

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES



**“ACTIVIDAD ELECTROENCEFALOGRÁFICA CORTICO-
AMIGDALINA
DURANTE LA ESTIMULACIÓN VAGINO-CERVICAL EN RATAS”**

**TRABAJO DE TITULACIÓN EN LA MODALIDAD DE
TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

PRESENTA

ORLANDO REYNOSO OROZCO

Las Agujas, Zapopan, Jal. Enero 2004



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS

COORDINACIÓN DE CARRERA DE LA LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

COMITÉ DE TITULACIÓN

**C. ORLANDO REYNOSO OROZCO
PRESENTE.**

Manifestamos a Usted que con esta fecha ha sido aprobado su tema de titulación en la modalidad de **TESIS E INFORMES** opción **Tesis** con el título: **"ACTIVIDAD ELECTROENFALOGRÁFICA CORTICO-AMIGDALINA DURANTE LA ESTIMULACIÓN VAGINO-CERVICAL EN RATAS"**, para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos que ha sido aceptado/a como Director de dicho trabajo el/la **DRA. MARISELA HERNÁNDEZ GONZÁLEZ.**

A T E N T A M E N T O
"PIENSA Y TRABAJA"
Las Agujas, Zapopan Jal., 30 de Septiembre del 2003



COORDINACIÓN DE LA CARRERA DE:
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

**DRA. MÓNICA ELIZABETH RIOJAS LÓPEZ
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN**

Leticia Hernández López

**M.C. LETICIA HERNÁNDEZ LÓPEZ
SECRETARIO DEL COMITÉ DE TITULACIÓN**

c.c.p. **DRA. MARISELA HERNÁNDEZ GONZÁLEZ.-** Director del Trabajo
c.c.p. Expediente del alumno

MERL/LHL/mam

C. DRA. MÓNICA ELIZABETH RIOJAS LÓPEZ
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN
DE LA DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES
DE LA UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA


Por medio de la presente, nos permitimos informar que Usted, que habiendo revisado el trabajo de Titulación **por la modalidad de Tesis** que realizó el pasante **Orlando Reynoso Orozco** código **093116259** con el título **Actividad electroencefalográfica cortico-amigdalina durante la estimulación vagino-cervical en ratas**, consideramos que ha quedado debidamente concluido, por lo que ponemos a su consideración el escrito final para autorización de impresión y, en su caso, programación de fecha de examen respectivo.

Sin otro particular, agradecemos de antemano la atención que se sirva brindar a la presente y aprovechamos la ocasión para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE

Las Agujas, Zapopan, Jal., a de Diciembre del 2003.

EL DIRECTOR DEL TRABAJO


Dra. Marisela Hernández González
NOMBRE Y FIRMA



COORDINACIÓN DE LA CARRERA DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

SINODALES


1.-M.C. Monica Ureña Guerrero
Nombre completo


Firma

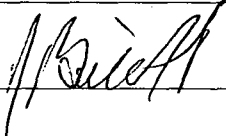
2.-Dr. Miguel Ángel Guevara Pérez
Nombre completo


Firma

3.-Dra Graciela Gudiño Cabrera
Nombre completo


Firma

4.-Dr Jacinto Bañuelos Pineda
Nombre completo



Firma

i	ÍNDICE	
ii	ABREVIATURAS	
iii	AGRADECIMIENTOS	
iv	RESUMEN	
v	INTRODUCCIÓN	
	ANTECEDENTES.....	1
	Ciclo ovárico de la rata	
	Cambios hormonales con relación al ciclo ovárico de la rata	
	Cambio conductuales en relación al ciclo ovárico de la rata	
	Anatomía y fisiología del aparato genital de la rata hembra	
	Aferencias y eferencias del aparato genital de la rata hembra	
	Estructuras cerebrales y espinales implicadas en la conducta sexual femenina	
	La Corteza Prefrontal	
	La Amígdala	
	Estudios de estimulación vagino-cervical (EVC)	
	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	22
	HIPÓTESIS.....	24
	OBJETIVO GENERAL.....	25
	Objetivos particulares	
	MATERIALES Y MÉTODO.....	26
	RESULTADOS.....	27
	Histológicos	
	Conductuales	
	Cambios electroencefalográficos en relación al ciclo estral de la rata	
	EEG de CPFm	
	EEG de AmM	
	DISCUSIÓN.....	39
	CONCLUSIONES.....	47
	BIBLIOGRAFÍA.....	48

ABREVIATURAS

AMN	Actividad multilineuronal
AmM	Amígdala medial
AID	Corteza insuloagranular dorsal
AIV	Corteza insuloagranular ventral
BSNT	Núcleo de la base de la <i>stria terminalis</i>
c-fos	Gen de expresión temprana c-fos
CPFm	Corteza prefrontal medial
Cg1	Corteza del cíngulo 1
Cg2	Corteza del cíngulo 2
Cg3	Corteza del cíngulo 3
D	Diestro
EEG	Actividad y/o registro electroencefalográfico
EVC	Estimulación vaginocervical artificial
EV	Estimulación vaginal
Fr	Área prefrontal
FSH	Hormona foliculo estimulante
FOS-IR	Inmunorreactividad a c-fos
IR-ES	Inmurreactividad a receptores de estrogénos
mPOA	Area preóptica medial
PA	Potencia absoluta
P-E	Proestro-Estro
PR	Potencia relativa
r	Correlación
VLO	Corteza orbital ventrolateral
VO	Corteza orbital ventral

