad. Está compuesto por el MPOA, hipotálamo anterior (AHy, por sus siglas en inglés), VMH, sustancia gris periacueductal (PAG, por sus siglas en inglés), BNST, AMG y septum lateral (LSN). Todas las estructuras están conectadas entre sí de manera recíproca. (O'Connell & Hofmann, 2011). Ambos circuitos se integran para formar el circuito de toma de decisiones (Social decision-making: SDM), el cual se encarga de regular las respuestas conductuales. (O'Connell & Hofmann, 2011) y se ha relacionado con la motivación de la conducta sexual. (Ventura-Aquino et al., 2018). Estas estructuras y circuitos son las que evaluaremos en el presente trabajo.

1.1.2 Rueda de ejercicio (RW por sus siglas en inglés)

El uso de la rueda de ejercicio es una de las conductas más estudiadas en roedores. Se sabe que incluso en la naturaleza, si se introduce una rueda de ejercicios, el animal va a desarrollar el hábito de correr en su interior (Meijer & Robbers, 2014), sin embargo, se desconocen las causas que originan este comportamiento (Novak et al., 2012). Se ha observado que es una conducta recompensante y adictiva (Greenwood et al., 2011a; Naghshvarian et al.,

2017). La preferencia hacia esta conducta se ha descrito en diferentes estudios. Por ejemplo, se han realizado pruebas experimentales con ratas macho de la cepa Sprague-Dawley, en las que los roedores pueden tener acceso a una rueda de ejercicio al pulsar una palanca. En este estudio se observó que los sujetos que reportaron mayor cantidad de pulsaciones, eran los que corrían mayores distancias. (Novak et al., 2012). Por otro lado, en ratas hembra de la cepa Wistar, en condiciones en donde se les presenta restricción hacia la comida y tenían acceso a una rueda, las ratas corrían con mayor intensidad dentro de la misma, al eliminar la restricción de la comida y los animales preferían continuar usando la rueda, aunque tuviesen la oportunidad de comer. Esto indica que la rueda de ejercicios, puede ser una alternativa útil para llegar a un estado motivante y recompensante, que pueda reemplazar otros tipos de recompensas naturales, como la que se obtiene con la ingesta de comida (Novak et al. 2012). De hecho, el uso de la rueda de ejercicio induce también un estado placentero mediado por opioides (Vargas-Perez et al., 2009).

Se ha logrado establecer que el uso de la rueda de ejercicios, activa el mismo sistema de recompensa en el cerebro que se activa con las adicciones (Novak et al., 2012) . Dentro de este sistema de recompensa, se incluyen los circuitos de la vía meso límbica, en especial los circuitos dopaminérgicos, en los cuales se producen cambios en respuesta al ejercicio, como la disminución de receptores D1 y D2 en el núcleo accumbens (Greenwood et al., 2011a). Adicionalmente, se han identificado estructuras relacionadas, en las que ocurren cambios en la estructura cerebral y la conectividad, como resultado del uso de la rueda de ejercicio (RW). Por ejemplo, experimentos realizados en ratas macho, han revelado cambios en el STR, estructura que, como ya se describió, forma parte del circuito de recompensa. Después de seis semanas de exposición y acceso libre a la rueda de ejercicio, se prepararon cortes cerebrales con la técnica de tinción rápida de Golgi y por medio del análisis de Sholl, se evaluó la morfología neuronal de algunas regiones cerebrales. Como resultado, en los sujetos experimentales se observó mayor cantidad de bifurcaciones dendríticas, cerca del soma en neuronas del estriado dorso medial, las cuales también tenían conexiones bidireccionales con la corteza prefrontal. Dichas bifurcaciones también se observaron en la región dorso lateral, al compararlos con el grupo control. También se concluyó que la región dorso lateral del STR, se relaciona con la adquisición de la práctica del uso de ruedas de ejercicio, mientras que la región

dorso medial de este núcleo, regula el establecimiento del uso de la rueda de ejercicio como un hábito prolongado en el tiempo (Greenwood & Fleshner, 2019).

Un estudio con ratones evaluó las variaciones en la motivación para realizar ejercicio en la rueda. Se expusieron ratones al uso de la rueda durante 6 días, para adquirir experiencia y el día 7 se dividió el grupo. La primera mitad continuó con acceso libre a la rueda y a la segunda mitad, se le bloqueó el acceso a la rueda, con el fin de evaluar la motivación. Se realizaron cortes cerebrales y se evaluaron los cambios celulares con inmunorreactividad a c-fos, una proteína que se expresa en respuesta a estimulación neuronal. Se observó que en los cerebros de ratones que tuvieron acceso libre a la rueda, hubo más cantidad de células activadas con c-fos en el giro dentado del Hipp, la corteza media entorrinal y el BNST, al compararlos con los corredores con acceso a la rueda bloqueado. Los autores sugieren que estas regiones podrían estar relacionadas con la intensidad de la respuesta locomotora y propiamente con el ejercicio. Mientras tanto, al compararlos con el grupo control, los corredores con acceso bloqueado, tuvieron mayor actividad de c-fos en regiones como el núcleo estriado, corteza medial frontal, hipotálamo lateral, corteza piriforme, el núcleo hipotalámico paraventricular, NAcc, corteza prefrontal y corteza sensorial. Lo que podría indicar que las estructuras mencionadas se relacionan con la motivación para realizar el ejercicio en ratones. (Rhodes et al., 2003).

Adicionalmente, se han descrito mecanismos de plasticidad neuronal, como la neurogénesis, asociados al uso de la rueda de ejercicio (Naghshvarian et al., 2017). Por ejemplo, el uso de la rueda produce un aumento en la neurogénesis en el en el área sub-granular del giro dentado del Hipp y el área subventricular de los ventrículos laterales, desde donde las neuronas pueden migrar a otras regiones, formando nuevos circuitos funcionales alterando la arquitectura cerebral (Voss et al., 2013).

1.1.3 Relación entre cópula regulada y el uso de la rueda de ejercicio

En términos generales, se observan varios aspectos en común entre la cópula regulada y el uso de la rueda de ejercicio. Ambas conductas inducen estados afectivos positivos (placenteros). Hay descripciones acerca de la influencia sobre el circuito meso límbico e hipotalámico, en el desarrollo de ambas conductas (Micevych & Meisel, 2017). Se ha propuesto que a medida que una conducta produce un estado placentero en un individuo, hay mayor probabilidad de que la conducta se repita (R G Paredes, 2014). Lo cual ha sido evaluado con pruebas de preferencia de lugar condicionado, demostrando que los animales repiten la conducta, ya que se inducen estados afectivos-positivos (Portillo & Paredes, 2019).

Estudios clásicos han evaluado el desempeño del ejercicio en la rata hembra y lo han relacionado con el ciclo ovulatorio, el cual influye en la expresión de la conducta sexual. En un estudio clásico se demostró que, en etapas con baja actividad ovárica como la pre pubertad o el periodo posterior a la ovariectomía, la intensidad de ejercicio (medida por el número de vueltas en la rueda de ejercicio), es baja comparada con la intensidad con que se despliega en la pubertad o después de la estimulación por injerto de ovario. Se sugirió entonces que los niveles de desempeño en la rueda de ejercicio, dependían de sustancias secretadas por los ovarios y por ende, se propuso que tanto el ejercicio como la cópula podrían tener antecedentes biológicos y fisiológicos en común (Richter, 1927). Estudios más recientes confirmaron las primeras observaciones, demostrando que las variaciones en el ciclo estral modifican tanto la actividad motora de las hembras como la conducta sexual (Meyerson et al., 1973; Steiner et al., 1981).

Como ya describimos, otras dos características importantes que comparten el uso de la rueda de ejercicio y la cópula regulada, es que ambas inducen estados placenteros y producen cambios plásticos permanentes en el funcionamiento cerebral. Las dos conductas motivadas, inducen la formación de nuevas neuronas en el animal adulto, asociadas al despliegue de las conductas (Bedos et al., 2018; Vivar et al. 2016).

1.2 Imágenes de resonancia magnética

La resonancia magnética permite obtener imágenes del sistema nervioso central y describir parámetros asociados, como la arquitectura neural funcional, la activación de circuitos y la conectividad anatómica y funcional (Duyn & Koretsky, 2008). Una de sus propiedades es su sensibilidad a la mielina, lo que permite detectar la arquitectura de la materia gris (Aoki et al., 2004) así como detalles de cambios en la materia blanca (Duyn & Koretsky, 2008).

1.2.1 Fundamentos de las imágenes de resonancia magnética

Las imágenes por resonancia magnética se basan en la actividad electromagnética del núcleo atómico el cual está formado por protones y neutrones. Uno de los átomos más utilizados es el átomo de hidrogeno H^+ el cual cuenta con un solo protón y es abundante en los tejidos de los seres vivos. (Bitar et al., 2006). El átomo de hidrogeno se encuentra girando sobre su propio eje a una determinada frecuencia, lo que se conoce como frecuencia de precesión, la cual depende de una constante giromagnética y de la fuerza del campo magnético (CM) que tenga cerca. Cuando el átomo precesa, se genera un campo magnético alrededor del mismo, por lo cual los átomos de hidrógeno actúan como pequeños imanes. Cada imán tiene su propia frecuencia de precesión y una orientación aleatoria, de modo que sus campos magnéticos no se suman. Si se introduce un campo magnético fuerte conocido como B_0 en el espacio donde se encuentran los átomos, éstos tenderán a alinearse en dirección paralela a B_0 (Pooley, 2005) y empezarán a girar a la misma frecuencia de precesión que dicho campo, como se observa en la figura 2, produciendo un efecto acumulativo de todos los momentos magnéticos, desencadenando un vector con magnetización neta (Bitar et al., 2006) también paralela a B_0 , la cual al estar en ésta dirección se conoce como magnetización longitudinal (ML). Es decir, que los átomos estarán alineados con el campo magnético B_0 , todos en la misma dirección conocida como eje z. La magnetización neta será la fuente de señal para producir las imágenes de resonancia magnética (Pooley, 2005).

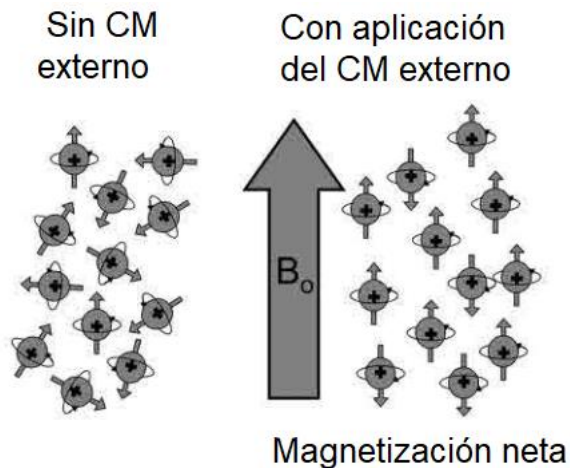


Figura 2. Esquema que muestra las direcciones aleatorias de los átomos de hidrógeno en ausencia de B_0 . Cuando se aplica un CM externo (B_0) se produce una magnetización neta paralela a B_0 . (CM=campo magnético). Modificado de: Pooley, R. A. (2005). AAPM/RSNA physics tutorial for residents: fundamental physics of MR imaging. *Radiographics : A Review Publication of the Radiological Society of North America, Inc*, 25(4), 1087–1099. <https://doi.org/10.1148/RG.254055027>

Además del campo magnético B_0 , se aplica una fuente adicional de energía por poco tiempo en forma de pulso de radiofrecuencia (RF) el cual debe estar a la misma frecuencia de precesión que los átomos y genera un nuevo campo magnético que va a cambiar nuevamente las direcciones de los átomos. Cuando se absorbe la energía de este pulso la magnetización neta se aleja de la dirección longitudinal, por lo cual la ML va disminuyendo hasta llegar a cero. Al mismo tiempo se produce un nuevo componente de magnetización vectorial. El ángulo que tome esta magnetización, depende del pulso RF, si es un pulso de 90 grados se acercará al plano transversal perpendicular a B_0 ubicado en un eje horizontal llamado “x ,y”, ésta nueva magnetización será transversal (MT), tal como se observa en la figura 3 (Pooley, 2005). Así que luego de éste pulso la ML disminuye y la MT aumenta. (Bitar et al., 2006). A partir de la MT se obtiene la señal para la imagen de resonancia, ésta magnetización produce una corriente eléctrica en una bobina receptora, esta corriente luego es digitalizada y grabada en la computadora del sistema con el fin de ser reconstruida como una imagen de resonancia. (Pooley, 2005).

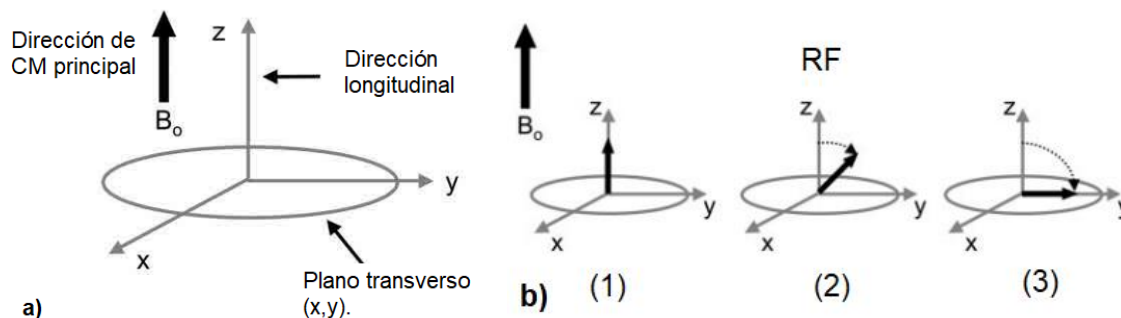


Figura 3. a) Esquema de los ejes de coordenadas en donde se muestra el plano longitudinal correspondiente al eje z y el plano transverso correspondiente a los ejes x, y. **b)** Esquema que muestra el efecto del pulso de radiofrecuencia (RF) sobre la dirección de la magnetización neta (MT). (1) MT alineada con B_0 antes del pulso de RF. (2) (3) Los protones absorben la energía del pulso de RF aplicado, lo que produce que la MT rote lejos del eje z y se acerque a los ejes x,y convirtiéndose en magnetización transversal. Modificado de: Pooley, R. A. (2005). AAPM/RSNA physics tutorial for residents: fundamental physics of MR imaging. *Radiographics : A Review Publication of the Radiological Society of North America, Inc.*, 25(4), 1087–1099. <https://doi.org/10.1148/RG.254055027>

Cuando el pulso de RF se apaga, la magnetización crece nuevamente en dirección longitudinal y la ML se recupera, es decir, se regresa. El tiempo que se tarda en recuperar el 63% de la ML inicial se conoce como relajación T1. Este parámetro es diferente para los protones de cada tipo de tejido y depende de la fuerza del campo magnético, además es la fuente fundamental de las imágenes ponderadas a T1 con contraste. Para la materia blanca cerebral el T1 tiende a ser corto, la materia gris tiene un T1 intermedio y el fluido cerebro espinal un T1 largo. La relajación T2 es el tiempo que toma la MT en decaer un 37% de su valor final. Los tejidos tienen diferentes valores de T2. De ésta forma la materia blanca tiene un T2 corto y la materia gris un T2 intermedio. T1 y T2 son procesos de relajación de la ML y MT que ocurren de forma simultánea, se encuentran ilustrados en la figura 4 (Pooley, 2005).

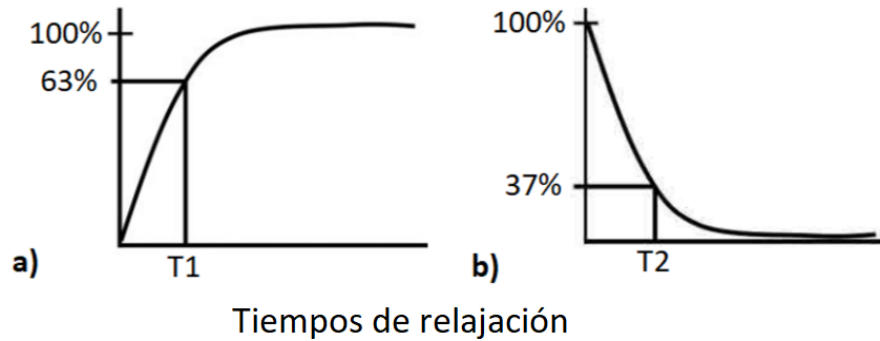


Figura 4. Definición de los tiempos de relajación. **a)** Relajación T1. **b)** Relajación T2. Modificado de: Pooley, R. A. (2005). AAPM/RSNA physics tutorial for residents: fundamental physics of MR imaging. *Radiographics: A Review Publication of the Radiological Society of North America, Inc*, 25(4), 1087–1099. <https://doi.org/10.1148/RG.254055027>

Durante la aplicación del pulso de RF, los átomos precesan juntos lo que se denomina estado de fase o en fase. Cuando el pulso se apaga y la MT decae, los átomos empiezan a desfasarse, es decir, empieza cada uno a precesar a su propia frecuencia. Cuando éste desfase es debido a inhomogeneidades del CM ocurre otro tipo de decaimiento de la MT que se conoce como decaimiento T2*. La inducción de corriente que se produce en la bobina receptora a partir de la cual se producirá la señal, solo puede ocurrir si los átomos se encuentran girando en fase (Bitar et al., 2006).

Las diferencias de T1 y T2 en los tejidos crean diferencias en el contraste de la imagen. La clave para la creación de éste contraste reside en dos parámetros: el tiempo de repetición (TR) y el tiempo eco (TE), ambos se miden en milisegundos. TR es el tiempo entre la aplicación de un pulso de RF y el inicio del siguiente pulso de RF, es decir, el tiempo que toma para correr la secuencia de pulsos una vez (figura 5). TE es el tiempo entre la aplicación del pulso de RF de 90° y el pico eco formado (Bitar et al., 2006; Pooley, 2005). TR y TE afectan las diferencias de los tiempos de relajación en los tejidos (Bitar et al., 2006) ya que pueden ser usados como control de la ponderación de los efectos de T1 y T2 en las imágenes (Pooley, 2005). Además, pueden ajustarse para enfatizar un tipo particular de contraste. Cuando los efectos de la relajación T2 están minimizados y los efectos de T1 están maximizados se produce una imagen ponderada a T1, las cuales presentan TR y TE cortos (Bitar et al., 2006). Las imágenes ponderadas a T1, las cuales fueron producidas para éste trabajo, se caracterizan por que su

contraste presenta áreas blancas o brillantes que corresponden a la materia blanca, y la materia gris presenta matices en colores grises (Pooley, 2005), por lo cual tienen un buen detalle de la anatomía y si se usa material de contraste pueden mostrar entidades patológicas (Bitar et al., 2006).

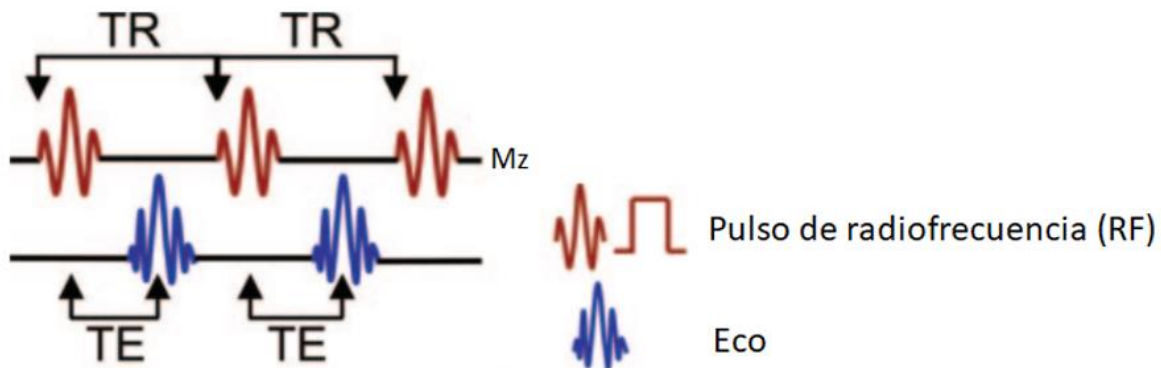


Figura 5. Representación esquemática de TR (tiempo de repetición) y TE (tiempo eco). Modificado de: Bitar, R., Leung, G., Peng, R., Tadros, S., Moody, A. R., Sarrazin, J., McGregor, C., Christakis, M., Symons, S., Nelson, A., & Roberts, T. P. (2006). MR pulse sequences: what every radiologist wants to know but is afraid to ask. *Radiographics: A Review Publication of the Radiological Society of North America, Inc*, 26(2), 513–537. <https://doi.org/10.1148/RG.262055063>

La manera en la que el pulso de RF es aplicado se puede diferenciar en las secuencias de pulso. Un tipo de secuencia de pulso en las que es común el uso de materiales de contraste son las secuencias de gradientes eco (GRE, por sus siglas en inglés), los gradientes son variaciones en la fuerza de CM, es decir, variaciones en la dirección. El pulso de RF voltea parcialmente el vector de la MN al plano transversal, los gradientes son usados para desfasar o refasar la MT. Sin embargo, estos gradientes no arreglan las inhomogeneidades del CM, las cuales son secundarias a las diferencias de susceptibilidades magnéticas de los tejidos. Las inhomogeneidades resultantes (variaciones locales de B0) producen que los átomos precesen a diferentes frecuencias por lo que, al realizar la suma vectorial de la MN, ésta será menor ocasionando así la pérdida de la intensidad de señal y desencadenando una señal vacía. Además, estas secuencias se caracterizan por un estado de estabilidad en el que los TR son más cortos que el T1 y el T2, permitiendo que únicamente ocurra el desfase T2*, esto produce que la MT se acumule en el tiempo de manera

estable ya que los TR son demasiado cortos para que la T2 pueda decaer completamente. Al final ocurren dos cosas: una señal vacía y una T2 remanente que debe ser eliminada. En las secuencias GRE incoherentes (spoiled) cualquier remanente del efecto de T2* produce artefactos, para esto, un pulso o gradiente “spoiler” es aplicado para erradicar cualquier rezago de T2 y así producir una imagen ponderada solo a T1. (Bitar et al., 2006). Este tipo de secuencias son las que utilizamos en el presente trabajo.

1.2.2 Resonancia magnética con contraste de manganeso (MEMRI).

La Resonancia magnética asociada al uso de ion manganeso como contraste (MEMRI, por sus siglas en inglés), es una técnica no invasiva que ha permitido obtener imágenes de estructuras cerebrales in vivo. El ion de manganeso es un elemento esencial de carácter paramagnético que funciona como análogo de los iones de calcio (Aoki et al. 2002; Lin & Koretsky, 1997). En condiciones normales, una neurona activada por un potencial de acción aumenta su flujo intracelular de calcio, el manganeso al ser un análogo de éste, puede entrar a la célula por canales de calcio dependientes de voltaje, aumentando su flujo y acumulándose en el interior, permaneciendo a nivel intracelular por periodos prolongados de hasta 14 días (Lin & Koretsky, 1997). Por las propiedades descritas, es considerado un agente útil de contraste para identificar regiones activas a través de la imagen por resonancia magnética (MRI, por sus siglas en inglés). El ion de manganeso se acumula en los astrocitos y tiene la capacidad de transportarse de manera anterógrada, por lo cual puede llegar a las neuronas y pasar a través de las sinapsis haciendo posible que la técnica de MEMRI pueda mostrar conectividad entre estructuras y consecuentemente circuitos de activación (Duyn & Koretsky, 2008).

Estudios en cerebros de roedores, han descrito que después de una inyección sistémica de cloruro de manganeso, éste se acumula en diferentes regiones. Ingresando por el flujo sanguíneo cerebral, se acumula en los espacios ventriculares en un tiempo promedio de 2 horas y posteriormente en órganos circunventriculares, como la fimbria del hipocampo, superficie de la corteza, superficie externa del bulbo olfatorio (área de mayor señal) y nervio olfatorio. Después de un día de la aplicación, el nivel de contraste en ventrículos disminuye y se distribuye de manera heterogénea por todo el cerebro. Las estructuras finales donde se ha visto

mayor acumulación de contraste, incluyen el bulbo olfatorio en su capa externa hasta la lámina granular, en el Hipp en la región CA y la lámina granular del giro dentado, el cerebelo, los ganglios basales y el hipotálamo. También aumentó el contraste en regiones corticales, en una intensidad moderada y en el cuerpo calloso, el cíngulo y el fornix. En áreas subcorticales se encontró mayor intensidad en el núcleo hipotalámico y en la corteza del núcleo accumbens, así como algunas áreas mesencefálicas (Aoki et al., 2004).

La figura 6 corresponde a una imagen de resonancia magnética publicada por Aoki et al. (2004) en la que se muestra la distribución del contraste de cloruro de manganeso en el cerebro. En los controles que no recibieron MnCl₂, se ve muy poco contraste y baja señal. Luego de dos horas de infusión de MnCl₂, hay un aumento de contraste en las regiones que tienen gran espacio ventricular y órganos subventriculares como la glándula pituitaria (Pi), glándula pineal y eminencia media (Me). Después de un día, el aumento de contraste tiene una distribución más heterogénea del aumento de contraste y el aumento luego de dos horas se ha reducido. El aumento de contraste continuó visible a los cuatro días, pero fue disminuyendo progresivamente a niveles parecidos al control a los 14 días.

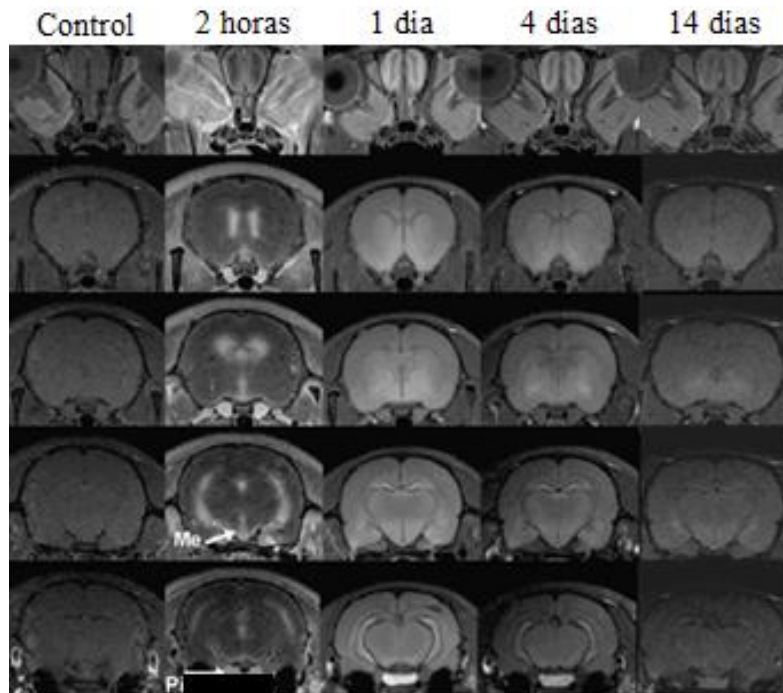


Figura 6. Imagen de resonancia magnética ponderada a T1 que refleja la distribución del contraste de manganeso en un plano transversal (Bregma -2.0, 2 y 4 mm) de un cerebro de rata en un periodo de dos horas, un día, cuatro días y 14 días posterior a la administración sistémica intravenosa de MnCl₂. Modificado de: Aoki, I., Wu, Y. J. L., Silva, A. C., Lynch, R. M., & Koretsky, A. P. (2004).

1.2.3 Relación entre la resonancia magnética con contraste de manganeso y conductas motivadas

La acumulación por tiempo prolongado del ion manganeso en los tejidos, ha permitido registrar patrones de actividad cerebral en animales que han realizado conductas antes de ser colocadas en el resonador, obteniendo imágenes de las estructuras que se activan después de desplegar la conducta. Así, se ha demostrado que, en algunas áreas cerebrales, aumenta la intensidad de señal de T1 después de realizar conductas motivadas.

En un estudio sobre de mapeo de actividad cerebral en ratas, se realizaron sesiones de uso de rueda de ejercicio, las ratas se dividieron en dos grupos: un grupo experimental que corrió en la rueda (n=6) y un grupo control que permaneció en su jaula sin correr (n=7). El grupo experimental tuvo acceso libre a la rueda por un periodo de 12 horas diarias durante 6 días consecutivos. En el día número siete se aplicó de manera sistémica una única dosis de 16mg/kg de MnCl₂ a ambos grupos. Se tomaron imágenes de resonancia 24 horas antes y después de la inyección con el fin de obtener imágenes en ausencia y presencia de contraste respectivamente. Posteriormente los sujetos realizaron el ejercicio por otros 6 días consecutivos (Eschenko et al., 2010).

En las imágenes tomadas 24 horas posteriores a la inyección, la administración de la dosis mencionada resultó en un aumento significativo en la intensidad de señal en áreas cerebrales en las que no había presencia de barrera hematoencefálica, como la glándula pituitaria (Pi), la intensidad se duplicó comparada con las imágenes tomadas antes de la inyección. La tasa de intensidad de señal en diferentes áreas cerebrales también aumento en un 22-29%, comparados con los niveles pre inyección. Al comparar los sujetos experimentales con el control, se encontró que en los corredores hubo activación (intensidad de señal) significativa en áreas como la corteza somato sensorial primaria y secundaria, la corteza motora primaria y secundaria, el bulbo olfatorio y el hipocampo en su región ventral, entre muchas otras. Por otra parte, no se encontraron diferencias entre corredores y sedentarios respecto a la intensidad de

señal en la glándula pituitaria ni en la distribución de intensidad de señal en el resto del volumen cerebral (Eschenko et al., 2010).

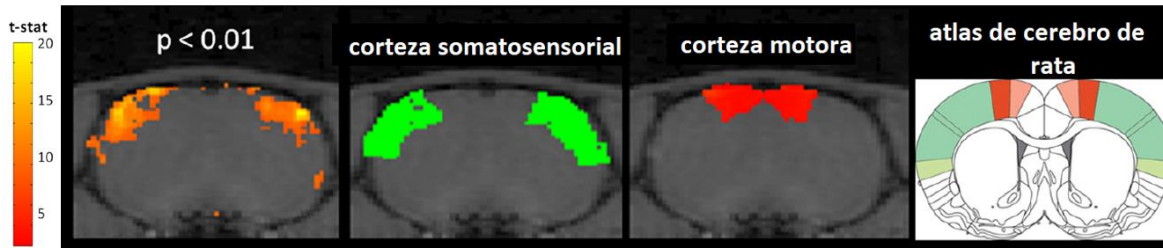


Figura 7. Imágenes ponderadas a T1 que enseñan las regiones cerebrales activadas (corteza somato sensorial y corteza motora), por medio de la acumulación de Mn²⁺ en el grupo experimental (corredores) comparados con el grupo control. La columna de la izquierda corresponde a los códigos de colores de los mapas estadísticos de una prueba t sobre una imagen representativa de la sección coronal del cerebro. La columna de la derecha corresponde a una sección tomada del atlas de Paxinos y Watson (2005) en la que se resalta la corteza motora en color rojo y la corteza somato sensorial en color verde. Modificado de: Eschenko, O., Canals, S., Simanova, I., Beyerlein, M., Murayama, Y., & Logothetis, N. K. (2010). Mapping of functional brain activity in freely behaving rats during voluntary running using manganese-enhanced MRI: Implication for longitudinal studies. *NeuroImage*, 49(3), 2544–2555. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROIMAGE.2009.10.079>

El presente estudio buscó determinar, a través de MEMRI, si las estructuras y los circuitos neuronales que se activan por la conducta sexual y la rueda de ejercicio son los mismos o si son diferentes. Además, evaluamos si los circuitos neuronales de cada conducta se modifican con la experiencia.

Capítulo 2. Trabajo de Investigación

2.1 Justificación

La conducta sexual y el uso de la rueda de ejercicio son dos conductas motivadas que se relacionan con el desarrollo de un estado afectivo positivo en roedores (Greenwood et al. 2011; Portillo & Paredes, 2019). También, se ha descrito que ambas conductas inducen cambios plásticos, como la formación de nuevas neuronas en diferentes áreas cerebrales. Hasta el momento se han descrito diferentes circuitos neuronales relacionados con la conducta sexual, como el circuito de recompensa y el circuito de conducta social, respecto al uso de la rueda de ejercicio. También se han relacionado algunas estructuras que componen éstos circuitos, como el núcleo estriado (Greenwood & Fleshner, 2019) y el núcleo accumbens (Greenwood et al., 2011a) entre otros. Sin embargo, no se han determinado cómo es la activación de estos circuitos y las estructuras que los componen, al realizar ambas conductas de forma simultánea, ni como esta activación se modifica con la experiencia.

El uso de la resonancia magnética, a diferencia de otros métodos, nos permite comparar la activación de estos circuitos en el mismo individuo, en un estudio longitudinal. Por medio de la técnica de MEMRI, solo se han definido algunas estructuras relacionadas con el ejercicio (Eschenko et al., 2010). Hasta el momento no hay estudios que evalúen por MEMRI las estructuras que se activan al desplegar la conducta sexual. Identificar y comparar la activación de los circuitos neuronales debido a las conductas motivadas, es crítico para entender como sucede la integración de la información, entre diferentes estructuras del sistema nervioso. (Lerner et al., 2016)

2.2 Hipótesis

Tanto el circuito de recompensa como el circuito de conducta social tendrán mayor activación cuando se desplieguen la cópula regulada y el uso de la rueda de ejercicios, de manera alternada en una misma sesión.

2.3 Objetivos

2.3.1 Objetivo General:

1. Identificar y comparar por MEMRI, la activación de estructuras cerebrales y la activación de los circuitos MRS y SBN por las conductas motivadas de cópula regulada y uso de la rueda de ejercicios

2.3.2 Objetivos Específicos:

1. Determinar las estructuras cerebrales que se activan después de realizar ejercicio en la rueda.
2. Determinar las estructuras cerebrales que se activan después de realizar la cópula regulada.
3. Determinar las estructuras cerebrales que se activan después de realizar cópula regulada y ejercicio en la rueda, en una sola sesión.
4. Determinar y describir la activación de los circuitos MRS y SBN por la cópula regulada y el uso de la rueda de ejercicios en una misma sesión.
5. Determinar si la activación de estas estructuras y circuitos se modifica con experiencia.

2.4 Material y Métodos

El protocolo fue aprobado por el comité de bioética del Instituto de Neurobiología.

2.4.1 Sujetos

Ratas hembra de la cepa Wistar, entre 250-300 gramos de peso, sin experiencia sexual previa, fueron ovariectomizadas bajo anestesia por ketamina/xilacina en proporción 70% / 30%. Después de la cirugía permanecieron en su caja por una semana para su recuperación, con vigilancia de cicatrización de la herida. Posteriormente se aplicó tratamiento hormonal para inducir receptividad y proceptividad, antes de las pruebas conductuales. Todos los grupos recibieron una dosis semanal de benzoato de estradiol 25 µg/kg (Sigma®) y progesterona 1 mg/kg (Sigma®), por medio de una inyección subcutánea. El estradiol y la progesterona se aplicaron 48 y 4 horas antes de la prueba conductual, respectivamente.

Ratas machos de la cepa Wistar, con peso entre 300 y 350 gramos, fueron utilizados como animales estímulo. Para ello fueron entrenados en 3 pruebas de cópula regulada de una hora de duración, y se seleccionaron aquellos que fueron sexualmente expertos por presentar la eyaculación al menos una vez en cada prueba. Se utilizó el mismo grupo de machos como estímulo para ambos grupos de conducta sexual: cópula regulada y cópula regulada + ejercicio. Cada macho realizó la prueba una vez a la semana, la selección para determinar las parejas conformadas por macho y hembra en cada prueba fue aleatoria, cuidando que los machos solo copularan una vez a la semana y no repitieran encuentros sexuales en la misma. Todos los animales permanecieron en ciclo de luz invertido con 12 horas de luz iniciando a las ocho de la noche y finalizando a las 8 de la mañana; Y 12 horas de oscuridad iniciando a las 8 de la mañana, finalizando a las 8 de la noche. Las condiciones de agua y alimentación fueron ad libitum. Sólo salieron de su ciclo de luz para la realización de las pruebas y la toma de imágenes de resonancia.

2.4.2 Grupos

Se dividieron los sujetos de manera aleatoria en 5 grupos. Se iniciaron los experimentos, con un primer lote que incluyera sujetos de todos los grupos (n por grupo = 2 o 3) hasta completar 8 sujetos por grupo, tal y como se muestra en la Figura 12.

- I. Control: Los sujetos permanecieron en su caja.
- II. Campo Abierto: Tuvieron una prueba diaria de una hora de duración, en la caja de campo abierto.
- III. Rueda de Ejercicio: Los sujetos realizaron una hora de ejercicio libre al día en la rueda de ejercicio.
- IV. Cópula regulada: Realizaron una sesión semanal de una hora con machos estímulo en cajas de Cópula Regulada (CR).

V. Cópula regulada + ejercicio: Los sujetos realizaron diariamente una hora de ejercicio libre por 4 días a la semana, con un quinto día de ejercicio libre y cópula regulada, en la misma sesión de una hora de duración.

Cada prueba experimental se realizó una vez al día por 5 días a la semana, durante un periodo de 10 semanas, para cada grupo, con una semana cero sin experiencia conductual previa, para un total de 11 semanas. Se tomaron imágenes cerebrales por resonancia magnética durante un solo día en las semanas 0, 1, 5, y 10.

2.4.3 Pruebas Conductuales

Campo abierto

Cada sujeto del grupo de campo abierto tuvo una sesión diaria de una hora, durante 5 días a la semana, con dos días de descanso como se muestra en la Figura 12. Los sujetos fueron colocados en el interior de una caja de acrílico negro con medidas 99 x 49 x 50 cm sin entrada de puntos de luz entre las paredes de la caja, como se muestra en la figura 8. Cada sujeto fue video grabado desde un ángulo perpendicular, que permitió ver todo el espacio. Posteriormente los videos fueron analizados con el programa Ethovision registrando la distancia recorrida total en metros.



Figura 8. Fotografía de la caja de acrílico donde se realizó la prueba de campo abierto. Visión perpendicular de una rata hembra de la cepa Wistar, caminando libremente en la caja de acrílico negro.

Rueda de ejercicio

Se realizó una sesión diaria de una hora de uso libre de la rueda de ejercicio durante cinco días. El sujeto se colocó en el interior de una caja de acrílico transparente (78 x 48 x 30 cm-de Plexiglás®) en cuyo interior se colocó una rueda de ejercicio con una abertura redonda que permitió el acceso y la salida del sujeto de manera libre, como se muestra en la figura 9. Se utilizó una rueda PANLAB, Modelo LE904 (76-0412) de acero inoxidable con medidas 36 x 10 cm que se conectó a un multicontador programable. El multicontador programable Modelo LE3806 (76-0243), PANLAB tuvo parámetros programados en latencia de inicio, tiempo de muestreo y tiempo total, para registrar el número de vueltas. Los datos obtenidos fueron analizados por computadora con el programa Sedacom (SEDACOM Versión 2.0, Panlab-Harvard Apparatus®).



Figura 9. Fotografía de la caja de acrílico, donde se coloca la rueda para evaluar a los sujetos durante la prueba de ejercicio.

Prueba de Cópula Regulada

Se realizaron en las mismas cajas de acrílico transparente utilizadas en la prueba de rueda de ejercicio, pero se retiraron las ruedas. La caja tiene una división de acrílico que la divide en 2 compartimientos, en uno de los compartimientos se colocó el sujeto (rata hembra) el cual fue el mismo compartimiento en donde se introduce la rueda de ejercicios en las pruebas de rueda de ejercicio y cópula regulada + rueda de ejercicio; En el otro compartimiento se colocó el estímulo (rata macho), como se muestra en la figura 10. La división tiene en su

base, un pequeño orificio (4 x 6 cm-) de tamaño suficiente que permite el paso de la rata hembra y restringe el paso del macho al ser de mayor tamaño. De esta manera, la hembra reguló los contactos copulatorios. Se realizó una prueba de cópula una vez a la semana. Las pruebas tuvieron una duración de 1 hora tomando como segundo cero el momento en el que la hembra era introducida en su compartimento. Los eventos registrados de la conducta sexual femenina y masculina se encuentran más adelante.

Se realizó una prueba de cópula una vez a la semana.



Figura 10. Fotografía de la caja de cópula regulada. Ratas hembra y macho de la cepa Wistar.

Prueba de cópula regulada y ejercicio en la misma sesión

La prueba se realizó en las condiciones hormonales descritas previamente y en la misma caja que la de la cópula regulada y uso de la rueda de ejercicio, como se muestra en la figura 11. En el compartimento más grande se colocó la rueda de ejercicio. La hembra pudo regular los eventos copulatorios a través de la división de acrílico y al mismo tiempo pudo ingresar y salir de la rueda libremente realizando las dos conductas motivadas de acuerdo a su preferencia. Esta prueba simultánea se programó una vez a la semana, con una duración de una hora. Los cuatro días restantes, el sujeto realizó únicamente la prueba de ejercicio, en las mismas condiciones descritas para el grupo de rueda de ejercicio, para un total de cinco días de pruebas conductuales semanales.

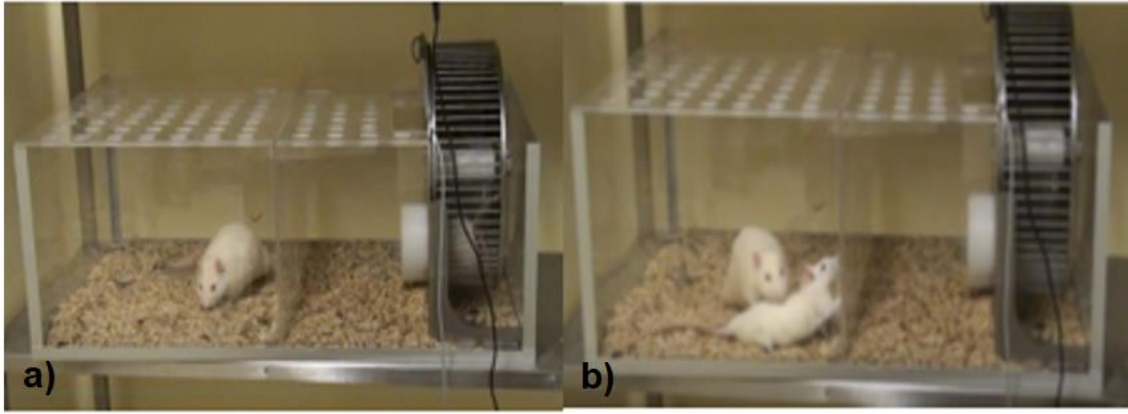


Figura 11. Fotografía de la caja de cópula y ejercicio. **a)** Ratas hembra y macho de la cepa Wistar, rata hembra en el interior de la rueda de ejercicio y rata macho en su compartimiento. **b)** Ratas hembra y macho de la cepa Wistar interactuando sexualmente.

Los parámetros de conducta sexual que se tomaron en cuenta para las pruebas de conducta sexual de cópula regulada y cópula regulada + ejercicio, se describen a continuación.

1. Número de Montas (NM): Número de montas que preceden a cada eyaculación (Ågmo, 1997)
2. Número de Intromisiones (NI): número de intromisiones que preceden cada eyaculación (Ågmo, 1997).
3. Número de Eyaculaciones (NE): Número de eyaculaciones realizadas por el macho durante la sesión completa de una hora (Ågmo, 1997).
4. Latencia de Monta (LM): Tiempo transcurrido desde que se introduce la hembra en el compartimiento vacío de la arena, hasta que ocurre la primera monta por parte del macho (Ågmo, 1997).
5. Latencia de Intromisión (LI): Tiempo transcurrido desde que se introduce la hembra en el compartimiento vacío de la arena, hasta que ocurre la primera intromisión (Paredes & Alonso, 1997).

6. Latencia de Eyacuación (LE): tiempo que transcurre entre la primera intromisión, hasta la eyacuación de la primera serie eyaculatoria.
7. Latencia de Retorno (LR): Tiempo transcurrido entre cada evento copulatorio (monta, intromisión o eyacuación) que recibió la hembra del macho durante la hora que duró la prueba, y el regreso de la hembra al compartimento del macho, se tomaron en cuenta sólo de aquellos eventos en las que la hembra abandonó el compartimento del macho (Erskine, 1985). LRM = latencia de retorno por monta; LRI = latencia de retorno por intromisión; LRE = latencia de retorno por eyacuación.
8. Intensidad Media de lordosis (IML): Primero se cuantifico la lordosis de acuerdo a la siguiente escala: 0 = sin Lordosis; 1 = Lordosis media; 2 = Lordosis completa. A partir de estos valores se calculó la IML dividiendo la suma de las anteriores puntuaciones sobre el número total de respuestas de lordosis (Paredes & Alonso, 1997).
9. Coeficiente de Lordosis (QL): Número de eventos de lordosis que ocurrieron durante la hora que duró la prueba, dividido entre la suma total del número de montas y número de intromisiones que se presentaron durante la hora que duró la prueba (Paredes & Alonso, 1997).
10. Intervalo Inter-Intromisión (III): Intervalo de tiempo entre cada intromisión en una serie eyaculatoria. Se calcula dividiendo la LE entre el NI de cada serie eyaculatoria (Paredes & Alonso, 1997).
11. Porcentaje de Salidas por evento (PS): Se calculó dividiendo las veces que la hembra abandonó el compartimento del macho después de recibir un evento copulatorio (monta, intromisión o eyacuación) sobre el número total de eventos respectivos, es decir, para el PS de monta (PSM) se dividió por el número de montas, para el PS de intromisiones (PSI) se dividió por el número de intromisiones y para el PS de eyacuaciones (PSE) se dividió

por el número de eyaculaciones, luego se multiplicó el cociente por 100 para obtener el porcentaje para cada evento copulatorio (Erskine, 1989).