RESUMEN

Numerosos trabajos han puesto de manifiesto la importancia de la amígdala medial en la modulación de la conducta sexual femenina. En contraste, existen pocos reportes en los cuales se haya involucrado a la corteza prefrontal en la conducta sexual. Sin embargo, se ha sugerido que ambas estructuras participan en la integración motivo-emocional de la conducta sexual y que juegan un papel importante en la integración de estímulos sobre todo olfatorios y somatosensoriales, en particular de la estimulación vaginocervical (EVC). Los diversos trabajos de actividad cerebral por la activación de genes de expresión temprana (c-fos) han mostrado una alta activación de la amígdala medial y una menor activación de la corteza prefrontal, sin embargo, el papel específico de esta activación en relación a la EVC no ha sido totalmente esclarecido. Así, en este trabajo, evaluamos la actividad electroencefalográfica (EEG) de la corteza prefrontal medial (CPFm) y de la amígdala medial (AmM) en relación a las diferentes fases del ciclo estral de la rata y durante la EVC analizando los cambios producidos en el patrón EEG. Ratas Wistar vírgenes de 250-300 g fueron implantadas bilateralmente en la CPF y en la AmM y se registró la EEG de estas estructuras durante el estado basal de vigilia-quieto y durante la EVC en las fases de Proestro-Estro (P-E) y Diestro (D). Se encontró que las ratas en D presentaron una mayor activación EEG tanto en la CPFm y AmM durante el estado basal respecto a las ratas en P-E. Durante la EVC, sólo las ratas en P-E presentaron una mayor activación EEG en ambas estructuras, respecto al estado basal; activación que no fue evidente en las ratas en D. Únicamente en la amígdala medial de las ratas en P-E se encontró una activación diferencial durante la primera mitad de EVC respecto a la segunda mitad de EVC. Sólo en las ratas en P-E durante la primera mitad de EVC la correlación interamigdalina de la banda de 8-12 Hz aumentó respecto a la primera mitad de EVC en las ratas en D. Además, las ratas en P-E presentaron una mayor correlación interamigdalina de la banda de 13-21 Hz en la segunda mitad de EVC respecto a la segunda mitad de EVC de las ratas en D. Estos resultados ponen de manifiesto que la funcionalidad de la CPFm y AmM varía en relación al ciclo estral y que la amígdala muestra una mayor sensibilidad a la EVC pero sólo durante el P-E, mostrando también una mayor sensibilidad a las cualidades placenteras o aversivas de tal estimulación. Los cambios EEG característicos presentados en la AmM durante la

EVC son indicadores del papel modulador de ésta estructura en la conducta reproductiva y muestran evidente participación en la percepción de estímulos sensoriales biológicamente relevantes.

INTRODUCCIÓN

La conducta sexual es una conducta motivada que requiere para su inicio y mantenimiento de una regulación hormonal y sensorial previa. Se ha descrito que la estimulación somatosensorial de origen cutáneo (región perineal y flancos traseros) y vagino-cervical (EVC) juega un papel importante para la inducción de la lordosis, así como en la inducción de cambios hormonales necesarios para la gestación y pseudogestación en la rata (Guevara Guzmán y col.1996). Tal información sensorial es llevada al sistema nervioso central (SNĈ) a través de diferentes nervios de origen simpático y parasimpático (pudendo, pélvico e hipogástrico) (Sato y col.1989). La información aferente resultante de la EVC que va por el nervio vago y pélvico activa grupos neuronales dentro del área preóptica medial, amígdala medial (AmM) y núcleo de la base de la *stria terminalis* (Erskine, 1993; Ganima y col. 2000). La amígdala influye sobre la reproducción y recibe una gran cantidad de proyecciones corticales, incluyendo a la corteza prefrontal. Ambas regiones son sitios de convergencia de información sensorial de todas las modalidades y están involucradas en procesos de memoria, emoción y de asociación estímulo-reforzamiento (McDonald, 1998).

La EVC artificial, mediante el uso de un embolo de vidrio, consiste en aplicar una presión constante (300g) sobre la pared del cerviz (Komisaruk y Diacow, 1973). Dicha estimulación, así como la provocada durante la cópula normal, induce cambios en la actividad eléctrica de varias estructuras cerebrales, cambios que a su vez son modulados por la fase del ciclo estral en que se encuentre la rata (Berkley K.J. y col.1990; Berkley y col.1993a,b,c)

El Objetivo de este trabajo fue determinar si la EVC se asocia con cambios EEG característicos en la Corteza Prefrontal Medial (CPFm) y en la Amígdala Medial (AmM) y si esta actividad EEG característica cambia en relación al ciclo estral de la rata.

ANTECEDENTES

Ciclo ovárico de la rata

La rata es un mamífero poliéstrico, no estacional y con ovulación espontánea. La ovulación ocurre cada 4 o 5 días a través de todo el año (Freman, 1994). La palabra *estro* proviene de una adaptación latina del vocablo griego "oistros" que significa frenesí. Dicho término fue usado por Heape (1900) para definir "el periodo especial de deseo sexual de la hembra", diferenciándolo del "celo" del macho. Lo contrario del *estro* es el *anestro*, una temporada de no-crianza o periodo de descanso en las hembras con reproducción estacional; durante la cual, los ovarios y órganos accesorios reproductivos se encuentran relativamente inactivos y los intentos de cópula por parte del macho son rechazados (Freman, 1994).

El ciclo estral de la rata es dividido en cuatro fases de acuerdo con características citológicas, hormonales y conductuales específicas:

Proestro: Es el periodo anterior al *estro*. Se le define también como el estado preparativo para el *estro*, siendo la etapa de calor o mayor receptividad sexual la etapa final del *proestro* y la etapa inicial del *estro*.

Estro: Se describe como el periodo en el que la hembra es receptiva al macho. La disponibilidad de la hembra para la cópula se relaciona con la fertilidad, característica de esta etapa.

Metaestro: Final del periodo de *estro*. Es un periodo corto de recuperación previo al *diestro*.

Diestro: Periodo en que el rechazo al macho es muy evidente. Si la fertilización no se lleva a cabo la hembra regresa a la fase de *proestro* y el ciclo comienza de nuevo (Heape, 1900).

La duración de las fases es variable, pero se mantienen cierto promedio temporal: el *proestro* dura de 12 a 14 horas, el *estro* de 25 a 27 h, el *metaestro* de 6 a 8 h y el *diestro* entre 55 y 57 h (Long y Evans, 1922; Astwood, 1939; Hartman, 1944; Mandl, 1951 a y b). Sin embargo, los eventos de este ciclo están a su vez bajo control del fotoperiodo, el cual ejerce una gran influencia sobre la incidencia y la duración de este.

El ciclo estral puede ser monitoreado continuamente mediante la observación al microscopio de los tipos celulares predominantes en las paredes del tracto vaginal (frotis vaginal). Durante la etapa de **proestro**, se presentan predominantemente células epiteliales nucleadas, y algunas células cornificadas que no presentan un núcleo observable. Durante la etapa del **estro**, predominan las células epiteliales cornificadas escamosas, no presentan núcleo visible y contienen un citoplasma granular. En el **metaestro**, predominan leucocitos, que aparecen junto a un número considerable de células epiteliales escamosas cornificadas; los leucocitos son pequeños y con un citoplasma granular. Finalmente, en el **diestro**, predominan una gran cantidad de leucocitos y unas pocas células epiteliales nucleadas. Para terminar el ciclo, la fase de proestro se manifiesta de nuevo, que se caracteriza por la ausencia de leucocitos en el flujo vaginal y la predominancia de células epiteliales nucleadas (Freeman, 1994) (Figura 1).