12. Porcentaje de sujetos que recibieron eyaculación: Corresponde al porcentaje de sujetos (n=8) que recibieron al menos una eyaculación en cada prueba. Este parámetro se tiene en cuenta para complementar los PSE.

Los eventos relacionados con la conducta sexual masculina consistieron en monta, intromisión y eyaculación; Al igual que las LM, LI y LE (Chu & Ågmo, 2016). Estos parámetros fueron evaluados con el fin de estudiar si los machos fueron capaces de estimular adecuadamente a la hembra. Por otro lado, los eventos para evaluar la conducta sexual femenina fueron LRM, LRI, LRE; PSM, PSI, y PSE; IML, LQ e III. Estos parámetros permitieron evaluar la motivación sexual de las hembras, sus aplicaciones se encuentran en la discusión (Erskine, 1985).

Resonancia Magnética

Los sujetos fueron inyectados con solución de cloruro de manganeso ($MnCl_2$, (Manganese (II) chloride, SIGMA-ALDRICH, Núm. de producto 244589, St. Louis) en una dosis de 16 mg/kg a nivel subcutáneo, 24 horas antes de la resonancia y 24 horas antes de la prueba conductual en las semanas 1, 5, y 10 como se muestran en las Figuras 13 y 14. Inmediatamente después de la prueba conductual, los sujetos fueron llevados a la toma de imágenes cerebrales por resonancia magnética, previa anestesia, en el Laboratorio Nacional de Imagenología por Resonancia Magnética (LANIREM). Primero se indujo anestesia en una cámara de inducción con Isoflurano (Sofloran® Vet) al 4%). Una vez sedada, se montó la rata en el resonador para especies pequeñas de 7T (BioScan Bruker® PharmaScan) y se mantuvo la sedación entre 1.5% - 2%, con registro de frecuencia respiratoria, para garantizar niveles normales (40-70 respiraciones por minuto). Se mantuvo la temperatura corporal, por medio de bombas con agua caliente circulante por debajo del sujeto.

Imágenes

Se utilizó la secuencia ponderada a T1: T1-3DFLASH (Fast low angle shot) con los siguientes parámetros: tiempo eco, 8 ms; tiempo de repetición 50ms; promedio, 2 repeticiones; grosor de rebanada 16 mm; tamaño de imagen: 150x160x80; campo de visión: 30x32x16mm; ángulo de inclinación: 20°; tiempo total: 23min, 28s. Esta secuencia presenta mayor intensidad de señal comparada con otras secuencias GRE, mejor diferencia de contraste de tejidos entre materia gris y blanca y por lo tanto mayor detalle de estructuras anatómicas. Las imágenes fueron adquiridas con el sistema operativo de Paravision (PV) versión 6.0.1.

Esquema Experimental

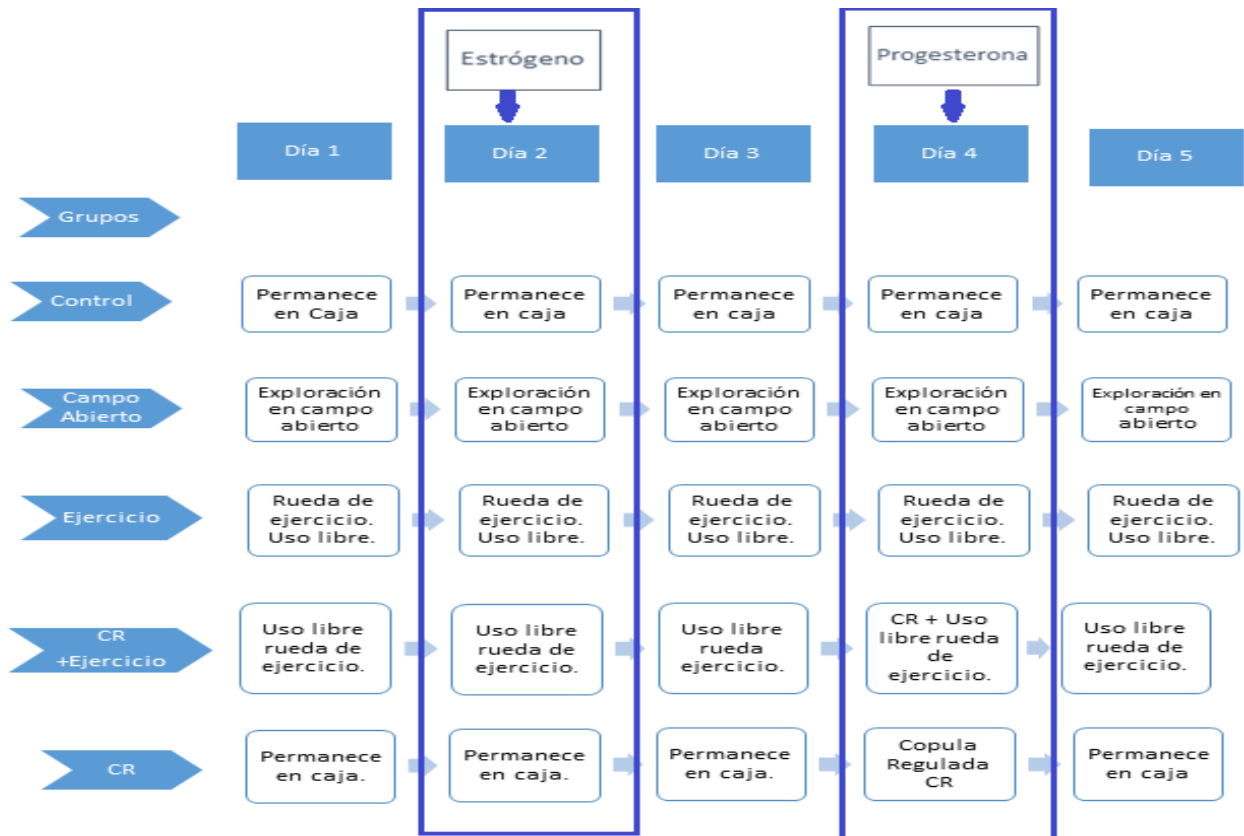


Figura 12. Esquema experimental que muestra las pruebas de conducta de cada grupo y el reemplazo hormonal por semana. Las conductas se realizan en sesiones de una hora-de duración. CR = cópula regulada.

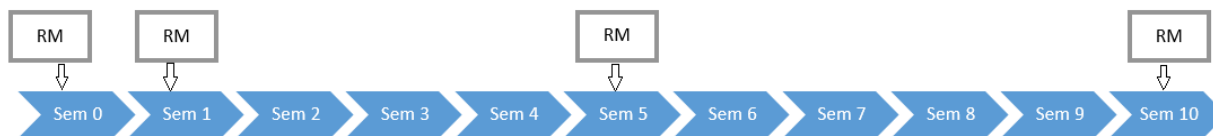


Figura 13. El esquema experimental descrito en la figura 12, se repitió por 10 semanas para cada grupo. Esquema general que indica las semanas en las que se llevan a cabo la toma de imágenes por resonancia para cada sujeto. Se contó con una semana 0 en la que los sujetos no realizarán ninguna conducta, para ser tomada como control. RM=Resonancia Magnética; Sem = Semana.

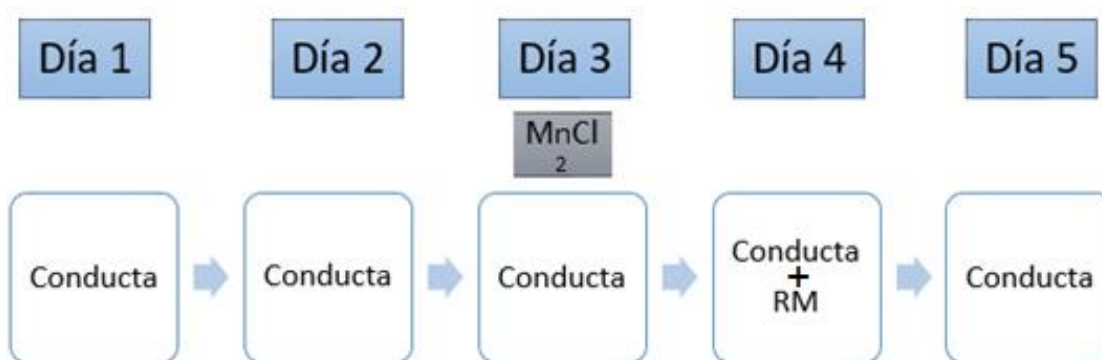


Figura 14. Esquema experimental durante la semana de resonancia, para cada sujeto. Se inyecta Cloruro de Manganeso ($MnCl_2$) como medio de contraste, 16mg/kg subcutáneo, 24 horas antes de la toma de imágenes. RM= resonancia magnética.

2.4.4 Análisis de resultados

2.4.4.1 Análisis de Imágenes

Pre-procesamiento y análisis de imágenes:

Después de la obtención de imágenes, los archivos obtenidos en las semanas 0, 1, 5 y 10 fueron procesados para su análisis final. Se utilizó el software FSL (FSL, FMRIB Software Library v5.0), para lo cual se cambiaron las dimensiones del vóxel (2x2x2). Posteriormente se aplicó un comando “denoiseImage”, con el fin de disminuir la tasa señal-ruido y así aumentar la calidad visual de la imagen y sus medidas cuantitativas. Como segundo paso, con las imágenes de la Semana 0 para cada sujeto, se creó una imagen cerebral promedio como referencia (Template), para cada región de interés (ROI por sus siglas en inglés), las cuales son las estructuras que componen cada circuito. Posteriormente, se alinearon las otras imágenes con esta referencia, para corregir las diferencias posicionales y se ubicaron todas las imágenes en las

mismas coordenadas espaciales. Con la alineación de las imágenes, se dibujaron las áreas de interés o ROIs con base en el atlas anatómico de rata de Paxinos (Palkovits, 1983). Los ROIS se exportaron a una base de datos para su normalización y extracción de valores de intensidad de señal en voxeles. La normalización se realizó dividiendo el valor de intensidad de señal de cada área de interés entre los valores de intensidad de señal del área de referencia (Glándula Harderiana). Finalmente, los datos se cargaron a un programa estadístico, para ser analizados por ROIS independientes y por circuitos. Se aplicó cada ROIS por separado en todas las imágenes procesadas, obteniendo valores numéricos de intensidad de señal para cada sujeto perteneciente a cada grupo (n = 8). Cada valor se normalizó con su respectivo valor de referencia. Con los resultados numéricos normalizados de todos los sujetos, se calcularon los valores promedio para cada ROI en cada grupo. Se agruparon los valores de cada ROI para conformar los circuitos y se graficaron los resultados.

A continuación, en la figura 15 se ven algunos ejemplos de los ROIs dibujados a partir del atlas anatómico de ratas.

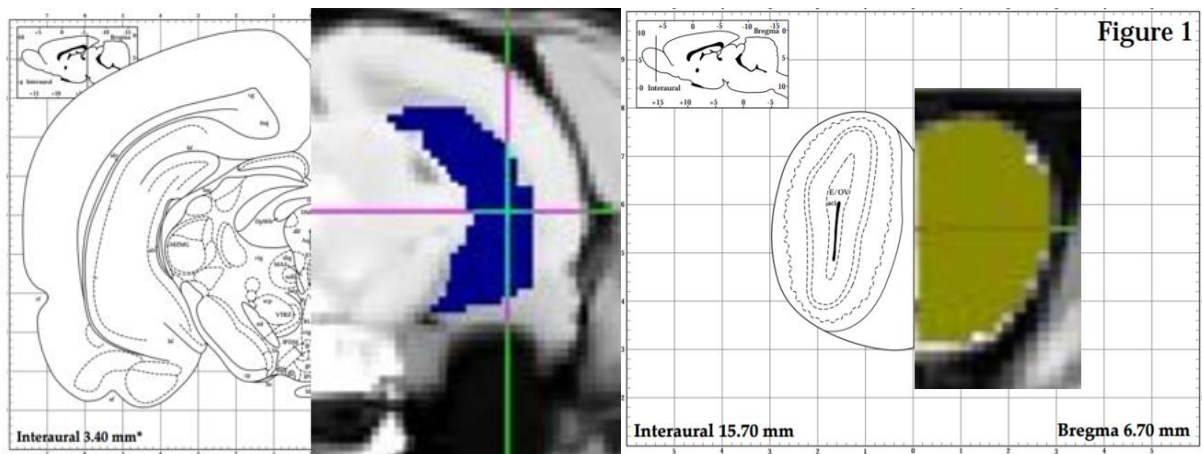


Figura 15. Ejemplo de los ROIs dibujados a partir de las imágenes del atlas de Paxinos. De izquierda a derecha se ve el ROI correspondiente al hipocampo (azul) y al bulbo olfatorio (amarillo). Modificado de: Palkovits, M. (1983). The rat brain in stereotaxic coordinates Authors: George Paxinos & Charles Watson Academic Press Australia, 1982 Softback, 154 pages (including 71 plates), 35.00 Aust \$. *Neuropeptides*, 3.

2.4.4.2 Análisis Estadístico

Dado que muchos de los grupos no mostraron normalidad al aplicar la prueba de Shapiro-Wilk, se realizaron pruebas no paramétricas.

Pruebas conductuales

Conducta sexual: Se hizo la comparación de cada parámetro a través del tiempo, para cada grupo, con la prueba de Friedman de medidas repetidas. En caso de diferencias significativas, se utilizó una prueba post-hoc de Tukey, para las comparaciones entre cada semana. Para las comparaciones entre grupos para cada semana, se utilizó una prueba U de Mann Whitney.

Ejercicio

Dentro de grupos. Se realizó la prueba de Friedman de medidas repetidas, para analizar diferencias dentro de cada grupo respecto a las sesiones. En caso de diferencias significativas se utilizó una prueba pos-hoc de Tukey, para las comparaciones entre cada semana. Para analizar posibles diferencias entre los grupos por semana, se realizó la prueba de Kruskal-Wallis, seguida de una prueba post hoc de U Mann-Whitney.

Imágenes por resonancia.

Estructuras y circuitos:

Se incluyeron los siguientes circuitos y estructuras correspondientes:

1. Circuito de recompensa: NAcc, STR, Hipp, VTA.
2. Circuito de conducta social o socio-sexual: OB, BNST, AMG, VMH, AMG.

Para cada estructura y cada circuito, se realizó la comparación entre sesiones, dentro de cada grupo, usando la prueba Friedman de medidas repetidas, seguida de la prueba post hoc de Tukey. Para la comparación entre grupos, se empleó la prueba de Kruskal-Wallis, - seguida de la post hoc de U de Mann-Whitney.

Capítulo 3. Resultados.

3.1 Parámetros de conducta sexual

Los resultados de los parámetros de la conducta sexual realizada por los grupos de cópula regulada y cópula regulada + ejercicio en las semanas 1, 5 y 10, se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Parámetros de conducta sexual en las semanas 1, 5 y 10, de los grupos de cópula regulada (n=8) y cópula regulada + ejercicio (n=8). Sesión completa de un hora. Los datos se expresan como promedio \pm el error estándar						
Grupos	Cópula Regulada			Cópula Regulada + Ejercicio		
Semanas	1	5	10	1	5	10
Número de Montas	8.00 \pm 1.42	19.88 \pm 6.42	18.25 \pm 2.17	9.50 \pm 2.43	13.63 \pm 2.18	12.25 \pm 3.19
Número de Intromisiones	16.50 \pm 2.76	28.63 \pm 4.46	32.25 \pm 3.49 ^{*#}	17.63 \pm 2.87	22.25 \pm 3.99	23.88 \pm 2.0
Número de Eyaculaciones	1.50 \pm 0.28	1.16 \pm 0.16	1.75 \pm 0.31	1.25 \pm 0.25	1.66 \pm 0.49	1.16 \pm 0.16
Latencias (s)						
Monta	237.1 \pm 100.90	91.00 \pm 47.20	113.00 \pm 52.27	326.3 \pm 254.70	89.75 \pm 60.95	74.88 \pm 40.37 [*]
Intromisión	894.9 \pm 415.54	162.60 \pm 57.81	113.00 \pm 52.27	609.30 \pm 289.60	247.90 \pm 95.45	134.80 \pm 41.54
Eyaculación	1662.00 \pm 569.70	1555.0 \pm 134.40	1111.0 \pm 174.20	1492.00 \pm 259.20	1323.00 \pm 207.80	1506.60 \pm 313.7
III (sec)	108.50 \pm 32.40	99.25 \pm 17.60	67.85 \pm 8.84	118.00 \pm 26.09	92.77 \pm 17.55	107.2 \pm 17.98
IML	1.59 \pm 0.05	1.53 \pm 0.05	1.57 \pm 0.04	1.54 \pm 0.06	1.57 \pm 0.05	1.61 \pm 0.02
QL (%)	76.79 \pm 5.35	85.23 \pm 1.98	84.22 \pm 1.21	75.67 \pm 8.62	86.26 \pm 1.62	85.51 \pm 2.80
Latencia de Retorno (s)						
Monta	93.38 \pm 35.57	35.06 \pm 12.96 [*]	56.59 \pm 29.08	71.69 \pm 19.15	23.19 \pm 4.91	60.00 \pm 26.51
Intromisión	126.5 \pm 55.47	37.00 \pm 7.27	66.04 \pm 16.80	87.75 \pm 29.41	104.40 \pm 48.19	68.13 \pm 22.79
Eyaculación	86.00 \pm 8.75	63.00 \pm 6.02	84.00 \pm 19.45	89.88 \pm 21.40	79.54 \pm 10.39	95.08 \pm 19.71
Porcentajes de salida						
Monta	55.81 \pm 7.76	58.93 \pm 7.92	64.86 \pm 7.33 [#]	64.80 \pm 8.15	39.48 \pm 4.92 [*]	33.64 \pm 4.94 [*]
Intromisión	65.57 \pm 7.10	74.76 \pm 7.19	75.20 \pm 4.52	78.67 \pm 6.88	79.98 \pm 4.87	75.41 \pm 3.98
Eyaculación	100	100	100	100	100	100

Porcentaje de sujetos que recibieron eyaculación	50	75	100	50	75	75
--	----	----	-----	----	----	----

Diferente del grupo cópula regulada + ejercicio en la misma semana $P < 0.05$.

*Diferente de la semana 1 en el mismo grupo. $P < 0.05$

S = segundos.

3.1.1 Comparación entre sesiones semanales

Con la prueba de Friedman de medidas repetidas, se realizaron las comparaciones entre sesiones semanales de conducta, dentro de los grupos de cópula regulada y cópula regulada + ejercicio.

Grupo de cópula regulada

En el grupo de cópula regulada, el número de intromisiones fue significativamente mayor en la Semana 10 ($X^2(2) = 6.250$, $p = 0.047$), respecto a la Semana 1 ($q = 3.536$). Se observan las diferencias en la figura 16.a. De igual forma, la latencia de retorno por monta ($X^2(2) = 7.806$, $p = 0.018$) fue significativamente menor en la Semana 5, respecto a la Semana 1 ($q = 3.889$). Se observan las diferencias en la figura 16.b. No hubo diferencias significativas para el resto de los parámetros. Prueba Friedman de medidas repetidas.

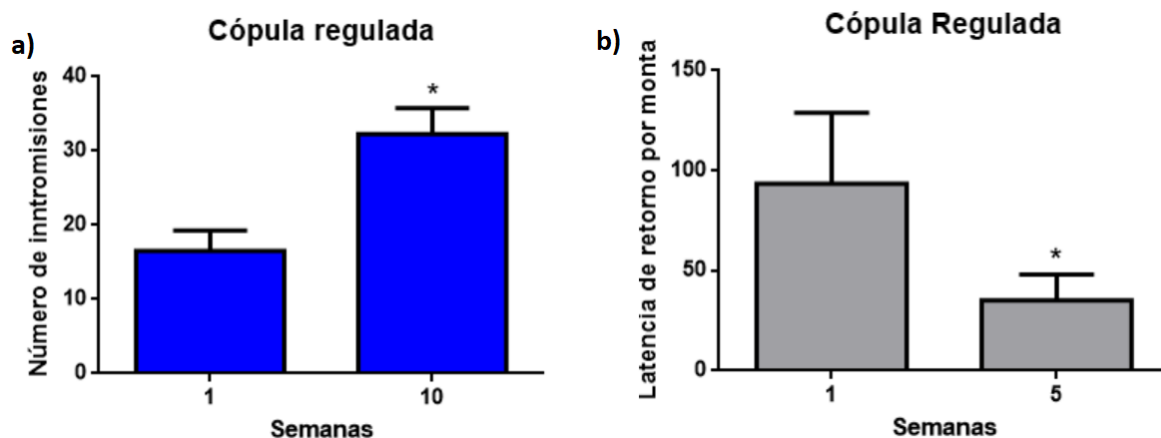


Figura 16. Parámetros con diferencias significativas para el grupo de Cópula regulada. **A)** Número de intromisiones en las semanas 1 y 10. **B)** Latencia de retorno por monta en segundos. Se representan los datos en media + - el error estándar.

*Diferente de la sesión 1; $p < 0.05$, U de Mann-Whitney

Grupo de cópula regulada + ejercicio

Como se observa en la figura 17, en el grupo de cópula regulada + ejercicio, la latencia de monta fue menor ($X^2(2) = 7.000$, $p = 0.030$) en la Semana 10 ($q=3.536$) respecto a la Semana 1. De igual manera, el porcentaje de salida por monta fue significativamente menor ($X^2(2) = 9.250$, $p = 0.008$), en las Semanas 10 ($q= 3.359$) y 5 ($q= 3.536$), respecto a la Semana 1. No hubo diferencias significativas para el resto de los parámetros. Prueba Friedman de medidas repetidas.