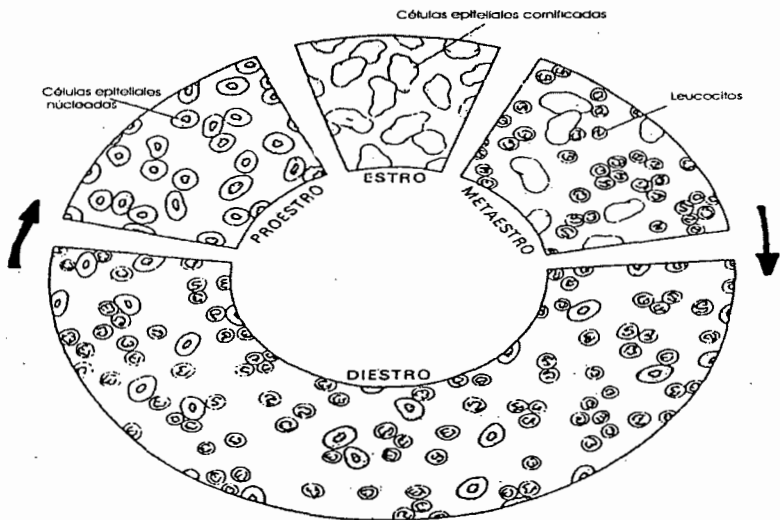


Figura 1. Células características del frotis vaginal durante las diferentes etapas del ciclo estral de la ratona (adaptado de Freeman, 1994)

Cambios hormonales

Las variaciones en el ciclo estral son producto de una serie de cambios en la síntesis de mensajeros químicos hormonales. La región anterior de la glándula pituitaria (neurohipófisis) lleva a cabo la secreción de varias hormonas que ejercen una influencia sobre los órganos de secreción endócrina conocidos como gónadas (ovarios y testículos), de ahí el nombre de gonadotrofinas. En el caso de LH, sus niveles séricos permanecen bajos desde el inicio del estro (poco después de la ovulación), hasta la mitad del proestro, donde sus niveles en sangre aumentan, induciendo la ruptura del folículo y la ovulación; el patrón de secreción de la hormona folículo estimulante (FSH) y de prolactina es muy similar al de LH (Freeman, 1994). Durante el periodo de 4 días que dura el ciclo estral, se observa que en el plasma periférico los niveles de testosterona y androstenediona permanecen bajos durante el estro y se incrementan durante el metaestro alcanzando un nivel máximo en el proestro, proceso muy similar a lo que sucede con el estradiol (Freeman, 1994) (**Figura 2**). Durante el proestro aumenta la secreción del 17β - estradiol, desencadenando el pico ovulatorio de la hormona luteinizante (LH) a la mitad del proestro (Freeman, 1994; Pardey-Borrero, y col., 1985). Los niveles de estradiol secretado por los ovarios en el plasma sanguíneo durante el estro son bajos. Al final del proestro, un pico de progestinas (progesterona y $20 - \alpha$ - dihidrotestosterona) desencadena la ovulación durante la segunda mitad del proestro y primera mitad del estro, de modo que en la tarde del estro, el nivel de progesterona desciende a un estado basal otra vez (Freeman, 1994). En el diestro, se eleva la secreción de progesterona, preparando el tracto reproductivo para la recepción del óvulo fertilizado (Sumano y Ocampo, 1988).

La principal hormona luteotrópica hipofisaria que se encuentra en la rata es la prolactina. En la medida en que el estado de preñez (ej. pseudogestación) se manifiesta, la secreción de prolactina se incrementa, de ahí que la información que influye sobre los mecanismos que promueven o inhiben la pseudogestación son a la vez, mecanismos que controlan la síntesis y liberación de prolactina. Cuando se produce una cópula infértil, el ciclo estral se caracteriza por tener un pequeño periodo de diestro y las subsecuentes

fases del ciclo estral, después de lo cual la rata entra en un estado de pseudogestación. Zielmaker (1965) concluyó que la cópula desencadena periodos de liberación de prolactina por acerca 8 días, independientemente de la presencia de la corporea lutea. Esta estimación toma en cuenta la necesidad de la acción de retroalimentación positiva de la progesterona de por al menos dos días para producir una pseudogestación automantenida. Las observaciones de Greep y Hisaw (1938) concluyeron que los efectos de la estimulación cervical en la rata podían ser retenidos casi el mismo tiempo que aquellos efectos producto de la estimulación durante la cópula, ej. durante 5 o 6 días.

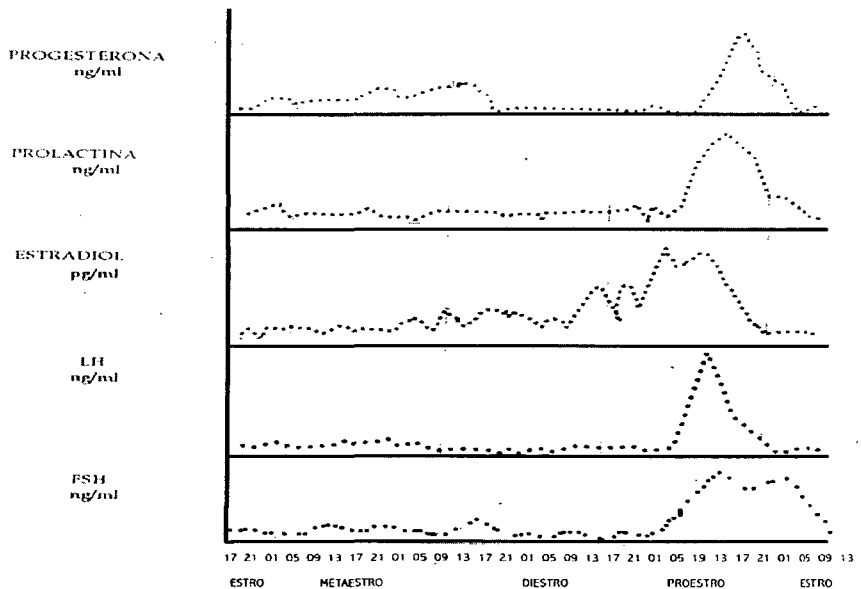


Figura 2. Principales hormonas que participan en la conducta reproductiva de la rata hembra y sus niveles en suero durante las diferentes etapas del ciclo estral (adaptado de Freeman, 1994)

Cambios conductuales en relación al ciclo ovárico de la rata

Las hormonas afectan al sistema nervioso de diversas maneras, ya sea excitando, inhibiendo o modulando la actividad neuronal en estructuras cerebrales específicas, que la intensidad, agudeza, sensibilidad y eficacia de los sistemas sensoriales. Las hormonas implicadas en la reproducción elevan la probabilidad de que estímulos específicos provoquen conductas concretas que lleven al organismo a una cópula exitosa a través de la intensificación en la eficacia de los sistemas sensoriales (Nelson, 1996).