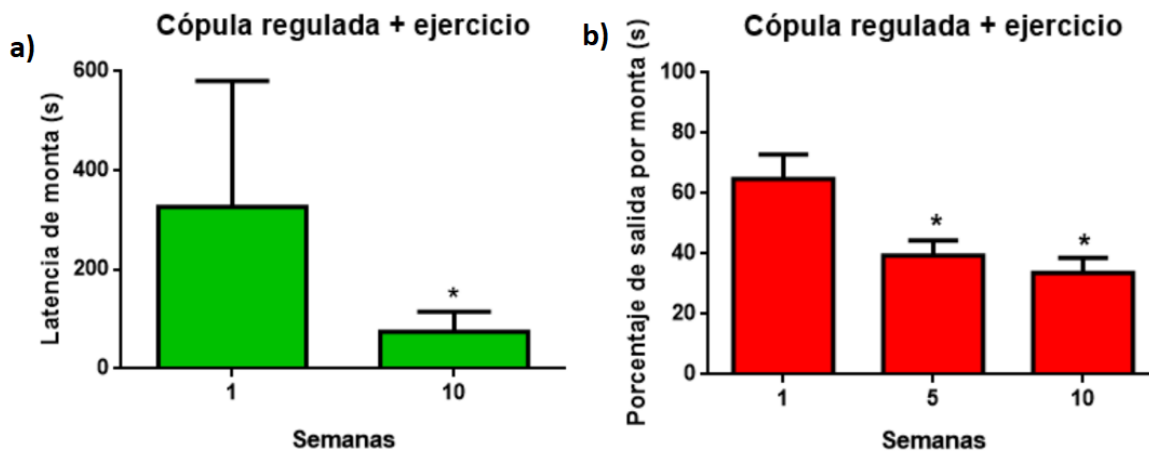


Figura 17. Parámetros con diferencias significativas para el grupo de Cópula regulada + ejercicio. **A)** Latencia de monta en segundos (s), en las semanas 1 y 10. **B)** Porcentaje de salida por monta en segundos (s). Se representan los datos en media + - el error estándar.

*Diferente de la sesión 1; $p < 0.05$, U de Mann-Whitney.

3.1.2. Comparación entre grupos por sesión

Para la Semana 10, el número de intromisiones ($U = 11.500$, $T = 88.500$, $p = 0.028$) y el porcentaje de salidas de monta ($U = 4.000$, $T = 96.000$, $p = 0.002$) fueron significativamente mayores en el grupo de cópula regulada respecto al grupo de cópula regulada+ ejercicio, como puede verse en la figura 18. No hubo diferencias significativas en el resto de los parámetros para las demás semanas con la prueba de U Mann-Whitney (Ver anexo 1. Tablas 4.2; 4.3 y 4.4).

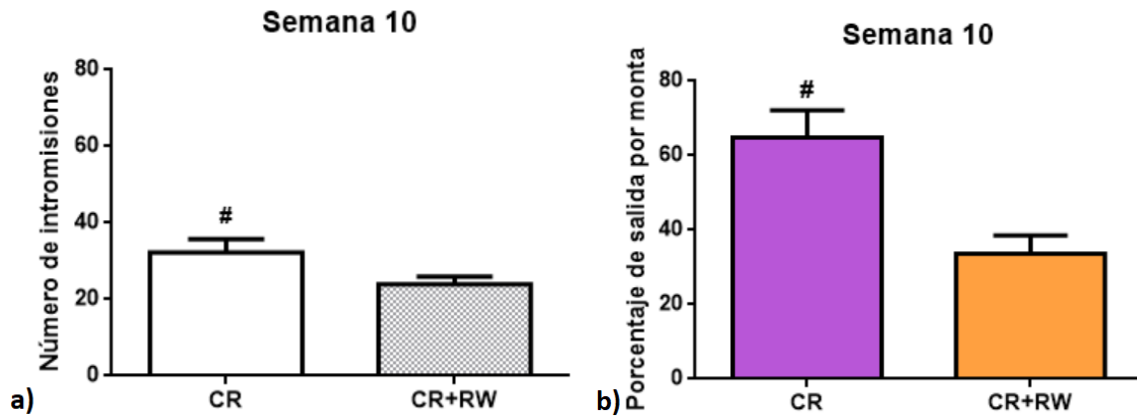


Figura 18. Parámetros con diferencias significativas entre los grupos de cópula regulada (CR) y cópula regulada+ ejercicio (CR+RW) en la semana 10. **A)** Número de intrusiones. **B)** Porcentaje de salida por monta en segundos (s). Se representan los datos en media + - el error estándar.

Diferente del grupo cópula regulada + ejercicio en la misma semana $P < 0.05$; U de Mann-Whitney.

3.2 Rueda de ejercicio, cópula regulada + ejercicio y prueba de campo abierto

Se tomó el grupo campo abierto como grupo control, para comparar desempeño con respecto a prueba de ejercicio y ejercicio con copula regulada realizados de manera simultánea.

3.2.1 Comparación entre sesiones semanales de conducta.

Se realizaron las comparaciones entre las semanas en las que se realizó cada tipo de conducta, dentro de cada grupo. En la Figura 19.a. se presentan las distancias recorridas por los grupos sometidos a cópula regulada + ejercicio, ejercicio y campo abierto, junto con las diferencias encontradas al realizar la comparación entre las sesiones conductuales, con la prueba de Friedman de medidas repetidas y resumen los resultados para cada uno de los grupos.

Cópula regulada-ejercicio Vs ejercicio Vs campo abierto

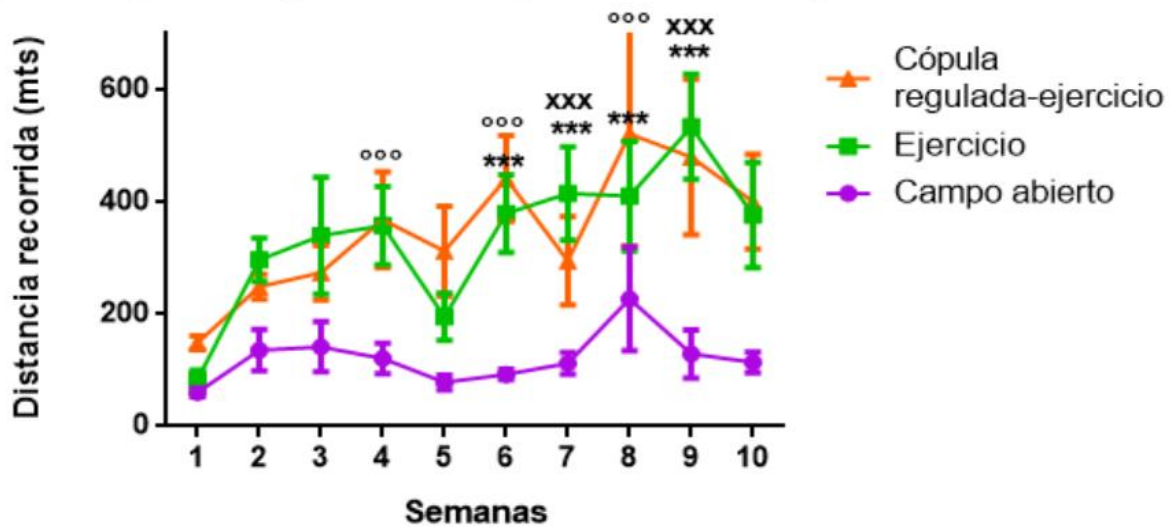


Figura 19. a) Distancia en metros recorrida por los diferentes grupos (n=8). Se representan los datos como promedio +- error estándar. Comparación entre sesiones para cada grupo.

*** Diferencias respecto a la Semana 1, dentro del grupo de ejercicio. $P < 0.001$.

xxx Diferencias respecto a la Semana 5, dentro del grupo de ejercicio. $P < 0.001$.

°°° Diferencias respecto a la Semana 1, dentro grupo de cópula regulada-ejercicio. $P < 0.001$.

Ejercicio

Se encontraron diferencias significativas en el grupo sometido a ejercicio ($X^2(9) = 42,382$, $p < 0,001$). Como puede observarse en la figura 19.a las hembras de este grupo corrieron más en la Semana 6 ($q = 4.554$) y 8 ($q = 4.905$) con respecto a la Semana 1. En la Semana 7 corrieron más respecto a la Semana 5 ($q = 4.788$) y a la Semana 1 ($q = 6.306$). De igual forma, en la Semana 9 corrieron más respecto a la Semana 5 ($q = 6.189$) y a la Semana 1 ($q = 7.707$).

Cópula regulada + ejercicio

Para el grupo de cópula regulada + ejercicio, también encontramos diferencias significativas ($X^2(9) = 31,080$, $p < 0,001$). Los sujetos corrieron más en las Semanas 4 ($q = 4.671$), 6 ($q = 6.306$), 8 ($q = 5.547$) y 9 ($q = 5.313$), respecto de la Semana 1. Además, presentaron una tendencia similar al grupo sometido a ejercicio, en la que la distancia recorrida fue mayor a lo largo del tiempo (Figura 19.a).

Campo Abierto

No hubo diferencias a lo largo del tiempo, en la distancia recorrida para el grupo de campo abierto ($X^2(9) = 16,773$, $p = 0.052$, Figura 19. a).

3.2.2 Comparaciones entre grupos por sesión semanal.

La Figura 19.b. resume los resultados de la distancia recorrida y las diferencias encontradas al realizar la comparación semanal entre los grupos sometidos a cada conducta, con la prueba de Kruskal-Wallis.

Cópula regulada-ejercicio Vs ejercicio Vs campo abierto

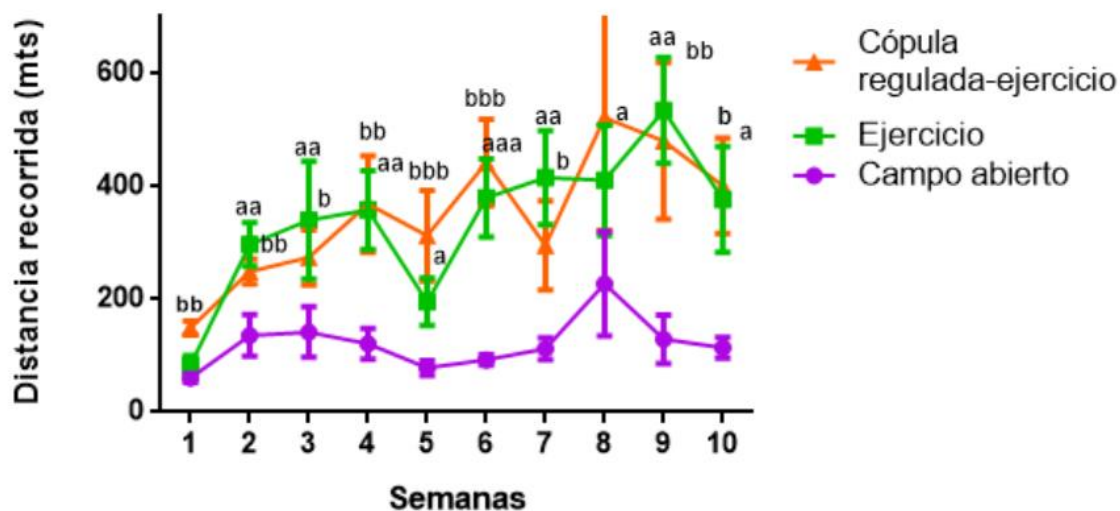


Figura 19. b) Distancia en metros recorrida por los diferentes grupos ($n=8$). Se representan los datos como promedio \pm error estándar. Comparación entre grupos para cada sesión.

a Diferencias entre el grupo de ejercicio respecto a campo abierto: $P < 0.05$; aa $P < 0.01$; aaa $P < 0.001$.

b Diferencias entre el grupo de cópula regulada+ejercicio y campo abierto: $P < 0.05$; bb $P < 0.01$; bbb $P < 0.001$.

Como puede observarse en la Figura 19.b, en la Semana 1, el grupo de cópula regulada + ejercicio recorrió mayor distancia ($MWU = 0.000$, $p = < 0.001$), que el grupo de campo abierto (KWT , $H = 13.040$, $p = 0.001$). Durante la Semana 8, el grupo sometido a ejercicio (KWT , $H = 4.655$, $p = 0.048$), corrió mayor distancia que el grupo de campo abierto

(MWU = 12000, $p = 0.038$). No hubo diferencias al comparar el grupo de cópula regulada + ejercicio con el de ejercicio (MWU = 31.000, $p = 0.959$), ni con el de campo abierto (MWU = 17.000, $p = 0.130$). Para el resto de las Semanas 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9 y 10 los grupos de ejercicio y cópula regulada + ejercicio, recorrieron una mayor distancia que el grupo de campo abierto. (Ver anexo 2. Tabla 3.1). Al comparar los grupos sometidos a ejercicio y cópula regulada + ejercicio, no hubo diferencias significativas entre ellos en las distancias recorridas en ninguna sesión.

Nuestros resultados demuestran que el grupo cópula regulada + ejercicio, alterna el despliegue de ambas conductas motivadas, recorriendo distancias similares en la rueda, que el grupo que solamente pudo utilizar la rueda. También es claro que los grupos experimentales (ejercicio y cópula regulada + ejercicio), recorrieron mayor distancia que el grupo control (campo abierto), en la mayoría de las semanas.

3.3 Resonancia magnética

Las imágenes obtenidas mediante resonancia magnética se analizaron usando regiones de interés (ROI) de las áreas que se relacionan con el control de las conductas motivadas, específicamente las áreas más representativas que componen el circuito de recompensa y el circuito de conducta social. Teniendo en cuenta que éste último circuito comprende conducta sexual, agresiva y materna, nos referiremos a este circuito como circuito socio-sexual, ya que en el presente trabajo no nos enfocamos en conductas agresivas ni maternidad. Se compararon los 5 grupos en las semanas en las que se tomaron las imágenes: Semanas 0, 1, 5 y 10.

A continuación, en la Figura 20, se ve un ejemplo de una de las imágenes de resonancia, a partir de las cuales se realizaron los análisis de valores de intensidad de señal.

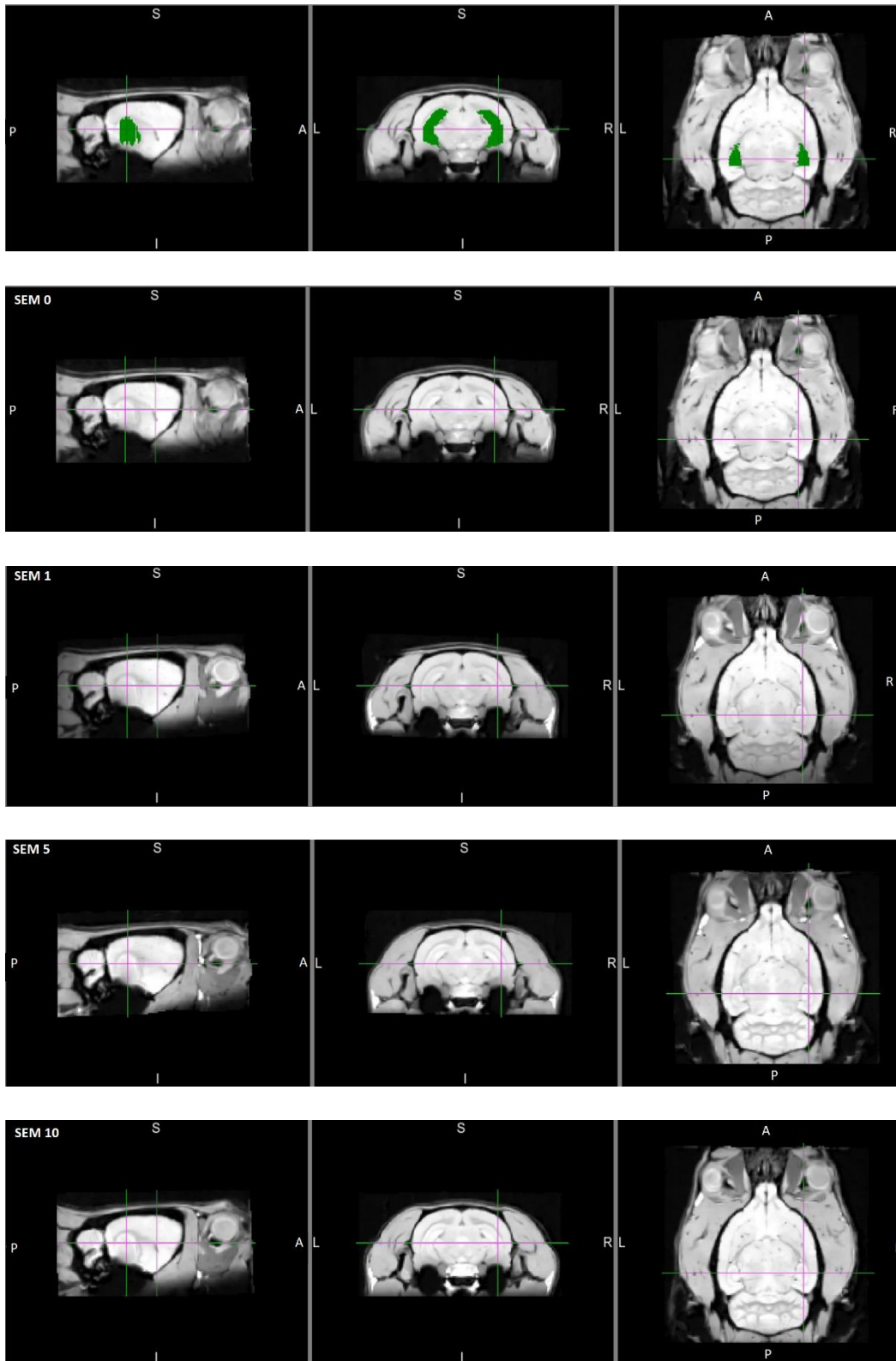


Figura 20. Imagen de resonancia magnética (secuencia T1-3DFLASH) procesada, correspondiente a la cabeza de rata hembra perteneciente al grupo de cópula regulada, se observa el cerebro en la parte central. De izquierda a derecha se observan los planos sagital, coronal y transversal (Coordenadas FSLVIEW:

X=53; Y=52; Z=39). En la primera fila se muestra el ROI correspondiente al hipocampo en color verde. La segunda, tercera, cuarta y quinta fila corresponden a imágenes a través del tiempo tomadas en las semanas 0, 1, 5 y 10 respectivamente en el mismo sujeto. (SEM = Semana).

3.3.1 Análisis por estructuras

Dentro de cada grupo se compararon las sesiones en las que se tomaron las imágenes de resonancia (Semanas 0, 1, 5 y 10) con la prueba de Friedman de medidas repetidas. Encontramos que varias de las estructuras estudiadas, presentaron mayor intensidad de señal entre sesiones a través del tiempo, únicamente en los grupos de cópula regulada y campo abierto.

A continuación, se presenta en la tabla 2 las estructuras con mayor intensidad de señal a través del tiempo, para el grupo de cópula regulada.

Tabla 2. Intensidad de la señal en diferentes estructuras analizadas a lo largo de las diferentes semanas (S0 = Semana 0; S1= Semana 1; S5 = Semana 5; S10 = Semana 10) para el grupo de cópula regulada. Valores estadísticos significativos correspondientes a la prueba de Friedman de medidas repetidas.

Estructura	Valor estadístico prueba de Friedman	Comparación	Valor q	Diferencias en el grupo de cópula regulada
NACC	$X^2(3) = 9.150, p = 0.027$	S1 vs S0	3.834	Mayor intensidad en la S1 vs S0.
STR	$X^2(3) = 10.650, p = 0.014$	S1 vs S0	3.834	Mayor intensidad en la S1 y S10 vs S0.
		S10 vs S0	4.108	
Hipp	$X^2(3) = 13.350, p = 0.016$	S1 vs S0	4.108	Mayor intensidad en la S1 vs S0.
OB	$X^2(3) = 13.350, p = 0.004$	S1 vs S0	4.108	Mayor intensidad en la S1 y S10 vs S0.
		S10 vs S0	4.656	
BNST	$X^2(3) = 13.050, p = 0.005$	S1 vs S0	4.108	Mayor intensidad en la S1 y S10 vs S0.
		S10 vs S0	4.656	
MPOA	$X^2(3) = 15.450, p = 0.001$	S1 vs S0	3.834	Mayor intensidad en la S1; S5 y S10 vs S0.
		S5 vs S0	4.108	
		S10 vs S0	5.203	

VMH	X2 (3) = 12.750, p =0.005	S1 vs S0	3.834	Mayor intensidad en la S1 y S5 SO.
		S5 vs S0	4.656	
AMG	X2 (3) = 10.050, p =0.018	S10 vs S0	3.843	Mayor intensidad en la S10 vs SO.

En el grupo de campo abierto, la intensidad de señal también fue significativamente mayor a través del tiempo en el BNST y el VMH, los resultados se resumen en la tabla 3:

Tabla 3. Intensidad de la señal en diferentes estructuras analizadas a lo largo de las diferentes semanas (S0 = Semana 0; S1= Semana 1; S5 = Semana 5; S10 = Semana 10) para el grupo de campo abierto. Valores estadísticos significativos correspondientes a la prueba de Friedman de medidas repetidas

Estructura	Valor estadístico prueba de Friedman	Comparación	Valor q	Diferencias en el grupo de campo abierto.
BNST	X2 (3) = 10.950, p=0.012.	S1 vs S0	3.560	Mayor intensidad en la S1 y S5 vs SO.
		S5 vs S0	3.560	
VMH	X2 (3) = 9.450, p=0.024.	S5 vs S0	4.108	Mayor intensidad en la S5 SO.

No hubo diferencias significativas en la intensidad de señal a través del tiempo, para los grupos de ejercicio, cópula regulada + ejercicio y ejercicio, en el NAcc, STR, Hipp, OB, BNST, MPOA, VMH y AMG. El VTA fue la única estructura que no presentó diferencias en la activación de señal en el tiempo, para ninguno de los grupos. Al realizar la comparación entre

los grupos en cada semana de resonancia, con la prueba de Kruskal-Wallis, no hubo ninguna diferencia en la intensidad de señal entre los grupos, para ninguna de las estructuras.

Los valores de intensidad de señal y sus diferencias a través del tiempo para cada estructura, se ilustran en las Figuras 21 y 22.