Las ratas hembra en estro son más activas y menos tímidas que las hembras en diestro, esta diferencia se le ha atribuido a los altos niveles circulantes de estrógenos previos al estro. Además, existe evidencia de que algunos de los productos ováricos pueden alterar la agudeza olfatoria (Pietras y Moulton, 1974) y promover la preferencia por olores “biológicamente relevantes” (Lee e Ingersoll, 1979; McClintock, 1987).

El anestro incluye a las fases de metaestro y diestro, es característico que los ovarios y órganos accesorios se encuentren en un reposo relativo y por lo tanto la rata hembra se muestra hermética a los intentos de cópula por parte del macho. Durante la primera parte del ciclo o inicio del proestro el rechazo por parte de la hembra a los intentos sexuales del macho disminuyen progresivamente. Al final del proestro (tarde) e inicio del estro, la hembra se torna receptiva y permite que ocurra la cópula. Durante estas fases la hembra presenta conductas que se caracterizan principalmente por tres aspectos: la **atractividad**, que es el valor de estímulo que tiene la hembra para un macho determinado lo que a su vez comprende la identificación de aquellas cualidades que ayudan al macho a detectar la disposición sexual de la hembra; es decir, aquellas características o cualidades que posee una hembra receptiva, como los cambios en la coloración de la piel perigenital y la producción de secreciones, tales como ferohormonas; la **proceptividad**, que comprende todas las actividades apetitivas de la hembra e incluye un repertorio de acciones de la hembra dirigidas al macho y que constituyen su iniciativa para establecer o mantener la interacción sexual a través de la ejecución de carreras, saltos en zig-zag y movimientos rápidos de las orejas; y por último la **receptividad**, la cual consiste en adoptar una postura corporal adecuada que

facilite la cópula, reflejo denominado lordosis (Thornton y Finn, 1998). El término lordosis se origina de un término médico que se refiere a la curvatura de la columna vertebral o espina dorsal. Esta postura generalmente consiste en un arqueamiento pronunciado de la espalda o lomo, acompañada por la desviación de la cola, con el fin de exponer la región genital y así facilitar la intromisión por parte del macho (Thornton y Finn, 1998). La respuesta de lordosis en las hembras de los mamíferos llevada a cabo durante el apareamiento, es principalmente ocasionada por la estimulación de las patas delanteras y áreas abdominales y pélvicas del macho en áreas específicas de la piel de la hembra, perineo, vagina y cervix. Después de la fase de estro la receptividad de la hembra comienza a disminuir progresivamente durante las fases de diestro y metaestro. Este tipo de comportamiento o patrón de conductas es cíclico (Pfaff y col., 1978).

El término "receptividad" que describe el reflejo de lordosis en respuesta a la monta del macho, se asocia con el aspecto consumatorio de la interacción sexual de la rata hembra. En el componente motivacional de la conducta sexual femenina se incluyen las aproximaciones y retiros intermitentes para con el macho, lo que permite a la hembra controlar y seleccionar los rangos de estimulación sexual recibida. Para medir la motivación sexual de la rata hembra se han diseñado diversas estrategias experimentales, tales como paradigmas de preferencia de pareja, en el cual el macho suele estar sujeto a la caja de registro o limitado a un lugar y no puede acercarse a la hembra, siendo ésta la que se aproxima o aleja a voluntad; o también, la hembra es puesta en una caja de registro la cual es dividida en dos compartimientos, cada uno con una abertura en la base, la cual permite a las hembras, pero no a los machos, moverse libremente de un compartimiento a otro. Esta conducta es referida como **pacing** o "marcar el paso" y solo se observa bajo condiciones seminaturales de laboratorio (Avitsur y Yirmiya, 1999; Erskine y Hanrahan 1997).

Un gran número de estudios, sugieren que la receptividad de las ratas ovariectomizadas está bajo la influencia de un número considerable de variables, aparte de la administración sistemática de hormonas. Se sugiere que en la motivación sexual femenina intervienen dos procesos: la acción de las hormonas ováricas en el sistema nervioso central que incrementan la disponibilidad de la hembra para el apareamiento, y por otra parte, la estimulación corporal y genital por parte del macho que inducen el

rechazo o aceptación por parte de la hembra (Avitsur y Yirmiya 1999; Madlafousek y Hlinak 1977; Erskine 1985). Hardy y DeBold (1972) reportaron que cuando la estimulación cópulatoria recibida por la rata hembra va acompañada de numerosas intromisiones y eyaculaciones durante varias horas, las montas del macho resultan en un incremento de las conductas de rechazo por parte de la hembra y en un decremento de la lordosis. La intensidad de la estimulación copulatoria determina el nivel de aproximaciones hacia el macho cuando la hembra está “marcando el paso” del contacto sexual (pacing), a mayor intensidad en las conductas sexuales de ejecución (monta, intromisión y eyaculación) más tiempo tardan en reanudar la cópula. Esto es, las latencias de regreso son más largas después de la eyaculación que antes de la intromisión, las cuales por su parte son más largas que después de la monta (Coopersmith y col. 1996; Erskine y Hanrahan 1997; Erskine 1985). Durante las montas con intromisiones y/o eyaculaciones, la postura inmóvil de la lordosis es mantenida durante mayor tiempo que con relación a las montas sin intromisión. Este efecto se debe probablemente a la estimulación de la vagina, ya que su denervación evita tal prolongación (Komisaruk y Wallman, 1977). En este contexto, un aspecto interesante respecto a la estimulación copulatoria es que puede tener un efecto dual (facilitador e inhibidor) sobre la conducta sexual femenina, efecto que es mantenido durante más tiempo que la estimulación misma. La facilitación o inhibición de la conducta copulatoria dependerá del patrón y cantidad de estimulación recibida. Se ha descrito que en la cópula espontánea la receptividad es incrementada por montas sin intromisiones o cuando la hembra ha sido expuesta, previo a la cópula, al olor del macho (Ardy y DeBold, 1973). Considerando estos aspectos, es probable que la estimulación vaginal tenga una cualidad aversiva que ejecute un papel inhibidor sobre la receptividad; a medida que la estimulación vaginal mantiene una intensidad moderada la receptividad se incrementa (Erskine y col. 1989; Erskine 1985).

Anatomía y fisiología del aparato genital de la rata hembra

En la rata hembra, los ovarios se localizan cerca de los riñones a lo largo del borde lateral del músculo *psaos* y están envueltos por grasa. En el adulto, los ovarios se observan como una masa de folículos. El oviducto, un tubo mucho más enroscado, tiene un extremo abierto conectado al ovario y un extremo más distal que se bifurca en el útero. Rodeando al oviducto está el mesenterio oviductal, el cual forma una estructura en forma de bolsa, llamada bolsa ovárica. Así mismo, los cuernos del útero aparecen fusionados distalmente, donde se localizan dos aberturas uterinas distintas hacia la vagina. Cada abertura tiene su propio ostium interno y externo, así como un canal cervical (Bivin y col.1979) (Figura 3).

La vagina de una rata madura mide aproximadamente de 15-20 mm de largo y de 3-6 mm de diámetro. Este tejido está compuesto por tres láminas: la serosa externa, una pequeña lámina muscular y la mucosa interna. Tanto el clítoris en forma de gancho como el *ostium* uretral están localizados en el cono superior de la vagina, con una protuberancia de 3-6 mm caudalmente. La vagina, al ser un tejido sexual accesorio, es altamente sensible a las concentraciones hormonales; los diferentes estados del ciclo estral están asociados a los distintos cambios morfológicos del tejido vaginal (Shabsigh y col.1999).

La única estructura genital de la rata hembra conectada con el sistema urinario es el clítoris, localizado en un prepucio con las glándulas *vestibuli bulbi* similares a las glándulas prepuciales del macho. La vagina está localizada dorsalmente respecto a la uretra y están totalmente separadas. La uretra no entra en la vagina o vestíbulo como se observa en otros animales domésticos (Bivin y col.1979).

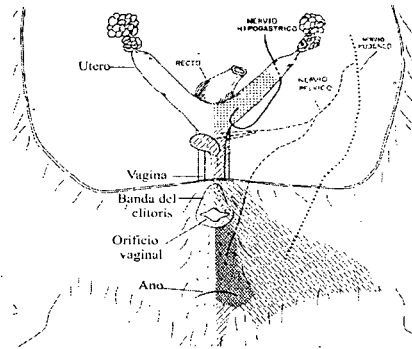


Figura 3. Anatomía del aparato reproductor de la rata hembra.

Aferencias y eferencias del aparato genital de la rata hembra

A pesar de los muchos estudios que se han realizado en el último siglo acerca de las vías o rutas exactas que siguen los nervios del aparato reproductor femenino, sus funciones no han sido claramente demostrados. En la rata hembra, las aferencias sensoriales desde los receptores de presión en la piel de los flancos o ancas, la base de la cola y la región perineal, así como de la vagina y el cervix juegan un papel importante en la inducción de la lordosis. La estimulación sensorial durante la cópula desde las partes más superficiales y profundas de los órganos genitales, pueden viajar a través de tres diferentes nervios: **el pélvico, el pudendo y el hipogástrico** (Veening y Coolen 1998) (Figura 4).

El **nervio pélvico** (rama viscerocutánea) de la rata hembra contiene aferencias desde la piel perineal, de la pared vaginal y el útero (Veening y Coolen 1998; Peters y cols. 1987). La mayor densidad de esta inervación y las reacciones más evidentes pueden ser observadas en la región vaginal, más específicamente en la base del cervix uterino (Nance y cols. 1988; Berkley y col. 1988). Los estímulos que activan estas fibras sensoriales dan lugar a la distensión y movimiento de los músculos durante el apareamiento, siendo estos estímulos importantes para la manifestación de la lordosis (Carlson y col. 1965). Además es responsable de la analgesia inducida por la cópula (Gomora y col. 1994), y participa en la inducción de la pseudopreñes (Carlson y col.

1965). Estudios conductuales en ratas han mostrado que las neurectomías pélvicas interfieren con los eventos dependientes de estímulos sensoriales como la inducción de la pseudopreñez o la lordosis, procesos que ocurren cuando el cervix es estimulado. Estudios electrofisiológicos en ratas han demostrado que la distensión o contracción del canal vaginal y el cervix evocan actividad multiunitaria en el nervio pélvico (Berkley y col.1990).

Una gran diversidad de respuestas son evidentes en las fibras mecanorreceptoras de la vagina. La vagina está altamente innervada por fibras sensoriales aferentes en la región de la base del cervix; estudios neurofisiológicos indican que la parte más sensitiva de la vagina se localiza en la pared rostrolateral. Las variaciones en el tipo de estímulo que activan estas fibras se debe a que cada una de estas presentan mayor sensibilidad a un tipo de estímulo característico. Es decir, algunas fibras se activan mejor ante la distensión y otras se activan más fácilmente ante la estimulación a través de todo el canal interno de la vagina, en dirección hacia el cervix. Esta combinación de respuestas indican que las fibras del nervio pélvico con sus mecanorreceptores en la vagina normalmente proveen información acerca de la dinámica del estímulo que ocurre durante el apareamiento (Berkley y col., 1990).

Esta actividad vaginal mecanorreceptora de las aferencias del nervio pélvico están involucradas en el reflejo de lordosis y sus posteriores consecuencias lúteas, pero también juegan un papel importante en la apreciación consciente de la estimulación mecánica de la vagina como una sensación inocua o como una dolorosa. Estas fibras nerviosas pélvicas invariablemente poseen una gran variedad de respuestas (Berkley, 1990).

En la rata hembra, el **nervio pudendo** es activado por estímulos cutáneos desde la región perineal y por la estimulación táctil de la banda del clítoris, y no responde ante ninguna estimulación interna (Peters y cols.,1987). Además, los estímulos propioceptivos desde los músculos estriados del piso pélvico son transmitidos por el nervio pudendo (Veening y Coleen, 1998; McKenna y Nadelhaft, 1986). El nervio pudendo inerva los músculos estriados perineales en hembras y machos. Además, lleva información aferente desde el pene o clítoris y piel perigenital; es un componente importante del control espinal de las funciones sexuales y excretoras. Investigaciones en

humanos, monos, perros y gatos han revelado que las motoneuronas pudendas están localizadas en el núcleo de Onuf's. Las motoneuronas pudendas de la rata hembra están involucradas básicamente en el control de las excreciones de los esfínteres. El nervio pudendo representa la ruta o vía simpática del control de la función sexual, además del nervio hipogástrico y la cadena simpática (McKenna y Nadelhaft, 1986). La monta parece activar principalmente el nervio pudendo, sin embargo esta estimulación genito-sensorial superficial no es suficiente para inducir la inmunorreactividad para la proteína c-fos (FOS-IR), mientras que la intromisión induce FOS-IR en el nervio pélvico, a su vez esta estimulación viscerosensorial parece ser la responsable de la FOS-IR relacionada con la eyaculación (Veening y Coleen, 1998).

El **nervio hipogástrico** parece tener fibras aferentes con origen en el cuerno del útero (Veening y Coleen, 1998; Berkley y col. 1988; Peters y col. 1987). Las fibras aferentes desmielinizadas del útero de la rata son capaces de transportar una gran variedad de información mecánica y química. Las fibras aferentes del nervio hipogástrico pueden transportar información precisa acerca de los aspectos espaciales y temporales de los estímulos mecánicos que se llevan a cabo en el útero así como otros órganos pélvicos viscerales; estas fibras son responsables de la transmisión de la información acerca de los estímulos nocivos y/o inocuos que producen una sensación de dolor (Berkley y col., 1988 y 1990).