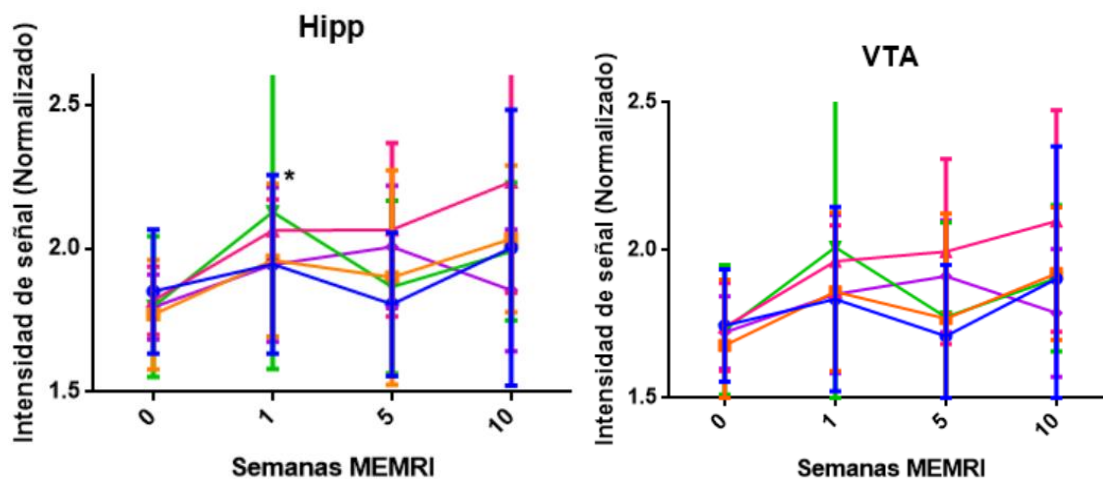
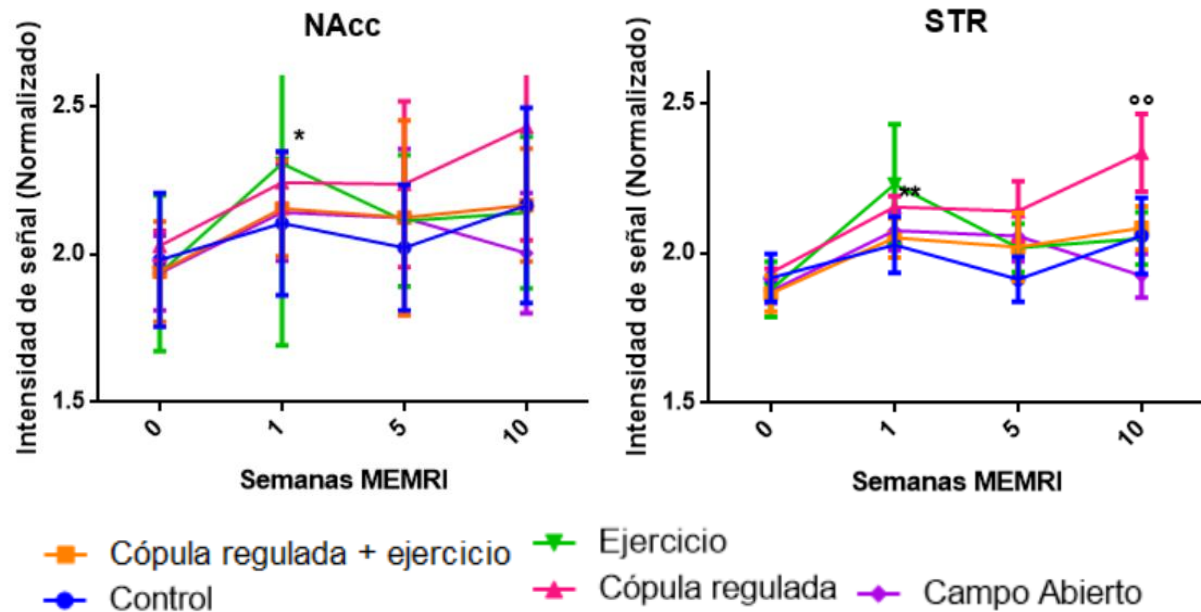
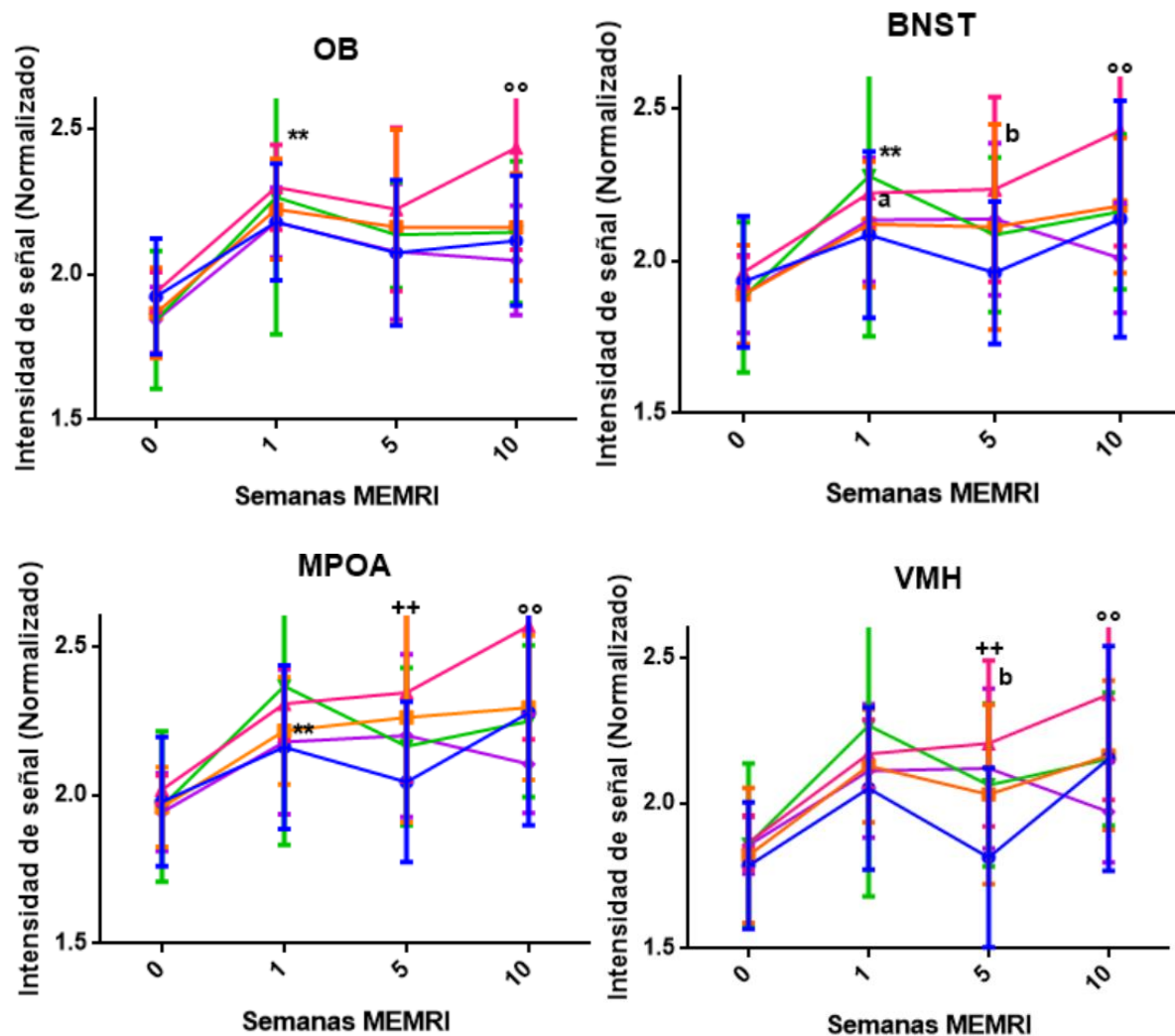


Figura 21. Intensidad de señal en el núcleo accumbens (NAcc), núcleo estriado (STR), hipocampo (Hipp) y área tegmental ventral (VTA), para todos los grupos en las Semanas 0, 1, 5 y 10. Los datos se expresan como media +- error estándar.

* Diferencias del grupo de cópula regulada en la Semana 1 respecto a la Semana 0. $P < 0.05$. ** $P < 0.01$

°° Diferencias del grupo de cópula regulada en la Semana 10 respecto a la Semana 0. $P < 0.01$.



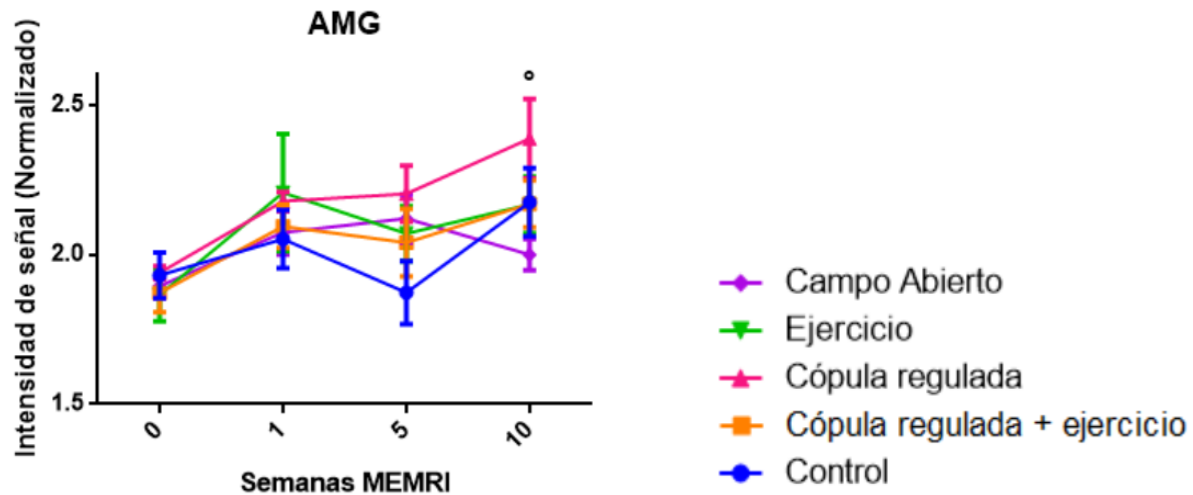


Figura 22. Intensidad de señal en el bulbo olfatorio (OB), núcleo de la cama de la estría terminal (BNST), área preóptica medial (MPOA), hipotálamo ventromedial (VMH) y amígdala (AMG) para todos los grupos en las semanas 0, 1, 5 y 10. Los datos se expresan como media \pm error estándar.

** Diferencias del grupo de cópula regulada en la Semana 1 respecto a la Semana 0. $P < 0.01$.

++ Diferencias del grupo de cópula regulada en la Semana 5 respecto a la Semana 0. $P < 0.01$.

° Diferencias del grupo de cópula regulada en la Semana 10 respecto a la Semana 0. $P < 0.05$. °° $P < 0.01$.

a Diferencias del grupo de campo abierto en la Semana 1 respecto a la Semana 0. $P < 0.05$.

b Diferencias del grupo de campo abierto en la Semana 5 respecto a la Semana 0. $P < 0.05$.

3.3.2 Circuitos cerebrales

3.3.2.1 Circuito de recompensa

Los valores de intensidad de señal y los resultados de las comparaciones entre semanas de resonancia dentro el mismo grupo realizadas con la prueba de Friedman de medidas repetidas para el circuito de recompensa se ilustran en la siguiente Figura 23.a.

Circuito de recompensa: Comparación entre semanas por grupo

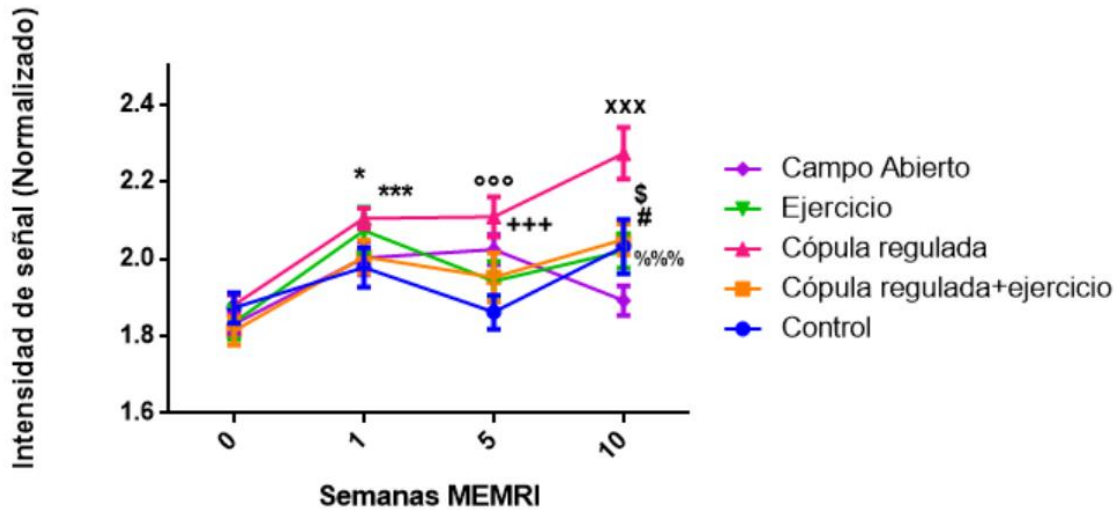


Figura 23.a) Valores de intensidad de señal de cada grupo (n = 8) para el circuito de recompensa (NAcc, STR, Hipp, VTA.). Comparación entre semanas, por grupo.

* Diferencias Semana 1 respecto a la 0. P < 0.05 grupo de ejercicio; *** P < 0.001 grupo de cópula regulada.

°°° Diferencias Semana 5 respecto a la 0. P < 0.001 grupo de cópula regulada; +++ grupo de campo abierto.

Diferencias Semana 10 respecto a la 0. P < 0.05 grupo ejercicio; \$ grupo cópula regulada -ejercicio; xxx P < 0.001 grupo cópula.

%%%. Diferencias Semana 10 respecto a la 5 en grupo de campo abierto. P < 0.001

Como se observa en la Figura 23.a, en el circuito de recompensa, el grupo control no presentó diferencias significativas en la intensidad de señal a lo largo del tiempo ($X^2(3) = 6,938$, $p = 0.074$). En cambio, el grupo de cópula regulada + ejercicio ($X^2(3) = 8,354$, $p = 0.039$), presentó diferencias significativas en la Semana 10, siendo la intensidad de señal, mayor respecto a la Semana 0 ($q = 3.834$, $p < 0.05$). En el grupo de cópula regulada, se observó un aumento significativo de la intensidad de señal ($X^2(3) = 34.313$, $p = < 0.001$) en las Semanas 1 ($q = 6.983$), 5 ($q = 6.573$) y 10, ($q = 6.710$), respecto a la Semana 0. Para el grupo de ejercicio, la tendencia fue similar ($X^2(3) = 10.425$, $p = 0.015$), ya que las Semanas 1 ($q = 3.834$) y 10 ($q = 3.834$), tuvieron mayor intensidad de señal que la Semana 0. Finalmente, para en el grupo de campo abierto, la intensidad de señal también fue mayor ($X^2(3) = 22.762$, $p = < 0.001$) en la Semana 5 ($q = 6.436$) respecto a la Semana 0 y en la Semana 10 ($q = 793$) respecto a la Semana 5.

Comparaciones entre grupos por semana

En la Figura 23.b se presentan los valores de intensidad de señal y las diferencias entre grupos por semana, al realizar la prueba de Kruskal-Wallis.

Circuito de recompensa: Comparación entre grupos por semana

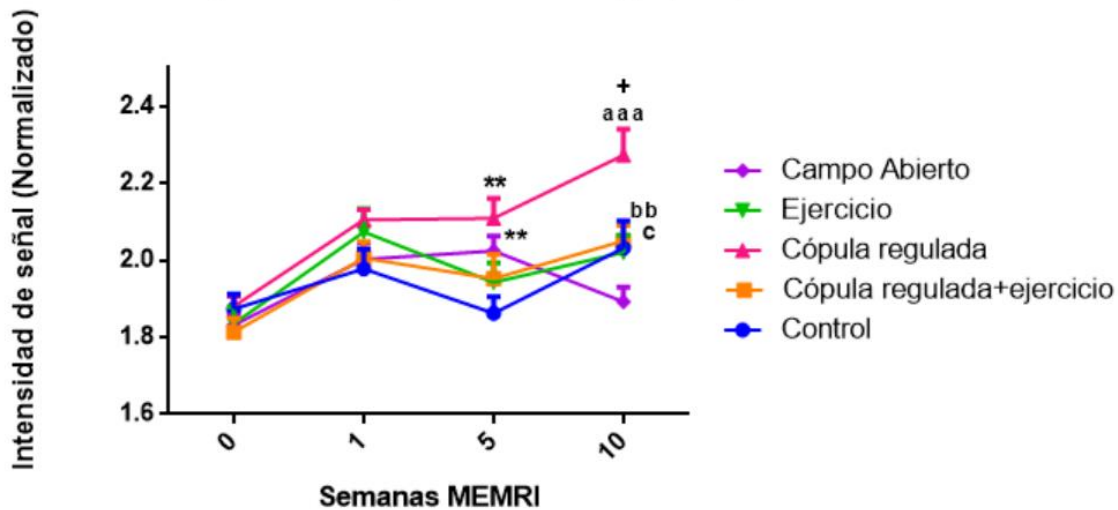


Figura 23.b). Valores de intensidad de señal de cada grupo (n = 8) para el circuito de recompensa (NAcc, STR, Hipp, VTA). Comparación entre grupos por semana.

** Diferencias respecto al control, $P < 0.01$ grupo de cópula regulada y campo abierto en Semana 5.

aaa Diferencias en grupo de cópula respecto a campo abierto en Semana 10 $P < 0.001$;

+ diferencia del grupo de cópula regulada con el resto de los grupos en la Semana 10, $P < 0.05$.

c Diferencias respecto a campo abierto en la Semana 10. $P < 0.05$ cópula regulada-ejercicio; bb $P < 0.01$ ejercicio.

En cuanto a las diferencias entre los grupos que aparecen en la figura 23.b, no se presentaron diferencias entre ellos en la Semana 0 (KWT, $H = 2.067$, $df = 4$, $p = 0.723$) y la Semana 1 (KWT, $H = 7.937$, $df = 4$, $p = 0.094$). En la Semana 5, la intensidad de señal fue significativamente mayor (KWT, $H = 12.822$, $df = 4$, $p = 0.012$) en los grupos de cópula regulada (MWU = 272, $T = 800$, $p = 0.001$) y campo abierto (MWU = 316, $T = 844$, $p = 0.009$), respecto al control. Para la Semana 10 (KWT, $H = 19.701$, $df = 4$, $p = < 0.001$), hubo un incremento significativo en la intensidad de señal, en el grupo de cópula regulada, respecto al control (MWU=352, $T = 880$, $p = 0.032$). En esta misma, el grupo de cópula regulada presentó mayor intensidad de señal que el grupo de cópula regulada + ejercicio (MWU=348, $T = 867$, $p = 0.028$), ejercicio (MWU = 1337, $T = 1215$, $p = 0.019$) y campo abierto (MWU = 207, $T = 1345$, $p = <$

0.001). Finalmente, los grupos de cópula regulada + ejercicio (MWU = 310, T = 1242 p = 0.007) y ejercicio (MWU = 344, T = 1208, p = 0.025), obtuvieron una mayor intensidad de señal, respecto al grupo de campo abierto (Figura 21.b).

3.3.2.2 Circuito socio-sexual

Para el circuito socio-sexual, los valores de intensidad de señal y los resultados al comparar las semanas de resonancia para cada grupo con la prueba de Friedman de medidas repetidas se ilustran en la figura 24.a.

Circuito socio-sexual: Comparación entre semanas por grupo

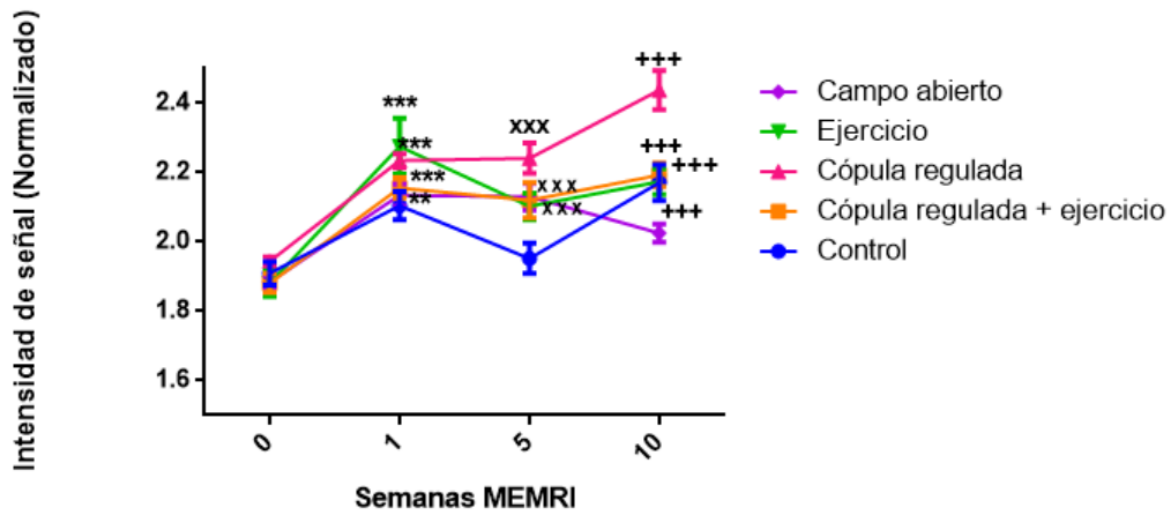


Figura 24 a). Valores de intensidad de señal de cada grupo (n=8) para el circuito socio-sexual (OB, BNST, MPOA, VMH, AMG). Comparación entre sesiones por grupo.

Diferencias en la semana 1 respecto a la semana 0 para el grupo control. P < 0.01; ejercicio y grupo de cópula regulada P < 0.001 *

xxx Diferencias en la semana 5 respecto a la semana 0 grupo de cópula regulada + grupo de ejercicio. P < 0.001.

+++ Diferencias en la semana 10 respecto a la semana 0, cópula regulada, campo abierto, ejercicio y cópula regulada + ejercicio. P < 0.001

Para el circuito de conducta socio-sexual, se presentaron diferencias a través del tiempo en todos los grupos. En el grupo control (X² (3) = 14,550, p = 0.002), la semana 1 (q = 5.203), presentó mayor intensidad de señal, respecto a la semana 0. Para cópula regulada

+ ejercicio ($X^2(3) = 15,759$ $p = 0.001$), en la semana 1 ($q = 5.066$) hubo mayor intensidad de señal que en la semana 0. En el grupo de cópula regulada ($X^2(3) = 52.612$, $p < 0.001$), para las semanas 1 ($q = 7.805$), 5 ($q = 6.710$) y 10 ($q = 9.585$), hubo un incremento significativo, respecto a la semana 0. De igual forma, en el grupo de ejercicio también la intensidad de señal fue mayor ($X^2(3) = 23.475$, $p < 0.001$) en las semanas 1 ($q = 6.299$), 5 ($q = 4.108$) y 10 ($q = 5.477$), respecto a la semana 0. Finalmente, en el grupo de campo abierto ($X^2(3) = 32.850$, $p < 0.001$), en las semanas 1 ($q = 6.573$), 5 ($q = 7.394$) y 10 ($q = 4.656$), también hubo mayor intensidad de señal, respecto a las semanas 0.

Comparaciones entre grupos por sesión.

En la Figura 24. b se ilustran los valores de intensidad de señal y las diferencias entre los grupos, en cada semana para el circuito socio-sexual, luego de aplicar la prueba de Kruskal-Wallis.

Circuito socio-sexual: Comparación entre grupos por semana

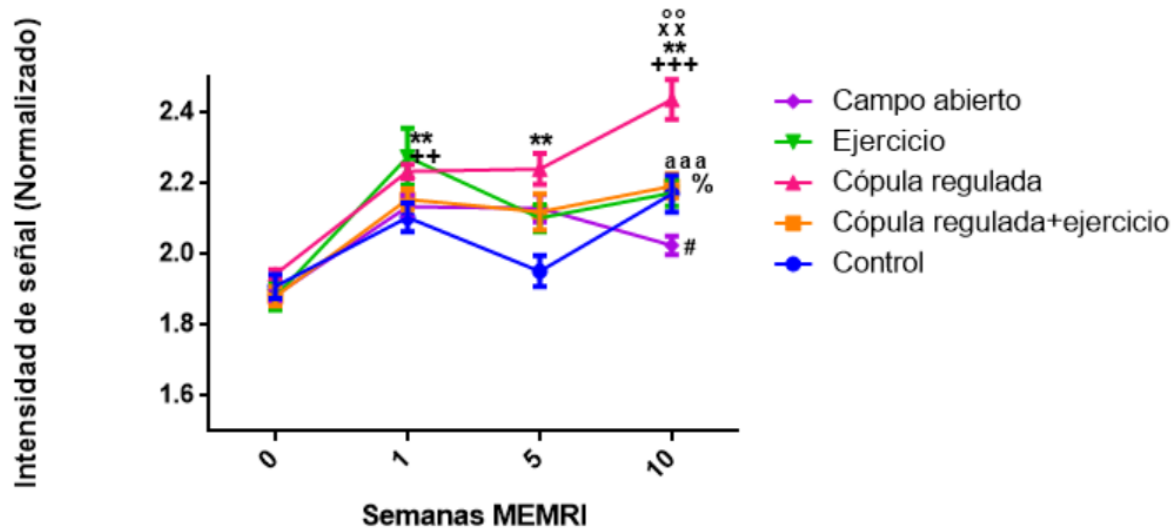


Figura 24 b). Valores de intensidad de señal de cada grupo (n=8) para el circuito socio-sexual (OB, BNST, MPOA, VMH, AMG). Comparación entre grupos por semanas.

++;Diferencias del grupo de cópula regulada respecto a campo abierto. $P < 0.01$: +++ $P < 0.001$

**Diferencias del grupo de cópula regulada respecto al control. $P < 0.01$

xx Diferencias del grupo de cópula regulada respecto a cópula regulada-ejercicio. $P < 0.01$.

°° Diferencias del grupo de cópula regulada respecto a ejercicio. $P < 0.01$.

[#] Diferencias del grupo de campo abierto respecto al control. $P < 0.05$.

[%] Diferencias del grupo de ejercicio respecto al campo abierto. $P < 0.05$.

^{aaa} Diferencias de cópula regulada-ejercicio respecto al campo abierto. $P < 0.001$

La intensidad de señal fue la misma en todos los grupos para la Semana 0 (KWT, $H = 4.046$, $df = 4$, $p = 0.400$). En las sesiones experimentales, si hubo diferencias entre los grupos. Para la Semana 1 (KWT, $H = 11.415$, $df = 4$, $p = 0.022$), el grupo de cópula regulada tuvo mayor intensidad respecto al control (MWU = 306, $T = 834$, $p = 0.006$) y al grupo de campo abierto (MWU = 294, $T = 1258$, $p = 0.003$). En la Semana 5, hubo mayor intensidad de señal (KWT, $H = 11.165$, $df = 4$, $p = 0.025$) en los grupos de cópula regulada (MWU = 271, $T = 799$, $p = 0.001$) y campo abierto (MWU = 344, $T = 872$, $p = 0.025$), respecto al control. En la Semana 10 (KWT, $H = 29.631$, $df = 4$, $p = < 0.001$), el grupo de cópula regulada tuvo mayor intensidad que todos los demás grupos: control (MWU = 288, $T = 816$, $p = 0.003$), cópula regulada + ejercicio (MWU = 288, $T = 816$, $p = 0.003$), ejercicio (MWU = 285, $T = 1267$, $p = 0.002$) y campo abierto (MWU = 142, $T = 1410$, $p = < 0.001$). El grupo de campo abierto tuvo menor intensidad de señal respecto al grupo control (MWU = 322, $T = 1220$, $p = 0.016$). Finalmente, para los grupos de ejercicio (MWU = 322, $T = 1230$, $p = 0.011$) y cópula regulada + ejercicio (MWU = 285, $T = 1267$, $p = 0.002$), también la intensidad de señal fue mayor, respecto al grupo de campo abierto.

Capítulo 4. Discusión

Los resultados de la prueba de conducta sexual demuestran que tanto las hembras del grupo cópula regulada y copula regulada más ejercicio despliegan niveles de conducta sexual muy similares. Ambos grupos desplegaron niveles similares de IML y QL indicando que tenían niveles similares de receptividad. No presentaron diferencias significativas entre las sesiones dentro de cada grupo, tampoco hubo diferencias entre cópula regulada y cópula regulada + ejercicio, en cada sesión. En ambos grupos los valores promedio de IML estuvieron por encima de 1.5 en una escala de 2. Y el QL en todas las sesiones para ambos grupos estuvo por encima del 70%. Esto indica que las hembras estuvieron motivadas y receptivas durante todas las sesiones en ambos grupos (Erskine, 1989), independientemente de realizar ejercicio alternadamente con la conducta sexual. Un argumento similar se puede presentar respecto al III. El III está definido por las interacciones realizadas con el macho, quien busca intromisiones frecuentes y rápidas, sin embargo, en el pacing también depende de la hembra, ya que ésta tiene la oportunidad de regular la frecuencia de las intromisiones (Erskine, 1989). El III para ambos grupos fue similar, y el hecho de correr en la rueda, no lo modificó por la posibilidad de copular y/o utilizar la rueda.

Las LRM, LRI, y LRE son medidas la motivación sexual de la hembra, si una hembra se encuentra motivada, ésta tardará menos tiempo en regresar con el macho (Guarraci & Benson, 2005), con el fin de buscar su máxima estimulación (Erskine & Hanrahan, 1997). No encontramos diferencias en las latencias de regreso de intromisión y eyaculación entre los grupos.

El %PSM en la Semana 10 fue significativamente mayor en el grupo de cópula regulada, que en el de cópula regulada + ejercicio como se observa en la figura 18.b. Para el grupo de cópula regulada + ejercicio, el %SM si fue significativamente menor en las Semanas 5 y 10, respecto a la Semana 1. Esto concuerda con la literatura en la que se ha descrito que una vez que la hembra recibe una estimulación intensa tiende a alejarse del macho y salir de su compartimento (Erskine, 1989). Entre más intenso sea el estímulo más probable será que ocurra este comportamiento. Al ser la monta el estímulo menos intenso, la rata va a tender a salir lo menos en comparación cuando recibe un estímulo de mayor intensidad, como una intromisión

(Erskine, 1985, 1989). Esto puede relacionarse también con la experiencia puesto que en las semanas 5 y 10 la hembra ya ha aprendido a distinguir una monta de una intromisión y sabe cuándo un estímulo es o no, lo suficientemente intenso para retirarse o quedarse. Pudiera ser que las hembras del grupo copula regulada y ejercicio tengan una excitación física generalizada mayor que las que únicamente copulan y la estimulación de una monta no es de suficiente intensidad para salir después de recibir el estímulo en las sesiones 5 y 10. Los %PRI y %PRE no mostraron diferencias significativas.

Los machos desplegaron mayor número de intromisiones en la semana 10 con respecto a la semana 1 y con respecto al grupo de copula regulada mas ejercicio en la misma semana. Esto puede deberse una situación particular con los machos de ese grupo que requirieron mayor numero de intromisiones para eyacular, probablemente un efecto espurio. La LM en el grupo de cópula regulada + ejercicio fue significativamente menor en la Semana 10 respecto a la Semana 1 como se ilustró en la figura 17.a. Es muy posible que, debido a la experiencia, los machos aprendieran a distinguir si la hembra pasaba tiempo fuera del compartimento del macho, para correr en la rueda, o si se trataba de una hembra que no tenía esa distracción y se concentraba solo en la cópula. En caso de que fuera una hembra corredora, el macho, al ver que la hembra pasaba menos tiempo con él, se concentró en interactuar con ella a la primera oportunidad. Por lo que las latencias de monta fueron significativamente menores.

En resumen, el desempeño en la conducta sexual entre los grupos fue similar en la mayoría de los parámetros. Ambos grupos presentaron niveles similares de receptividad como puede observarse en la IML y el QL. De igual manera ambos grupos desplegaron conductas pre copulatorias similares debido a que no hubo diferencias significativas en las LR. Respecto a los %S, no hubo diferencias en la mayoría de las sesiones. Por lo anterior se puede sugerir que las hembras en ambos grupos estuvieron sexualmente motivadas y que alternar la conducta sexual con el ejercicio, no comprometió el desempeño sexual de manera significativa. Por lo tanto, los resultados observados en los niveles de intensidad de señal de las imágenes de resonancia ilustrados en las figuras 21, 22, 23 y 24, no se deben a diferencias en el desempeño de la conducta sexual de la hembra entre los grupos de cópula y cópula regulada + ejercicio. Se deben a la diferencia en la activación de los circuitos como consecuencia de estas conductas.

Los resultados de las pruebas conductuales de la rueda de ejercicio, demostraron que la distancia recorrida aumenta significativamente con la experiencia como se ilustra en la figura 19.a, luego de algunas semanas de ejecución de la conducta, en ambos grupos experimentales. En el caso del grupo de ejercicio esto ocurrió a partir de la Semana 6 y en grupo de cópula regulada + ejercicio a partir de la Semana 4. Se observó que las distancias recorridas entre ambos grupos no fueron significativamente diferentes para ninguna semana (figura 19.b). Esto demuestra que realizar estas dos conductas en una misma sesión, como lo hizo el grupo de cópula regulada + ejercicio, no afecta el rendimiento al correr en la rueda, y ambas conductas pueden alternarse, alcanzando los mismos resultados que el grupo que realiza ejercicio solamente. Esto permite resaltar que realizar la cópula regulada, no refuerza ni disminuye la actividad motora para correr. Lo que tiene efecto sobre dicha actividad, son los cambios en el ciclo ovárico, algunos de los cuales se ha demostrado que facilitan la conducta sexual (Meyerson et al., 1973; Steiner et al., 1981). En el presente experimento todos los grupos realizaron su conducta, en las mismas condiciones de suplemento hormonal, para eliminar los cambios del ciclo ovárico que presentan las ratas intactas. Por otro lado, los grupos experimentales que utilizaron la rueda, recorrieron más distancia respecto al grupo de campo abierto (el grupo de campo abierto fue utilizado como control respecto a los grupos de ejercicio y cópula regulada + ejercicio), éste último (campo abierto), no presentó un incremento en la distancia recorrida, a pesar de la experiencia. Estos resultados concuerdan con observaciones previas que indican que el uso de la rueda de ejercicio induce estados afectivos positivos (Greenwood et al. 2011).

Identificación y comparación por MEMRI, de las estructuras cerebrales que se activaron por las conductas motivadas de cópula regulada y uso de la rueda de ejercicio

En cuanto a los resultados de las imágenes por MEMRI, encontramos que la conducta sexual en el grupo de cópula regulada, el NAcc, STR, el Hipp, el OB, el BNST y el MPOA mostraron activación significativa a través del tiempo, desde la primera ejecución de la conducta, respecto a su control. Para la Semana 10, hubo intensidad de señal significativamente mayor por primera vez, en el VMH y la AMG en el grupo de cópula regulada. En el OB, el

BNST y el MPOA las diferencias significativas se presentaron en la Semana 10, igual que en la Semana 1, en el grupo de cópula regulada respecto a la Semana control (Semana 0). En cuanto al grupo de cópula regulada + ejercicio, en el BNST se observaron diferencias significativas en la activación únicamente en la Semana 1 respecto a la semana control (Semana 0). El MPOA también presentó activación significativamente mayor en la Semana 1, y adicionalmente en la Semana 5 respecto a la semana control. Para el grupo de cópula regulada-ejercicio, no hubo activación significativa en el resto de las estructuras. El grupo de campo abierto presentó activación significativa, en la Semana 1 en el BNST, y nuevamente en la Semana 5 en el BNST y sólo una vez en el VMH en la Semana 5, respecto a la Semana 0. El resto de los grupos no presentó cambios. La única estructura que no presentó diferencias significativas fue el VTA. Como era esperado, el grupo de cópula regulada tuvo mayor activación a través del tiempo en 8 de las 9 estructuras estudiadas. Esto concuerda con lo mencionado anteriormente, en cuanto a que dichas estructuras se relacionan con los circuitos de recompensa y circuito de conducta social que están altamente ligados a la conducta sexual (Ventura-Aquino et al., 2018). También concuerda con los resultados encontrados al evaluar la presencia de neurogénesis, como resultado de la conducta sexual en estructuras como el bulbo olfatorio y el hipocampo (Bedos et al. 2018).

Circuito de Recompensa

Para el circuito de recompensa, en todos los grupos experimentales hubo activación cerebral significativa con la ejecución de las conductas: cópula regulada, cópula regulada-ejercicio, ejercicio y campo abierto. El grupo de cópula regulada y el grupo de ejercicio mostraron activación desde la Semana 1, al compararla con la Semana 0. De igual forma, el grupo de cópula regulada continuó con activación significativa en la Semana 5, mientras que la conducta exploratoria de campo abierto (control de ejercicio y cópula regulada-ejercicio), por primera vez en la misma semana, ambas en comparación a la Semana 0. Para la Semana 10, los grupos de cópula regulada, ejercicio junto con el grupo cópula regulada- ejercicio, presentaron activaciones significativas respecto a la Semana 0. Y el campo abierto fue el único que presentó activación de las sesiones experimentales, en la Semana 10 respecto a la 5. Siendo esta última semana la única en la que todos los grupos experimentales se activaron significativamente. De

todos los grupos, el de cópula regulada fue el único que se activó durante las 3 semanas experimentales. Como era esperado, en el grupo control, no hubo diferencia en la activación del circuito para ninguna semana, lo que indica que los cambios observados en los grupos experimentales se debieron a la ejecución de las conductas descritas.

Activación entre grupos para el circuito de recompensa

Al comparar los grupos, no hubo activación significativa en las primeras semanas sin conducta (0), con la primera exposición a la conducta (1), para el circuito de recompensa para ninguno de los grupos, por lo que no fue suficiente una primera exposición para activar dicho circuito. Para la Semana 5, ya con un poco de experiencia, únicamente el grupo de cópula regulada presentó mayor activación respecto al grupo control. Entre los grupos de conducta sexual (cópula regulada y cópula regulada-ejercicio), tampoco se presentaron diferencias en esta semana, al igual que entre el grupo ejercicio y cópula regulada-ejercicio. Por lo tanto, la cópula regulada y el ejercicio, ejecutados de manera alternada en una misma sesión, no activan el circuito de recompensa de manera distinta a como se activa al realizar cada conducta por separado en la Semana 5.

En cuanto a los grupos de conducta sexual, el grupo de cópula tuvo una mayor activación que el grupo de cópula y ejercicio, luego de 10 semanas. La cópula regulada es suficiente para activar el circuito de recompensa, desde la primera vez que se realizó la conducta hasta el final, y la activación como resultado de esta conducta, fue mayor. Respecto al grupo de cópula y ejercicio, al copular y correr alternadamente, se alcanzaron los mismos resultados que solamente corriendo, ya que no hubo diferencias en la activación. El de campo abierto solamente se activó en la semana 5. Por último, entre correr y copular, la cópula regulada produjo una mayor activación del circuito de recompensa en la Semana 10.

De todas las conductas descritas, la cópula regulada fue la que activó más el circuito de recompensa significativamente, lo que era de esperarse, ya que este circuito se ha relacionado con las conductas apetitivas (proceptividad) y los estados de recompensa que produce la conducta sexual (O'Connell et al. 2011). De igual forma, el ejercicio de correr en la rueda, aunque no activó el circuito de recompensa de la misma manera que la cópula, si lo activó

significativamente en la última semana. Lo anterior coincide con lo descrito en la literatura respecto a que ésta conducta se relaciona con estados afectivos positivos y con las vías dopaminérgicas, de las cuales una de ellas es la vía mesolímbica (Greenwood et al., 2011a).

Circuito Socio-Sexual

Para el circuito socio-sexual se presentaron cambios en todos los grupos en el tiempo. En el grupo de cópula regulada, hubo una activación significativa en la Semana 1 respecto a la Semana 0. Es decir, que la primera sesión de interacción sexual fue suficiente para activar este circuito. Para el grupo de ejercicio también ocurrió una activación significativa de este circuito, desde la Semana 1 respecto a la 0. Para la Semana 5, tanto el grupo de cópula regulada como el de ejercicio continuaron presentando activación significativa respecto a la Semana 0. Esto continuó en la Semana 10. Sin embargo, para el grupo de cópula y ejercicio, no hubo activación significativa hasta la Semana 10, respecto al control (Semana 0). Lo que indica que a partir de una conducta, en la que se alterna la cópula regulada con el ejercicio, la activación del circuito toma más tiempo que si se realiza la cópula regulada y el ejercicio por separado. En el grupo de campo abierto, también hubo activación en la primera vez que se ejecutó la conducta. Sin embargo, la intensidad de la señal disminuyó en las siguientes semanas, sugiriendo que es un incremento transitorio a diferencia de lo que ocurrió con el grupo de cópula regulada y cópula regulada-ejercicio, que mantuvieron una mayor activación en las siguientes semanas. Finalmente, para el grupo control, en la Semana 1 aumentó la intensidad en la primera semana respecto a la 0, aunque posteriormente la intensidad disminuyó.

En cuanto a las comparaciones entre grupos, no se presentaron diferencias en la Semana 0 (control). En este circuito socio- sexual, el grupo de cópula regulada tuvo una activación significativa respecto a los grupos de control y campo abierto, en la primera sesión de conducta (Semana 1). No hubo activación en ninguno de los demás grupos en esta semana. Esta misma tendencia se mantuvo hasta la Semana 5 respecto al grupo de cópula regulada. Ya para la última semana, con 10 semanas de experiencia, el circuito se activó más respecto al control, luego de realizar la cópula regulada y el campo abierto. Al realizar la cópula regulada únicamente, hubo una mayor activación que la obtenida al realizar cópula regulada y ejercicio

juntos, por lo que el hecho de combinar ambas conductas en la misma sesión de conducta, no produce cambios adicionales en la activación del circuito socio-sexual. Al igual que en el circuito de recompensa, la cópula regulada fue suficiente para que se produjera activación significativa del circuito socio-sexual. Respecto al ejercicio, entre los dos grupos que realizaron esta actividad (CR+RW y RW), no hubo diferencias en la activación, al realizar ambas conductas alternadas, ya que se obtienen los mismos resultados si se realiza solamente el ejercicio.

Una de las funciones del circuito de recompensa es evaluar la prominencia de los estímulos externos, posteriormente, basado en esto, el individuo toma la decisión sobre la acción ejecutada hacia dicho estímulo, es decir que decide la conducta social que va a realizar. La regulación de este proceso se fundamenta en que ambos circuitos se integran para formar una red conocida como red de toma de decisiones o SDN por sus siglas en inglés. (O'Connell et al. 2011). Esto explicaría porque, a pesar de estar compuestos por diferentes estructuras en su mayoría, ya que solo comparten dos estructuras en común BNST y AMG, (O'Connell et al. 2011), ambos circuitos presentaron resultados similares en este trabajo.

El presente trabajo ha permitido demostrar que el MEMRI es útil para evaluar cambios plásticos en el mismo sujeto como resultado de la experiencia, es decir que no solo permite evaluar actividad cerebral como una de sus aplicaciones, también permite evaluar el comportamiento y la evolución de dicha activación en el tiempo. Esto, gracias al intervalo de tiempo entre las inyecciones del contraste (4 semanas), lo que permite su correcta depuración (14 días luego de la aplicación). De esta manera, podemos asegurar que la distribución del contraste al interior del encéfalo de los sujetos fue producto de la activación cerebral que se presentó en los diferentes puntos de tiempo y no de una acumulación aditiva por aplicaciones previas.

Capítulo 5. Conclusiones

Respecto a los resultados conductuales, se puede concluir que alternar la conducta sexual con el uso de la rueda de ejercicios, no altera el desempeño en cada conducta.

La cópula regulada fue la conducta que activó significativamente la mayoría de las estructuras estudiadas: el NAcc, STR, Hipp, OB, BNST, MPOA, VMH y AMG, excepto el VTA. El grupo de cópula regulada también fue el único que tuvo una activación significativa con la experiencia. Por el contrario, ni el uso de la rueda de ejercicios, ni la actividad alternada (cópula regulada-ejercicio) activaron de manera significativa ninguna de las estructuras independientes como ocurrió con el grupo de cópula regulada, ni mostraron activación con la experiencia.

En cuanto a la activación de circuitos, la cópula regulada y el ejercicio pueden activar el circuito de recompensa desde la primera semana de experiencia, en tanto que las demás conductas requieren más tiempo para dicha activación. La activación como producto de la cópula regulada permanece desde la primera hasta la última semana, mientras que la activación del ejercicio es fluctuante. De igual forma, la activación del circuito de recompensa es más intensa al realizar la cópula regulada que la cópula regulada y el ejercicio juntos. Alternar la cópula regulada con el ejercicio no aumenta la activación. Realizar ejercicio en la rueda y alternarlo con cópula regulada, tampoco modifica la activación del circuito de recompensa. Esta activación es igual al realizar ejercicio como única conducta.

El circuito socio-sexual presentó cambios en su activación con el tiempo y la experiencia, luego de realizar todas las conductas. En el caso de la cópula regulada y el ejercicio por separado, ambas activaron este circuito más rápido (Semana 1) y de manera sostenida (Semana 5), a comparación de la conducta de cópula y ejercicio juntas, la cual toma más tiempo en suceder (Semana 10). La cópula regulada por si sola es suficiente para una activación significativa del circuito, si esta conducta se alterna con el ejercicio, la activación es significativamente menor. El ejercicio alternado con cópula regulada activa el circuito socio-sexual de igual manera que lo hace el ejercicio por separado. Ni el rendimiento conductual, ni la activación de los circuitos mencionados son aditivos al realizar la conducta sexual y el

ejercicio de manera alternada. Ambos circuitos se activan con mayor intensidad por la copula regulada en la semana 10.