Las fibras aferentes desde el cervix viajan a través del nervio hipogástrico y pélvico hasta el SNC en dos niveles segmentales separados: T₁₃-L₃ a través del nervio hipogástrico, y L₆-S₁ por medio del nervio pélvico (Berkley y col. 1993b). A pesar de que las fibras de ambos nervios llevan información sobre la estimulación del cervix, las respuestas características son diferentes. Las fibras del nervio hipogástrico transmiten información básicamente sobre la estimulación mecánica y química intensa y efímera sobre el útero/cervix; por otra parte, las fibras aferentes pélvicas transmiten información de estímulos mecánicos y químicos de baja intensidad y prolongados sobre el canal vaginal hacia la cuerda lumbosacra y el cervix. Las fibras de ambos nervios responden ante la estimulación, sin embargo el nervio hipogástrico requiere de una estimulación considerablemente más intensa para su activación respecto de las fibras del nervio pélvico (Berkley y cols. 1993 a,b).

La estimulación copulatoria cervical provocada naturalmente por un macho o de forma mecánico-artificial (EVC) ocasiona contracciones de respuesta en los músculos posturales (iliaco y psoas mayor), pero inhibe las contracciones de los músculos pélvicos producidos por la estimulación perineal. Este fenómeno refleja su acción excitadora e inhibidora sobre las motoneuronas correspondientes (Pacheco y col. 1998).

Las fibras aferentes uterinas son más sensitivas durante el estro vaginal que durante otras etapas del estro. Soportando la hipótesis de que el complejo de propiedades biológicas de las fibras sensoriales que inervan el útero varían respecto a los cambios característicos del tejido uterino, como los que suceden durante el ciclo estral. Las respuestas propias de las fibras aferentes uterinas están sujetas a cambios sistemáticos y no sólo como función del estro o de la irritación, sino también como una función de las enfermedades, madurez reproductiva, estado de preñez, y muchas otras variables (Ghanima y col. 2000; Berkley y col. 1988).

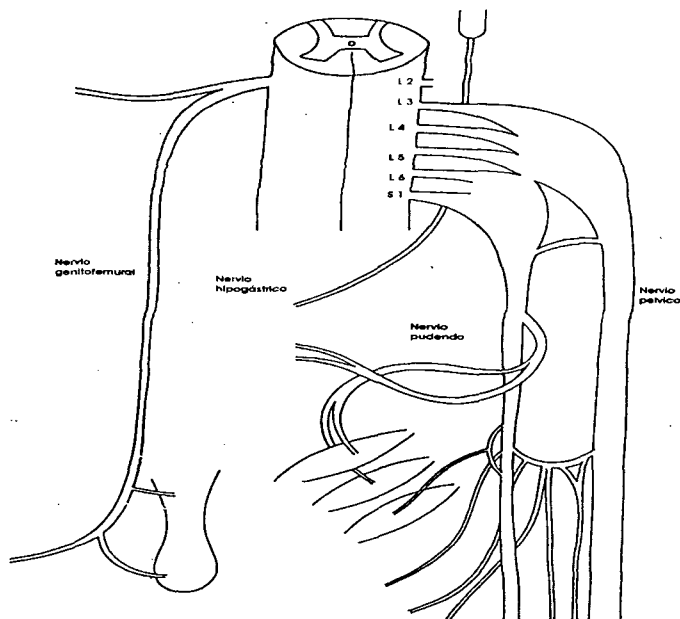


Figura 4. Principales nervios que participan en la conducta reproductiva de la rata. Estructuras cerebrales y espinales implicadas en la conducta sexual femenina

La activación neural en relación a la interacción sexual ha sido estudiada en los cerebros tanto de machos como de hembras utilizando diversas técnicas, entre las que destacan la técnica de inmunorreactividad hacia genes de expresión temprana como c-fos (FOS-IR) como medida de activación, la inmunorreactividad a receptores de estrógenos (IR-ES), y diversas técnicas electroencefalográficas, tales como el electroencefalograma (EEG), la actividad multineuronal (AMN) y la actividad unitaria, entre otras.

Existe una larga lista de estructuras neurales que se han involucrado en la actividad sexual, estas estructuras concentradoras de hormonas del tallo cerebral y del cerebro medio de roedores, tanto en hembras como machos, son activadas durante la interacción copulatoria, tal actividad está asociada con la estimulación de los nervios sensoriales que inervan el pene o la vagina/cervix, con los estímulos olfatorios o ferromonales, así como en relación a incentivos sexuales condicionados. Estas regiones incluyen el área preóptica, *septum* lateral, el núcleo de la base de la *stria terminalis*, hipotálamo paraventricular, hipotálamo ventromedial, amígdala medial, núcleo ventral paramamilar, *tegmentum* ventral, la parte parvicelular del núcleo tálamico subparafascicular, el campo tegmental central y el núcleo peripenduncular. Regiones que no tienen los receptores intracelulares esteroideos clásicos, como el estriado dorsal y ventral o la corteza prefrontal también son activados (Pfaus y Heeb, 1997; Rajendren y Moss, 1993; Pfaus y col.1994; Veening y Coolen 1998; Erskine y Hanrahan, 1997; Aggleton, 2000). Las áreas del cerebro relacionadas con la facilitación e inhibición de la conducta sexual femenina, en especial la lordosis, incluyen al cerebro anterior, hipotálamo, mesencéfalo, parte baja del tallo cerebral y la médula espinal (Pacheco y col.1998; Pfaus y Heeb, 1997; Veening y Coleen, 1998; Xiao y Becker, 1997).

En la rata hembra se ha logrado detectar la activación de grupos de neuronas FOS-IR ante la estimulación vaginocervical que son similares a los grupos de neuronas marcadas específicamente en la eyaculación de los machos (Pfaus y cols. 1993; Tetel y cols.1993). En las ratas hembra el grado de activación FOS-IR en muchas de las regiones concentradoras de hormonas esteroideas fue mucho menor después de la conducta sexual sin intromisiones respecto a las montas con intromisiones similarmente a la estimulación manual de los flancos traseros o así como la sección del nervio pélvico

indujo una menor FOS-IR. El reflejo de lordosis por sí solo no induce la expresión de c-fos, y no está bien claro todavía como es que otras conductas sexuales como las conductas proceptivas, de sollicitación o de "pacing" inducen FOS-IR en diferentes regiones cerebrales (Pfaus y Heeb, 1997).