A continuación, se exponen los factores limitantes respecto al uso de cloruro de manganeso como contraste. El cumplimiento de los horarios programados para la realización de conductas experimentales y la toma de imágenes de resonancia (24 horas después de la aplicación del contraste) debe ser lo más exacto posible para obtener los resultados deseados de acuerdo al tiempo que tarda el cloruro de manganeso en lograr una distribución adecuada en el sistema nervioso. En caso de no cumplir con esto, se debería esperar mínimo 14 días antes de volver a inyectar el contraste y repetir el experimento, lo cual retrasaría el curso longitudinal del proyecto. Si se repite la dosis en menos del tiempo establecido se podría ocasionar un exceso en los niveles de contraste en el cuerpo, con una consecuente toxicidad y efectos adversos en la motricidad y la locomoción. Esto representaría una alteración en el desempeño de conductas que implican movilidad como caminar o correr, lo que supondría un sesgo en los resultados de los experimentos. En el peor de los casos, el exceso podría ocasionar la muerte del sujeto y una disminución en el número de sujetos.

Adicionalmente, otros factores limitantes se presentaron en el acceso a los lugares de experimentación y equipos necesarios, éste se vio disminuido por cuestiones de seguridad sanitaria lo que pudo tener un efecto en el número de sujetos utilizados para los experimentos. De igual forma la falla imprevista en alguno de los equipos utilizados representó retrasos para la realización y continuidad de los experimentos en el tiempo.

Los recursos biológicos e informativos generados por este trabajo pueden ser un punto de partida para la evaluación de actividad y/o generación neuronal evaluada por medio de otras técnicas, por ejemplo, medición de otros marcadores de plasticidad cerebral como proteína c-fos, BrDU y sinaptofisina, con técnica de inmunohistoquímica.

Capítulo 6. Referencias bibliográficas

1. Ågmo, A. (1997). Male rat sexual behavior. *Brain Research Protocols*, 1(2), 203–209. [https://doi.org/10.1016/S1385-299X\(96\)00036-0](https://doi.org/10.1016/S1385-299X(96)00036-0)
2. Aoki, I., Tanaka, C., Takegami, T., Ebisu, T., Umeda, M., Fukunaga, M., Fukuda, K., Silva, A. C., Koretsky, A. P., & Naruse, S. (2002). Dynamic activity-induced manganese-dependent contrast magnetic resonance imaging (DAIM MRI). *Magnetic Resonance in Medicine*, 48(6), 927–933. <https://doi.org/10.1002/MRM.10320>
3. Aoki, I., Wu, Y. J. L., Silva, A. C., Lynch, R. M., & Koretsky, A. P. (2004). In vivo detection of neuroarchitecture in the rodent brain using manganese-enhanced MRI. *NeuroImage*, 22(3), 1046–1059. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROIMAGE.2004.03.031>
4. Beach, F. A. (1976). Sexual attractivity, proceptivity, and receptivity in female mammals. *Hormones and Behavior*, 7(1), 105–138. [https://doi.org/10.1016/0018-506X\(76\)90008-8](https://doi.org/10.1016/0018-506X(76)90008-8)
5. Bedos, M., Portillo, W., & Paredes, R. G. (2018). Neurogenesis and sexual behavior. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 51, 68–79. <https://doi.org/10.1016/J.YFRNE.2018.02.004>
6. Bitar, R., Leung, G., Perng, R., Tadros, S., Moody, A. R., Sarrazin, J., McGregor, C., Christakis, M., Symons, S., Nelson, A., & Roberts, T. P. (2006). MR pulse sequences: what every radiologist wants to know but is afraid to ask. *Radiographics: A Review Publication of the Radiological Society of North America, Inc*, 26(2), 513–537. <https://doi.org/10.1148/RG.262055063>
7. Chen, P., & Hong, W. (2018). Neural Circuit Mechanisms of Social Behavior. *Neuron*, 98(1), 16–30. <https://doi.org/10.1016/J.NEURON.2018.02.026>
8. Chu, X., & Ågmo, A. (2016). Sociosexual Interactions in Rats: Are They Relevant

for Understanding Human Sexual Behavior? *International Journal of Psychological Research*, 9(2), 76–95. <https://doi.org/10.21500/20112084.2339>

9. Corona, R., Larriva-Sahd, J., & Paredes, R. G. (2011). Paced-mating increases the number of adult new born cells in the internal cellular (granular) layer of the accessory olfactory bulb. *PloS One*, 6(5). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0019380>

10. Duyn, J., & Koretsky, A. P. (2008). Magnetic resonance imaging of neural circuits. *Nature Clinical Practice Cardiovascular Medicine* 2008 5:2, 5(2), S71–S78. <https://doi.org/10.1038/ncpcardio1248>

11. Erskine, M. S. (1985). Effects of paced coital stimulation on estrus duration in intact cycling rats and ovariectomized and ovariectomized-adrenalectomized hormone-primed rats. *Behavioral Neuroscience*, 99(1), 151–161. <https://doi.org/10.1037//0735-7044.99.1.151>

12. Erskine, M. S. (1989). Solicitation behavior in the estrous female rat: A review. *Hormones and Behavior*, 23(4), 473–502. [https://doi.org/10.1016/0018-506X\(89\)90037-8](https://doi.org/10.1016/0018-506X(89)90037-8)

13. Erskine, M. S., & Hanrahan, S. B. (1997). Effects of paced mating on c-fos gene expression in the female rat brain. *Journal of Neuroendocrinology*, 9(12), 903–912. <https://doi.org/10.1046/J.1365-2826.1997.00660.X>

14. Eschenko, O., Canals, S., Simanova, I., Beyerlein, M., Murayama, Y., & Logothetis, N. K. (2010). Mapping of functional brain activity in freely behaving rats during voluntary running using manganese-enhanced MRI: Implication for longitudinal studies. *NeuroImage*, 49(3), 2544–2555. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROIMAGE.2009.10.079>

15. Greenwood, B. N., & Fleshner, M. (2019). Voluntary Wheel Running: A Useful Rodent Model for Investigating the Mechanisms of Stress Robustness and Neural Circuits of Exercise Motivation. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, 28, 78. <https://doi.org/10.1016/J.COBEHA.2019.02.001>

16. Greenwood, B. N., Foley, T. E., Le, T. V., Strong, P. V., Loughridge, A. B., Day, H. E. W., & Fleshner, M. (2011a). Long-term voluntary wheel running is rewarding and produces plasticity in the mesolimbic reward pathway. *Behavioural Brain Research*, *217*(2), 354–362. <https://doi.org/10.1016/J.BBR.2010.11.005>
17. Greenwood, B. N., Foley, T. E., Le, T. V., Strong, P. V., Loughridge, A. B., Day, H. E. W., & Fleshner, M. (2011b). Long-term voluntary wheel running is rewarding and produces plasticity in the mesolimbic reward pathway. *Behavioural Brain Research*, *217*(2), 354–362. <https://doi.org/10.1016/J.BBR.2010.11.005>
18. Guarraci, F. A., & Benson, A. (2005). “Coffee, Tea and Me”: Moderate doses of caffeine affect sexual behavior in female rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *82*(3), 522–530. <https://doi.org/10.1016/J.PBB.2005.10.007>
19. Lerner, T. N., Ye, L., & Deisseroth, K. (2016). CLerner, T. N., Ye, L., & Deisseroth, K. (2016). Communication in Neural Circuits: Tools, Opportunities, and Challenges. *Cell*, *164*(6), 1136. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2016.02.027>ommunication in Neural Circuits: Tools, Opportunities, and Challenges. *Cell*, *164*(6), 1136. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2016.02.027>
20. Lin, Y. J., & Koretsky, A. P. (1997). Manganese ion enhances T1-weighted MRI during brain activation: An approach to direct imaging of brain function. *Magnetic Resonance in Medicine*, *38*(3), 378–388. <https://doi.org/10.1002/MRM.1910380305>
21. Martínez, I., & Paredes, R. G. (2001). Only Self-Paced Mating Is Rewarding in Rats of Both Sexes. *Hormones and Behavior*, *40*(4), 510–517. <https://doi.org/10.1006/HBEH.2001.1712>
22. McClintock, M. K., & Adler, N. T. (1978). The Role of the Female During Copulation in Wild and Domestic Norway Rats (*Rattus Norvegicus*). *Behaviour*, *67*(1–2), 67–95.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1163/156853978X00260>

23. McClintock, M. K., Anisko, J. J., & Adler, N. T. (1982). Group mating among Norway rats II. The social dynamics of copulation: Competition, cooperation, and mate choice. *Animal Behaviour*, *30*(2), 410–425. [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(82\)80052-3](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(82)80052-3)
24. Meijer, J. H., & Robbers, Y. (2014). Wheel running in the wild. *Proceedings. Biological Sciences*, *281*(1786). <https://doi.org/10.1098/RSPB.2014.0210>
25. Meyerson, B. J., Lindström, L., Nordström, E. B., & Ågmo, A. (1973). Sexual motivation in the female rat after testosterone treatment. *Physiology & Behavior*, *11*(4), 421–428. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(73\)90026-7](https://doi.org/10.1016/0031-9384(73)90026-7)
26. Micevych, P. E., & Meisel, R. L. (2017). Integrating neural circuits controlling female sexual behavior. *Frontiers in Systems Neuroscience*, *11*, 42. <https://doi.org/10.3389/FNSYS.2017.00042/BIBTEX>
27. Naghshvarian, M., Mohammad-, :, Zarrindast, R., Seyedeh, :, & Sajjadi, F. (2017). Voluntary Wheel Running Induces Exercise-Seeking Behavior in Male Rats: A Behavioral Study. *Arch Iran Med*, *20*(12), 740–745. www.aimjournal.ir
28. Novak, C. M., Burghardt, P. R., & Levine, J. A. (2012). The use of a running wheel to measure activity in rodents: Relationship to energy balance, general activity, and reward. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *36*(3), 1001–1014. <https://doi.org/10.1016/J.NEUBIOREV.2011.12.012>
29. O'Connell, L. A., & Hofmann, H. A. (2011). The vertebrate mesolimbic reward system and social behavior network: a comparative synthesis. *The Journal of Comparative Neurology*, *519*(18), 3599–3639. <https://doi.org/10.1002/CNE.22735>
30. Palkovits, M. (1983). The rat brain in stereotaxic coordinates Authors: George

Paxinos & Charles Watson Academic Press Australia, 1982 Softback, 154 pages (including 71 plates), 35.00 Aust \$. *Neuropeptides*, 3.

31. Paredes, R. G. (2014). Opioids and sexual reward. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 121, 124–131. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2013.11.004>

32. Paredes, Raúl G., & Alonso, A. (1997). Sexual behavior regulated (paced) by the female induces conditioned place preference. *Behavioral Neuroscience*, 111(1), 123–128. <https://doi.org/10.1037//0735-7044.111.1.123>

33. Pooley, R. A. (2005). AAPM/RSNA physics tutorial for residents: fundamental physics of MR imaging. *Radiographics : A Review Publication of the Radiological Society of North America, Inc*, 25(4), 1087–1099. <https://doi.org/10.1148/RG.254055027>

34. Portillo, W., & Paredes, R. G. (2004). Sexual incentive motivation, olfactory preference, and activation of the vomeronasal projection pathway by sexually relevant cues in non-copulating and naive male rats. *Hormones and Behavior*, 46(3), 330–340. <https://doi.org/10.1016/J.YHBEH.2004.03.001>

35. Portillo, W., & Paredes, R. G. (2019). Motivational Drive in Non-copulating and Socially Monogamous Mammals. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 13. <https://doi.org/10.3389/FNBEH.2019.00238>

36. Rhodes, J. S., Garland, T., & Gammie, S. C. (2003). Patterns of Brain Activity Associated with Variation in Voluntary Wheel-Running Behavior. *Behavioral Neuroscience*, 117(6), 1243–1256. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.117.6.1243>

37. Steinberg, R. M., Juenger, T. E., & Gore, A. C. (2007). The effects of prenatal PCBs on adult female paced mating reproductive behaviors in rats. *Hormones and Behavior*, 51(3), 364–372. <https://doi.org/10.1016/J.YHBEH.2006.12.004>

38. Steiner, M., Katz, R. J., Baldrighi, G., & Carroll, B. J. (1981). Motivated behavior and the estrous cycle in rats. *Psychoneuroendocrinology*, *6*(1), 81–90. [https://doi.org/10.1016/0306-4530\(81\)90051-2](https://doi.org/10.1016/0306-4530(81)90051-2)
39. Vargas-Perez, H., Kee, R. T. A., Walton, C. H., Micah Hansen, D., Razavi, R., Clarke, L., Bufalino, M. R., Allison, D. W., Steffensen, S. C., & Van Kooy, D. Der. (2009). Ventral Tegmental Area BDNF Induces an Opiate-Dependent–Like Reward State in Naïve Rats. *Science (New York, N.Y.)*, *324*(5935), 1732. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1168501>
40. Ventura-Aquino, E., Portillo, W., & Paredes, R. G. (2018). Sexual Motivation: A Comparative Approach in Vertebrate Species. *Current Sexual Health Reports*, *10*, 114–123.
41. Vivar, C., Peterson, B. D., & van Praag, H. (2016). Running rewires the neuronal network of adult-born dentate granule cells. *NeuroImage*, *131*, 29–41. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROIMAGE.2015.11.031>
42. Voss, M. W., Vivar, C., Kramer, A. F., & van Praag, H. (2013). Bridging animal and human models of exercise-induced brain plasticity. *Trends in Cognitive Sciences*, *17*(10), 525. <https://doi.org/10.1016/J.TICS.2013.08.001>

Capítulo 7. Anexos

Anexo 1. Conducta sexual: Tablas comparaciones estadísticas de conducta sexual. Datos de la primera serie eyaculatoria

Tabla 4.1 Valores estadísticos para las comparaciones entre sesiones de los parámetros de conducta sexual de cópula regulada de los grupos de Cópula regulada y Cópula regulada + ejercicio. Prueba Friedman de medidas repetidas.

Parámetros	Cópula Regulada	Cópula regulada + ejercicio
Número de Montas	(X2(2) = 2.966, p = 0.285)	(X2 (2) = 1.750, p = 0.531)
Número de Intromisiones	(X2(2) = 6.250, p = 0.047)	(X2 (2) = 3.677, p = 0.149)
Número de Eyaculaciones	(X2(2) = 5.083, p = 0.149)	(X2 (2)= 1.600, p = 0.654)
<u>Latencias (sec)</u>		
Monta	(X2(2) = 2.000, p = 0.355)	(X2 (2) = 7.000, p = 0.030)
Intromisión	(X2(2) = 6.750, p = 0.038)	(X2(2) = 4.323, p = 0.120)
Eyaculación	(X2(2) = 1.613, p = 0.531)	(X2 (2) = 2.889, p = 0.285)
III (sec)	(X2(2) = 0.581, p = 0.794)	(X2 (2) = 0.963, p = 0.654)
IML	(X2(2) = 0.581, p = 0.794)	(X2 (2) = 6.200, p = 0.047)
QL (%)	(X2(2) = 0.250, p = 0.967).	(X2 (2) = 1.000, p = 0.654)
<u>Latencia de Retorno (sec)</u>		
Monta	(X2(2) = 7.806, p = 0.018)	(X2 (2)= 4.750, p = 0.120)
Intromisión	(X2 (2) = 1.750 p = 0.531)	(X2 (2)= 0.250, p = 0.967)
Eyaculación	(X2(2) = 0.452, p = 0.794)	(X2 (2)= 0.519, p = 0.794)
<u>Porcentajes de salida por</u>		
Monta	(X2 (2) = 0.250, p = 0.967)	(X2 (2) = 9.250, p = 0.008)
Intromisión	(X2 (2) = 4.000, p = 0.149)	(X2 (2) = 0.194, p = 0.967)

Eyacuación	(X2 (2) = 4.800, p = 0.355)	(X2 (2) = 1.200, p = 0.794)
-------------------	-----------------------------	-----------------------------

Tabla 4.2. Valores estadísticos de las comparaciones entre los grupos Cópula regulada y Cópula regulada + ejercicio, para los parámetros de la conducta sexual de cópula regulada en la semana 1. Prueba U de Mann-Whitney.

Parámetros	Semana 1.
Número de Montas	(U= 30.500, T=65.500 p= 0.878)
Número de Intromisiones	(U= 30.000, T=66.000 p= 0.878)
Número de Eyacuaciones	(U= 30.000, T=70.000 p= 0.878)
Latencias (sec)	
Monta	(U= 32.000, T=68.000 p= 0.1000)
Intromisión	(U= 31.500, T=68.500 p= 0.959)
Eyacuación	(U= 31.000, T=67.000 p= 0.959)
III (sec)	(U= 32.000, T=68.000 p= 1.000)
IML	(U= 27.000, T= 73.000 p= 0.645)
QL (%)	(U= 28.000, T= 64.000 p= 0.721)
<u>Latencia Retorno (sec)</u>	
Monta	(U= 29.500, T= 65.500 p= 0.798)
Intromisión	(U= 30.000, T= 70.000 p= 0.878)
Eyacuación	(U= 32.000, T= 68.000 p= 1.000)
Porcentajes de salida por	
Montas	(U= 24.000, T= 60.000 p= 0.442)

Intromisión	(U= 23.000, T= 59.000 p= 0.382)
Eyacuación	(U= 32.000, T=68.000 p= 1.000)

Tabla 4.3. Valores estadísticos de las comparaciones entre los grupos Cópula regulada y Cópula regulada + ejercicio, para los parámetros de la conducta sexual de cópula regulada en la semana 5. Prueba U de Mann-Whitney.

Parámetros	Semana 5
Número de Montas	(U=29.000, T=71.000 p= 0.798)
Número de Intromisiones	(U= 21.500, T= 78.500 p= 0.279)
Número de Eyacuaciones	(U= 28.500, T= 64.500 p= 0.721)
<u>Latencias (sec)</u>	
Monta	(U= 30.500, T= 69.500 p= 0.878)
Intromisión	(U= 27.000, T= 63.000 p= 0.645)
Eyacuación	(U= 28.000, T= 72.000 p= 0.721)
III (sec)	(U= 30.000, T= 70.000 p= 0.878)
IML	(U= 24.500, T= 60.500 p= 0.442)
QL (%)	(U= 24.000, T= 60.000 p= 0.442)
<u>Latencia Retorno (sec)</u>	
Montas	(U= 31.000, T= 67.000 p= 0.959)
Intromisión	(U= 29.500, T= 65.500 p= 0.798)
Eyacuación	(U= 24.500, T= 60.500 p= 0.442)
Porcentajes de salida por	
Monta	(U= 14.500, T= 85.500 p= 0.065)

Intromisión	(U= 30.500, T= 66.500 p= 0.878)
Eyacuación	(U= 29.000, T= 71.000, p= 0.798)

Tabla 4.5. Valores estadísticos de las comparaciones entre los grupos Cópula regulada y Cópula regulada + ejercicio, para los parámetros de la conducta sexual de cópula regulada en la semana 10. Prueba U de Mann-Whitney.

Parámetros	Semana 10
Número de Montas	(U= 14.000, T=86.000, p= 0.065)
Número de Intromisiones	(U= 11.500, T= 88.500, p= 0.028)
Número de Eyacuaciones	(U= 15.000, T= 85.000, p= 0.083)
Latencias (sec)	
Monta	(U= 25.500, T= 74.500, p= 0.505)
Intromisión	(U= 30.000, T= 66.000, p= 0.878)
Eyacuación	(U= 31.000, T= 67.000, p= 0.959)
III (sec)	(U= 26.000, T= 67.200, p= 0.574)
IML	(U= 25.000, T= 61.000, p= 0.130)
QL (%)	(U= 32.000, T= 68.000, p= 1.000)
<u>Latencia Retorno (sec)</u>	
Monta	(U= 31.000, T= 69.000, p= 0.959)
Intromisión	(U= 29.000, T= 71.000, p= 0.798)
Eyacuación	(U= 28.000, T= 72.000, p= 0.721)
Porcentajes de salida por	

Monta	(U= 4.000, T= 96.000, p=0.002)#
Intromisión	(U= 16.000, T= 84.000, p= 0.105)
Eyacuación	(U= 24.000, T= 76.000, p= 0.442)

Tabla 4.6. Resultados estadísticos de la prueba pos hoc de los parámetros que tuvieron diferencias significativas en la Prueba de Friedman de medidas repetidas. Toda la hora. S=semana.

Grupo	Parámetros de conducta sexual	Comparación	Valor q (Pos hoc Tukey)	Resultado
Cópula regulada	Número de intromisiones	S10 vs S1	q= 3.536	Significativo
		S10 vs S5	q= 1.768	No significativo
		S1 vs S5	q= 1.768	No significativo
	Latencia de regreso por monta	S10 vs S1	q= 1.945	No significativo
		S10 vs S5	q= 1.945	No significativo
		S1 vs S5	q=3.889	Significativo
	Porcentaje de salida por monta	S10 vs S1	q= 3.359	Significativo
		S10 vs S5	q= 3.536	Significativo
		S1 vs S5	q=0.177	No significativo
Cópula regulada + ejercicio	Porcentaje de salida por monta	S10 vs S1	q= 3.359	Significativo
		S10 vs S5	q= 3.536	Significativo
		S1 vs S5	q=0.177	No significativo

Anexo 2. Tabla de resultados del grupo de ejercicio, cópula regulada + ejercicio y campo abierto.

Tabla 5.1 Valores estadísticos de las comparaciones entre sesiones para cada grupo. Prueba Friedman de medidas repetidas.

Grupos	Ejercicio	Cópula regulada + ejercicio	Campo Abierto
Valor estadístico prueba Friedman de medidas repetidas	(X2(9) = 42.382 , p <0.001)	(X2(9) = 31.080, p <0.001)	(X2(9) = 16.773, p = 0.052)

Tabla 5.2. Valores estadísticos de la prueba pos hoc de Tukey, de la prueba de Friedman de medidas repetidas aplicada al grupo de ejercicio. S=semana.

Comparación entre semanas. Grupo Ejercicio.	Valor q	Resultado diferencia
S9 vs S1	7.707	Significativo
S9 vs S5	6.189	Significativo
S9 vs S10	3.97	No significativo
S9 vs S3	3.737	No significativo
S9 vs S2	3.737	No significativo
S9 vs S4	3.503	No significativo
S9 vs S6	3.153	No significativo
S9 vs S8	2.803	No significativo
S9 vs S7	1.401	No significativo
S7 vs S1	6.306	Significativo
S7 vs S5	4.788	Significativo
S7 vs S10	2.569	No significativo
S7 vs S3	2.335	No significativo
S7 vs S2	2.335	No significativo
S7 vs S4	2.102	No significativo
S7 vs S6	1.752	No significativo
S7 vs S8	1.401	No significativo

S8 vs S1	4.905	Significativo
S8 vs S5	3.386	No significativo
S8 vs S10	1.168	No significativo
S8 vs S3	0.934	No significativo
S8 vs S2	0.934	No significativo
S8 vs S4	0.701	No significativo
S8 vs S6	0.35	No significativo
S6 vs S1	4.554	Significativo
S6 vs S5	3.036	No significativo
S6 vs S10	0.817	No significativo
S6 vs S3	0.584	No significativo
S6 vs S2	0.584	No significativo
S6 vs S4	35	No significativo
S4 vs S1	4.204	No significativo
S4 vs S5	2.686	No significativo
S4 vs S10	0.467	No significativo
S4 vs S3	0.234	No significativo
S4 vs S2	0.234	No significativo
S2 vs S1	3.97	No significativo
S2 vs S5	2.452	No significativo
S2 vs S10	0.234	No significativo
S2 vs S3	0	No significativo
S3 vs S1	3.97	No significativo
S3 vs S5	2.452	No significativo
S3 vs S10	0.234	No significativo
S10 vs S1	3.737	No significativo
S10 vs S5	2.219	No significativo
S5 vs S1	1.518	No significativo

Tabla 5.3. Valores estadísticos de la prueba pos hoc de Tukey, de la prueba de Friedman de medidas repetidas aplicada al grupo de cópula regulada + ejercicio. S=semana.

Comparación entre semanas. Grupo copula regulada + ejercicio.	Valor q	Resultado diferencia
S6 vs S1	6.306	Significativo
S6 vs S3	3.97	No significativo
S6 vs S5	3.386	No significativo
S6 vs S7	3.386	No significativo
S6 vs S2	3.153	No significativo
S6 vs S10	2.102	No significativo

S6 vs S4	1.635	No significativo
S6 vs S9	0.993	No significativo
S6 vs S8	0.759	No significativo
S8 vs PS1	5.547	Significativo
S8 vs S3	3.211	No significativo
S8 vs S5	2.627	No significativo
S8 vs S7	2.627	No significativo
S8 vs S2	2.394	No significativo
S8 vs S10	1.343	No significativo
S8 vs S4	0.876	No significativo
S8 vs S9	0.234	No significativo
S9 vs S1	5.313	Significativo
S9 vs S3	2,978	No significativo
S9 vs S5	2.394	No significativo
S9 vs S7	2.394	No significativo
S9 vs S2	2.16	No significativo
S9 vs S10	1.109	No significativo
S9 vs S4	0.642	No significativo
S4 vs S1	4.671	Significativo
S4 vs S3	2.335	No significativo
S4 vs S5	1.752	No significativo
S4 vs S7	1.752	No significativo
S4 vs S2	1.518	No significativo
S4 vs S10	0.467	No significativo
S10 vs S1	4.204	No significativo
S10 vs S3	1.868	No significativo
S10 vs S5	1.285	No significativo
S10 vs S7	1.285	No significativo
S10 vs S2	1.051	No significativo
S2 vs S1	3.153	No significativo
S2 vs S3	0.817	No significativo
S2 vs S5	0.234	No significativo
S2 vs S7	0.234	No significativo
S7 vs S1	2,,919	No significativo
S7 vs S3	0.584	No significativo
S7 vs S5	0	No significativo
S5 vs S1	2.919	No significativo
S5 vs S3	0.584	No significativo
S3 vs S1	2.335	No significativo

Valores estadísticos de la comparación entre grupos. Prueba Kruskal-Wallis con pos hoc U Mann-Whitney.

Tabla 5.4. Valores estadísticos para las comparaciones entre los grupos de ejercicio (E), cópula y ejercicio (EC) y campo abierto (CA) con la prueba de Kruskal-Wallis; Valores estadísticos para las comparaciones entre dos grupos: Ejercicio vs Cópula y ejercicio (E vs EP), Ejercicio vs Campo Abierto (E vs CA), Cópula y ejercicio vs Campo Abierto (EP vs CA). Prueba U Mann-Whitney. Resultados para cada sesión.

Semana	Valor estadístico: Kruskal-Wallis	Valor pos hoc: U-Mann-Whitney	Resultado
1	(K-W: H= 13.040, p= 0.001)	<p>RW vs CR+RW: (U=8.000; T= 44000; p=0.10).</p> <p>RW vs CA: (U=20000; T= 80000; p=0.234).</p> <p>CR+RW vs CA: (U=0000; T= 100000; p<0.001)</p>	<p>El grupo de cópula regulada + ejercicio corrió mayor distancia que el grupo de campo abierto.</p> <p>No hubo diferencias entre el grupo de ejercicio y cópula regulada + ejercicio.</p>
2	(K-W: H= 9,365 p= 0.009)	<p>RW vs CR+RW: (U=8000; T= 92000; p=0.010)*</p> <p>RW vs CA: (U=7000; T= 43000; p=0.007 aa</p>	<p>Los grupos de ejercicio y cópula regulada + ejercicio corrieron mayor distancia respecto al grupo de campo abierto.</p> <p>El grupo de ejercicio recorrió mayor distancia que el grupo de cópula regulada + ejercicio.</p>

		RW vs CA: (U=7000; T=43000; p=0.007) bb	
3	(K-W: H= 7,940 p= 0.019)	RW vs CR+RW: (U=32000; T=68000; p=1.000) RW vs CA: (U=7000; T=43000; p=0.007)aa RW+CR vs CA: (U=8000; T=92000; p=0.010)b	Los grupos de ejercicio y cópula regulada + ejercicio corrieron mayor distancia respecto al grupo de campo abierto. Sin embargo, entre ejercicio y cópula regulada + ejercicio no hubo diferencias en la distancia recorrida.
4	(K-W: H= 9,755 p= 0.008)	RW vs CR+RW: (U=31000; T=67000; p=0.959) RW vs CA: (U=6000; T=42000; p=0.005) aa CR+RW vs CA: (U=7000; T=93000; p=0.007)bb	Los grupos de ejercicio y cópula regulada + ejercicio corrieron mayor distancia respecto al grupo de campo abierto. Sin embargo, entre ejercicio y cópula regulada + ejercicio no hubo diferencias en la distancia recorrida.
5	(K-W: H= 9,915 p= 0.007)	RW vs CR+RW: (U=24000; T=60000; p=0.442)	Los grupos de cópula regulada + ejercicio corrieron mayor distancia respecto al grupo de campo abierto.

		<p>RW vs CA: (U=13000; T=87000; p=0.050) a</p> <p>CR+RW vs CA: (U=2000; T=98000; p<0.001)bbb</p>	<p>Sin embargo, entre cópula regulada + ejercicio no hubo diferencias en la distancia recorrida.</p>
6	(K-W: H= 9,915 p= 0.007)	<p>RW vs CR+RW: (U=24000; T=60000; p=0.442).</p> <p>RW vs CA: (U=1000; T=99000; p<0.001) aaa</p> <p>CR+RW vs CA: (U=0; T=100000; p<0.001) bbb</p>	<p>Los grupos de ejercicio y cópula regulada + ejercicio corrieron mayor distancia respecto al grupo de campo abierto.</p> <p>Sin embargo, entre ejercicio y cópula regulada + ejercicio no hubo diferencias en la distancia recorrida.</p>
7	(K-W: H = 10,355, p= 0,006)	<p>RW vs CR+RW: (U=22000; T=78000; p=0.328)</p> <p>RW vs CA: (U=3000; T=97000; p=0.001)aa</p> <p>CR+RW vs CA: (U=11000; T=</p>	<p>Los grupos de ejercicio y cópula regulada + ejercicio corrieron mayor distancia respecto al grupo de campo abierto.</p> <p>Sin embargo, entre ejercicio y cópula regulada + ejercicio no hubo diferencias en la distancia recorrida.</p>

		89000; p=0.028)b	
8	(K-W: H=4,655 p= 0,048)	RW vs CR+RW: (U=31000; T= 69000; p=0.959) RW vs CA: (U=12000; T= 48000; p=0.038)a CR+RW vs CA: U=17000; T= 83000; p=0.130)	El grupo de ejercicio recorrió mayor distancia que el grupo de cambio abierto. No se encontraron diferencias en la distancia recorrida para las demás comparaciones.
9	(K-W: H= 12,080 p= 0.002)	RW vs CR+RW: (U=24000; T= 76000; p=0.442) RW vs CA: (U=4000; T= 96000; p=0.002)aa CR+RW vs CA: (U=4000; T= 96000; p=0.002)bb	Los grupos de ejercicio y cópula & ejercicio corrieron mayor distancia respecto al grupo de campo abierto. Sin embargo, entre ejercicio y cópula regulada + ejercicio no hubo diferencias en la distancia recorrida.
10	(K-W: H=10,160, p= 0,006)	RW vs CR+RW: (U=30000; T= 66000; p=0.878) RW vs CA: (U=10000; T=	Los grupos de ejercicio y cópula regulada + ejercicio corrieron mayor distancia respecto al grupo de campo abierto. Sin embargo, entre ejercicio y cópula regulada + ejercicio no

		46000; p=0.021)a RW+CR vs CA: (U=10000; T= 90000; p=0.021)b	hubo diferencias en la distancia recorrida.
--	--	--	---

Anexo 3. Tablas resultados estadísticos análisis MEMRI.

Tabla 6.1. Resultados estadísticos de la prueba de Friedman de medidas repetidas aplicada a los valores de intensidad de señal de los ROIs activados por las conductas realizadas en los grupos.(n=8).

	Control	Cópula y ejercicio	Cópula	Ejercicio
NAcc	$X^2(3) = 1.050, p = 0.789$	$X^2(3) = 3.911, p = 0.271$	$X^2(3) = 9.150, p = 0.027$	$X^2(3) = 1.800, p = 0.615$
STR	$X^2(3) = 1.050, p = 0.789$	$X^2(3) = 0.949, p = 0.814$	$X^2(3) = 1.650, p = 0.014$	$X^2(3) = 2.850, p = 0.415$
Hipp	$X^2(3) = 1.950, p = 0.583$	$X^2(3) = 1.861, p = 0.602$	$X^2(3) = 10.350, p = 0.016$	$X^2(3) = 1.200, p = 0.753$
VTA	$X^2(3) = 1.950, p = 0.583$	$X^2(3) = 1.557, p = 0.669$	$X^2(3) = 7.650, p = 0.054$	$X^2(3) = 2.850, p = 0.415$
OB	$X^2(3) = 5.550, p = 0.136$	$X^2(3) = 7.785, p = 0.051$	$X^2(3) = 13.350, p = 0.004$	$X^2(3) = 7.050, p = 0.070$
BNST	$X^2(3) = 2.850, p = 0.415$	$X^2(3) = 3.000, p = 0.392$	$X^2(3) = 3.050, p = 0.005$	$X^2(3) = 5.550, p = 0.136$
MPOA	$X^2(3) = 2.550, p = 0.466$	$X^2(3) = 5.506, p = 0.138$	$X^2(3) = 15.450, p = 0.001$	$X^2(3) = 5.550, p = 0.136$
VMH	$X^2(3) = 6.150, p = 0.105$	$X^2(3) = 2.620, p = 0.454$	$X^2(3) = 12.750, p = 0.005$	$X^2(3) = 5.550, p = 0.136$
AMG	$X^2(3) = 3.750, p = 0.290$	$X^2(3) = 2.696, p = 0.441$	$X^2(3) = 10.050, p = 0.018$	$X^2(3) = 7.350, p = 0.062$

Campo abierto.	
NAcc	$X^2(3) = 5.400, p = 0.145$
STR	$X^2(3) = 5.400, p = 0.145$
Hipp	$X^2(3) = 7.200, p = 0.066$
VTA	$X^2(3) = 7.050, p = 0.070$
OB	$X^2(3) = 6.750, p = 0.080$
BNST	$X^2(3) = 8.850, p = 0.031$
MPOA	$X^2(3) = 7.350, p = 0.062$
VMH	$X^2(3) = 9.450, p = 0.024$
AMG	$X^2(3) = 7.650, p = 0.054$

Tabla 6.2 Resultados estadísticos de la prueba pos hoc de Tukey correspondiente a la prueba Friedman de medidas repetidas para los ROIs independientes. (n=8)

N. Accumbens		N. Estriado	
Semana	Cópula	Semana	Cópula
S10 vs s5	q=1.095	S10 vs s5	q=1.095
S10 vs S1	q=0.274	S10 vs S1	q=0.274
S10 vs S0	q=3.560	S10 vs S0	q=4.108
S5 vs S1	q=1.369	S5 vs S1	q=0.822
S5 vs S0	q=2.465	S5 vs S0	q=3.012
S1 vs S0	q=3.834	S1 vs S0	q=3.834

Hipocampo		Bulbo Olfatorio		
Semana	Cópula	Semana	Cópula	Campo abierto
S10 vs s5	q=0.274	S10 vs s5	q=1.095	q=0.548
S10 vs S1	q=0.548	S10 vs S1	q=1.369	q=1.369
S10 vs S0	q=3.560	S10 vs S0	q=5.203	q=3.012
S5 vs S1	q=0.822	S5 vs S1	q=0.274	q=0.822
S5 vs S0	q=3.286	S5 vs S0	q=4.108	q=3.560
S1 vs S0	q=4-108	S1 vs S0	q=3.834	q=4.832

BNST		Área pre óptica medial		
Semana	Cópula	Campo Abierto	Semana	Cópula
S10 vs s5	q=1.369	q=1.643	S10 vs s5	q=1.095
S10 vs S1	q=0.548	q=1.917	S10 vs S1	q=1.369
S10 vs S0	q=4.656	q=1.643	S10 vs S0	q=5.203
S5 vs S1	q=0.822	q=0.000	S5 vs S1	q=0.274
S5 vs S0	q=3.286	q=3.560	S5 vs S0	q=4.108
S1 vs S0	q=4-108	q=3.560	S1 vs S0	q=3.834

Amígdala		Hipotálamo ventromedial		
Semana	Cópula	Semana	Cópula	Campo Abierto
S10 vs s5	q=0.274	S10 vs s5	q=0.822	q=2.465
S10 vs S1	q=0.274	S10 vs S1	q=1.095	q=1.360

S10 vs S0	q=3.843	S10 vs S0	q=4.656	q=1.643
S5 vs S1	q=0.000	S5 vs S1	q=0.274	q=1.905
S5 vs S0	q=3.560	S5 vs S0	q=3.834	q=4.108
S1 vs S0	q=3.560	S1 vs S0	q=3.560	q=3.012

Tabla 6.3. Resultados estadísticos de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar los niveles de intensidad de señal de los ROIs independientes, entre los grupos. (n=8). S=semana.

	S0	S1	S5
NAcc	H=2.658, df=4, p=0.617	H=4.505, df=4, p=0.342	H=1.844, df=4, p=0.764
STR	H=1.297, df=4, p=0.862	H=4.264, df=4, p=0.317	H=2.914, df=4, p=0.572
Hipp	H=0.481, df=4, p=0.975	H=3.221, df=4, p=0.521	H=4.114, df=4, p=0.391
VTA	H=0.334, df=4, p=0.987	H=8.438, df=4, p=0.656	H=5.020, df=4, p=0.285
OB	H=2.281, df=4, p=0.684	H=3.615, df=4, p=0.461	H=0.421, df=4, p=0.981
BNST	H=1.994, df=4, p=0.737	H=3.407, df=4, p=0.491	H=3.573, df=4, p=0.467
MPOA	H=1.687, df=4, p=0.793	H=4.568, df=4, p=0.335	H=3.719, df=4, p=0.445
VMH	H=1.505, df=4, p=0.826	H=2.702, df=4, p=0.609	H=6.038, df=4, p=0.196
AMG	H=1.019, df=4, p=0.907	H=3.823, df=4, p=0.430	H=4.670, df=4, p=0.323
	S10		
NAcc	H=7.312, df=4, p=0.120		
STR	H=7.696, df=4, p=0.103		
Hipp	H=5.127, df=4, p=0.274		
VTA	H=3.706, df=4, p=0.447		
OB	H=8.029, df=4, p=0.091		
BNST	H=7.293, df=4, p=0.121		
MPOA	H=8.713, df=4, p=0.069		
VMH	H=8.157, df=4, p=0.086		
AMG	H=7.608, df=4, p=0.107		

Tabla 7.1. Resultados estadísticos de la prueba de Friedman de medidas repetidas aplicada a los valores de intensidad de señal del circuito de recompensa y el circuito socio-sexual para todos los grupos. (n=8)

	Control	Cópula y ejercicio	Cópula	Ejercicio
Circuito de recompensa	$X^2(3) = 6.938$, $p = 0.074$	$X^2(3) = 8.354$, $p = 0.039$	$X^2(3) = 34.313$, $p < 0.001$	$X^2(3) = 10.425$, $p = 0.015$
Circuito socio-sexual	$X^2(3) = 14.550$, $p = 0.002$	$X^2(3) = 15.759$, $p = 0.001$	$X^2(3) = 52.612$, $p < 0.001$	$X^2(3) = 23.475$, $p < 0.001$
Campo abierto.				
Circuito de recompensa	$X^2(3) = 27.762$, $p < 0.001$			
Circuito socio-sexual	$X^2(3) = 32.850$, $p < 0.001$			

Tabla 7.2. Resultados estadísticos de la prueba pos hoc de Tukey correspondiente a la prueba Friedman de medidas repetidas aplicada los valores de intensidad de señal del circuito de recompensa. (S0= Semana 0; S1= Semana 1; S5= Semana 5; S10= Semana 10)

Semana	Cópula regulada-ejercicio	Cópula regulada	Ejercicio	Campo abierto
S10 vs s5	q=1.917	q=0.137	q=2.192	q=4.793
S10 vs S1	q=0.822	q=0.274	q=0.000	q=1.780
S10 vs S0	q=3.834	q=6.710	q=3.834	q=1.643
S5 vs S1	q=1.095	q=0.411	q=2.191	q=3.012
S5 vs S0	q=1.917	q=6.573	q=1.643	q=6.436
S1 vs S0	q=3.012	q=6.983	q=3.834	q=4.793

Tabla 7.3. Resultados estadísticos de la prueba pos hoc de Tukey correspondiente a la prueba Friedman de medidas repetidas aplicada los valores de intensidad de señal del circuito socio-sexual. (S0= Semana 0; S1= Semana 1; S5=Semana 5; S10= Semana 10)

Semana	Control	Cópula regulada-ejercicio	Cópula regulada	Ejercicio
S10 vs s5	q=1.369	q=1.506	q=2.286	q=1.369
S10 vs S1	q=3.012	q=0.548	q=1.780	q=0.822

S10 vs S0	q=3.012	q=5.066	q=9.585	q=5.477
S5 vs S1	q=3.560	q=0.959	q=1.095	q=2.191
S5 vs S0	q=1.643	q=3.560	q=6.710	q=4.108
S1 vs S0	q=5.203	q=4.519	q=7.805	q=6.299

Semana	Campo abierto
S10 vs s5	q=2.739
S10 vs S1	q=1.917
S10 vs S0	q=4.656
S5 vs S1	q=0.822
S5 vs S0	q=7.394
1 vs S0	q=6.573

Tabla 7.4. Resultados estadísticos de la prueba de Kruskal-Wallis para comparar los valores de intensidad de señal del circuito de recompensa y circuito socio-sexual. (S0= Semana 0; S1= Semana 1; S5= Semana 5; S10= Semana 10).

	S0	S1	S5
Circuito de recompensa	H=2.067, df=4 p=0.723	H=7.937, df=4, p=0.094	H=12.822, df=4, p=0.012
Circuito socio-sexual	H=4.046, df=4 p=0.400	H= 11.415, df=4, p=0.022	H=11.165, df=4, p=0.025
S10			
Circuito de recompensa	H=19.701, df=4, p=<0.001		
Circuito socio-sexual	H=29.631, df=4, p=<0.001		

Tabla 7.5. Resultados estadísticos de la prueba de U Mann-Whitney para las diferencias de las comparaciones entre grupos en el circuito de recompensa. (Cont=control; CR+RW= cópula regulada-ejercicio; CR= cópula regulada; RW= ejercicio; CA= campo abierto; S5= Semana 5; S10= Semana 10).

	S5	S10
Cont vs CR+RW	MWU=430, T=958, p=0.274	MWU=499, T=1027, p=0.867
Cont vs CR	MWU=272, T=800, p=0.001	MWU=352, T=880, p=0.032
Cont vs RW	MWU=400, T=928, p=0.134	MWU=499, T=1053, p=0.867
Cont vs CA	MWU=316, T=844, p=0.009	MWU=351, T=1201, p=0.031
CR+RW vs CR	MWU=367, T=895, p=0.052	MWU=348, T=876, p=0.028
CR+RW vs RW	MWU=497, T=1025, p=0.846	MWU=486, T=1066, p=0.732
CR+RW vs CA	MWU=431, T=959, p=0.280	MWU=310, T=1242, p=0.007
CR vs RW	MWU=374, T=1178, p=0.065	MWU=337, T=1215, p=0.019
CR vs CA	MWU=427, T=1125, p=0.257	MWU=207, T=3045, p=<0.001
RW vs CA	MWU=423, T=951, p=0.235	MWU=344, T=1208, p=0.025

Tabla 7.6. Resultados estadísticos de la prueba de U Mann-Whitney para las diferencias de las comparaciones entre grupos en el circuito socio-sexual. (n=8). (Cont=control; CR+RW= cópula regulada-ejercicio; CR= cópula regulada; RW= ejercicio; CA= campo abierto; S1= Semana 1; S5= Semana 5; S10= Semana 10).

	S1	S5	S10
Cont vs CR+RW	MWU=413, T=941, p=0.186	MWU=403, T=931, p=0.145	MWU=498, T=1026, p=0.856
Cont vs CR	MWU=306, T=834, p=0.006	MWU=271, T=799, p=0.001	MWU=288, T=816, p=0.003
Cont vs RW	MWU=399, T=927, p=0.131	MWU=380, T=908, p=0.077	MWU=502, T=1030, p=0.898
Cont vs CA	MWU=435, T=963, p=0.304	MWU=344, T=872, p=0.025	MWU=332, T=1220, p=0.016
CR+RW vs CR	MWU=398, T=926, p=0.128	MWU=397, T=925, p=0.124	MWU=288, T=816, p=0.003
CR+RW vs RW	MWU=509, T=1037, p=0.973	MWU=509 T=1037, p=0.973	MWU=491, T=1061, p=0.783
CR+RW vs CA	MWU=434, T=1118, p=0.298	MWU=497, T=1025, p=0.846	MWU=285, T=1267, p=0.002
CR vs RW	MWU=422, T=1130, p=0.229	MWU=404, T=1148, p=0.149	MWU=285, T=1267, p=0.002
CR vs CA	MWU=294, T=1258, p=0.003	MWU=407, T=1145, p=0.161	MWU=142, T=1410, p=<0.001
RW vs CA	MWU=387, T=1165, p=0.095	MWU=452, T=980, p=0.424	MWU=322, T=1230 p=0.011

Tabla 8. Abreviaturas estructuras cerebrales.

Nombre	Abreviaturas
Núcleo accumbens	NAcc
Núcleo estriado	STR
Hipocampo	Hipp
Área tegmental ventral	VTA
Bulbo olfatorio	OB
Núcleo de la cama de la estría terminal	BNST
Área pre óptica medial	MPOA
Hipotálamo ventromedial	VMH
Amígdala	AMG