Por otra parte, varias estructuras del sistema límbico han sido implicadas en la regulación de la funcionalidad gonadal. Así se ha demostrado que la estimulación eléctrica de la amígdala ocasiona la ovulación en el conejo, gato y rata. A su vez lesiones bilaterales en el hipocampo y la amígdala en la rata adulta alteran el ciclo estral, sugiriendo que estas estructuras juegan un papel modulador en el control de las funciones de las gónadas (Teresawa y Timiras, 1968).

La participación de estas estructuras en el control de la conducta sexual ha sido investigado ampliamente. Klüver y Bucy (1939) mostraron que las ablaciones de la amígdala producían "hipersexualidad" en monos. Schreiner y Kling (1953) demostraron que lesiones restringidas a la amígdala podrían ocasionar estas conductas de hipersexualidad en gatos de ambos sexos (Mascó y Carrer, 1980). El bulbo olfatorio, a su vez, juega un papel importante en la conducta sexual de la rata durante el ciclo estral. La bulbectomía da origen a un aumento en la receptividad sexual (Rodríguez Sierra y cols., 1975) debido a que incrementa el sitio de unión de los estrógenos a sus receptores en la amígdala (Guevara-Guzman y col. 1997; McGinnis y col. 1985).

La Corteza Prefrontal

Las conexiones del núcleo talámico medio dorsal con las áreas corticales frontales han servido de criterio para identificar y definir a la corteza prefrontal (CPF) en una amplia variedad de especies (Fuster, 1997; 2001). Es la corteza de asociación de los lóbulos frontales y está conectada con el tallo cerebral, el tálamo, los ganglios basales y con el sistema límbico. Mucha de esta conectividad con las estructuras subcorticales es recíproca. De manera agregada, las conexiones aferentes desde el tallo cerebral, el diencefalo y el sistema límbico convergen hacia la CPF con información del medio interno, los niveles de motivaciones para el animal, así como los aspectos viscerales de las emociones (LeDoux, 1993, Paus y col. 1999). En general, la influencia de la CPF en la

atención, y su papel en el procesamiento selectivo de la información es inseparable de su papel en la organización de las acciones dirigidas a una meta (Damasio y col. 1994).

La CPF de la rata incluye diversas regiones del lóbulo frontal, y funcionalmente suele dividirse en CPFmedial y CPForbital. La corteza del cíngulo de la rata comprende las áreas Cg1, Cg2 y Cg3. La corteza prefrontal medial comprende desde Cg1 hasta Cg3, incluyendo el área infralímbica (IL) (Kolb,1990a,b; Beckstead, 1976, 1979; Divac y cols. 1978a, b; Domisick 1969, 1972; Zilles y Wree, 1985). La corteza infralímbica (IL) recibe aferencias desde el hipocampo, *subiculum*, núcleo talámico medio dorsal, y área tegmental ventral (Berger y cols.1976; Swanson, 1981), y se proyecta hacia el núcleo *reuniens*, el área hipotálamica lateral y núcleo del tracto solitario (Kolb,1990a,b; van der Kooy y col.1982) (Figura 5).

Especialmente relevantes para las funciones integradoras de la conducta en la CPF son las conexiones aferentes desde la amígdala y el hipotálamo. La amígdala proyecta ventral y medialmente hacia la CPF (Porrino y col. 1981; Ray y Price, 1993), al igual que el hipotálamo (Jacobson y col. 1978). Estas conexiones probablemente juegan un papel importante en la representación y promoción de las conductas emocionales (LeDoux, 1993). La CPF esta conectada con otras áreas de asociación corticales, pero no con la corteza sensorial o motora primaria (Fuster, 2001). La mayoría de las áreas corticales tienen acceso a la amígdala y a estructuras asociadas vía la corteza perineal, a su vez el complejo amigdalino tiene conexiones recíprocas con la mayoría de las regiones prefrontales (Cg2, Cg3, IL, AID, AIV, LO y VLO) (Amarral, 1998; Ferino y col. 1987; Swanson, 1981).

Las lesiones de la CPF parecen alterar las conductas sexuales y el comportamiento social en diferentes mamíferos (Fritts y cols., 1998; Holson, 1986). Muchas de las conductas sexuales y sociales requieren de una secuencia temporal y espacial bien organizada, donde las alteraciones conductuales en las ratas lesionadas se han atribuido al efecto directo sobre el procesamiento y evaluación de los estímulos olfatorios. Además, estas lesiones alteran el componente afectivo o emocional del procesamiento de los estímulos ambientales, ya que recibe importantes aferencias desde la amígdala y los sistemas dopaminérgicos mesolímbicos (Krettek y Price, 1977; Lindvall y cols. 1978).

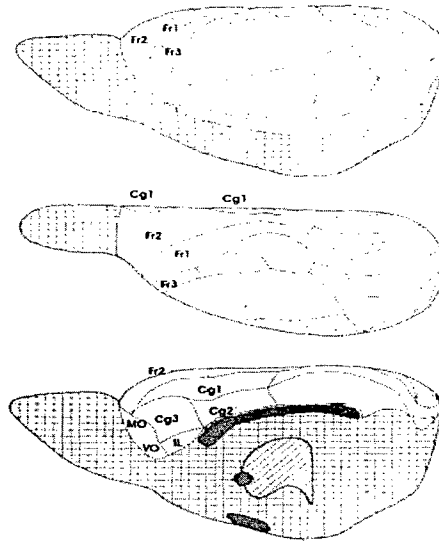


Figura 5. Clasificación funcional de la CPFm de la rata: corteza del cíngulo (Cg) Cg1, Cg2, Cg3 e infralímbica (IL) (adaptado de Kolb, 1990a).

La Amígdala

En primates, la amígdala se localiza en la parte anteromedial del lóbulo temporal, ventromedial al estriado y anterior a la parte ventral de la formación hipocampal. Tiene una posición similar en especies no primates, tales como el gato y la rata donde la principal diferencia radica en que el lóbulo temporal no está bien desarrollado (Aggleton, 2000) (**Figura 6**). Después del hipocampo, la amígdala es la estructura más importante del sistema límbico.

La amígdala en todos los mamíferos es anatómicamente compleja ya que está conformada por numerosos núcleos que se relacionan entre sí, así como con regiones no amigdalinas adyacentes. Tradicionalmente dos principales grupos de núcleos han sido reconocidos: un grupo superficial “corticomedial” (incluye el núcleo cortical, el núcleo lateral del tracto olfatorio, el núcleo medial y el núcleo central) y un grupo más

profundo "basolateral" (el cual incluye varias subdivisiones del núcleo lateral, basal y basal accesorio) (Gloor, 1997).

Pocas estructuras telencefálicas exhiben tanta diversidad en sustancias neuroactivas como la amígdala (Aggleton, 2000; Nieuwenhuys, 1985). Además de los clásicos aminoácidos neurotransmisores excitatorios e inhibitorios como el glutamato y aspartato (McDonald, 1989) y GABA (Ben-Ari y col.1976; McDonald, 1985a; McDonald y Pearson, 1989), las terminales en la amígdala incluyen sistemas colinérgicos ascendentes dopaminérgicos, adrenérgicos y serotoninérgicos (Gloor, 1997). La amígdala contiene la mayoría de los neuropéptidos que se han encontrado en el sistema nervioso central de los mamíferos. Además varios grupos de neuronas amigdalinas son receptoras selectivas de hormonas esteroideas, particularmente estrógenos (Pfaff y Keiner, 1972, 1973; Pfaff y cols, 1976; Don Carlos y col.1991) y andrógenos (Stumpf, 1972; Sar y Stumpf, 1975, 1977; Simerly y col.1990), y también corticoesteroides (Stumpf,1972; Stumpf y Sar, 1975; Warenbourg, 1981; Stopa y col. 1991). La parte anterior del núcleo medial tiene el número más grande de células concentradoras de estrógenos de toda la amígdala (Mascó y Carrer 1980; Stumpf y col.1975; Pfaff y Yasuo, 1979). Receptores opióides son particularmente abundantes en la amígdala y se encuentran en todos sus núcleos (Wamsley y col. 1982).

Al igual que muchas otras partes del cerebro la amígdala es heterogénea tanto en su estructura como en su función. Esto ha sido demostrado mediante pruebas de aprendizaje y memoria (McDonald, 1998). La estimulación y ablación de la amígdala en animales experimentales muestra su relación con impulsos biológicos y aspectos motivacionales: arousal, orientación y sueño; conductas agonistas (pelea o vuelo); alimentación y bebida; conducta maternal y reproductiva; recompensa y castigo (Kaada,1972). Durante mucho tiempo se ha considerado a la amígdala como un área crucial para el procesamiento emocional de la información sensorial o del medio externo (Gloor, 1972, 1997).

Se ha propuesto que las estructuras amigdalinas juegan un papel importante en la modulación e integración del control en la conducta sexual de la rata hembra (Erskine, 1993; Rajendren y Moss, 1993; Veening y Coolen, 1998) así como en la integración de la motivación sexual. La estimulación de la amígdala medial (AmM) induce la

ovulación, por otra parte la ablación o estimulación de la región lateral de la amígdala altera secuencialmente la conducta sexual pero no la inhibe (Teresawa y Timiras, 1968).

Las lesiones o ablaciones de esta estructura no impiden la ejecución de la conducta sexual, sin embargo las conductas no son ejecutadas secuencial y adecuadamente, sugiriendo que participa más en aspectos integradores y/o moduladores de esta conducta que en la ejecución de la misma. Esta región puede jugar un papel muy importante en las funciones neuroendócrinas relacionadas con la gestación; se sugiere que la AmM de las ratas hembra está involucrada en la generación de los cambios neuroendócrinos inducidos por la estimulación vaginocervical (EVC) asociados a la pseudogestación. Tales cambios (ej. liberación nocturna de prolactina) duran aproximadamente 12 días después de la EVC, lo que sugiere que esta estimulación activa un circuito reverberante o de "memoria" (Pfaus y Heeb, 1997). Así como el corte de los nervios olfativos y la remoción del órgano vomeronasal inhiben la conducta de preferencia de pareja, la destrucción electrolítica de la AmM también inhibe la conducta de preferencia de pareja (Coopersmith y col.1996). Lesiones en la AmM eliminan la conducta de preferencia de pareja en ratas hembra, incluso después de un tratamiento hormonal (estrógeno y progesterona). Las hembras lesionadas permanecen mucho más tiempo con el macho respecto al grupo control e incluso, no rechazan los intentos copulatorios del macho durante el anestro. Este patrón en la conducta sexual sugiere que la AmM ocasiona una disfunción en las respuestas emocionales de la conducta sexual, estando involucrada en la regulación emocional de la conducta de preferencia de pareja (Kondo y Sakuma, 2001).

Estudios de Estimulación Vagino-Cervical (EVC)

La estimulación genital interviene en una gran variedad de funciones reproductivas en la rata hembra. La estimulación puede ser tanto interna (ej. vaginal) como externa (ej. perineo) o una combinación de ambas. El proceso de estimulación vaginal (EV) comprende una gran variedad de estímulos mecánicos naturales en la región de la vagina y cervix. Tal estimulación puede resultar de la estimulación con el pene durante la cópula, o de la estimulación mecánico-artificial, bajo condiciones de

laboratorio. Esta última es conocida como estimulación vagino-cervical manual (EVC) y consiste básicamente, en estimular con una presión suficiente (200 - 400g) la región de la vagina/cervix mediante el uso de un émbolo de vidrio (Komisaruk y cols., 1994) o un globo de látex (Guevara Guzmán y cols.,1997) ó bien a través de la aplicación de descargas eléctricas (Beach, 1975). De acuerdo a la técnica descrita por Komisaruk (1973), el embolo presiona contra la vagina y cervix, los cuales están comprimidos por un tejido conectivo contenido en dos laminas muy finas cada uno de los cuales pasa por uno de los cuellos uterinos. El embolo no entra en el cuello del útero, sin embargo ejerce presión longitudinalmente sobre el canal vaginal mientras comprime el cervix.

En la rata hembra la EVC o EV da origen a una gran variedad de cambios conductuales, neuroendocrinos, autonómicos y neurales (Martínez Gomez y cols. 1992., Rodríguez Sierra y col. 1975) ya que potencializa la respuesta de lordosis, facilita o inhibe las conductas proceptivas (Crowley y col., 1976,1977); induce cambios neuroendócrinos incluyendo la liberación por la hipófisis de oxitocina, LH y prolactina (Higuchi y col., 1986, 1987); induce la pseudopreñez o preñez temprana (Erskine, 1985, 1993), atenúa las respuestas conductuales y neurales ante una estimulación no placentera (Pfaff 1980,1999), y su efecto analgésico ha sido ampliamente estudiado (Gomora y col. 1994); eleva el ritmo cardíaco y la presión arterial, así como la dilatación de las pupilas (Komisaruk y col. 1998). Además, se ha correlacionado con la activación de varias áreas específicas del cerebro (Pfaus y col.,1993,1997; Peters y col., 1997); induce cambios en la actividad unitaria de las neuronas del hipotálamo y del cerebro medio (Haskins,1983), en el complejo talámico vomeronasal (Berkley 1990, 1993 a,b,c), en el núcleo del tracto solitario (Hubsher, 1994; Pfaff, 1973) y en el bulbo olfatorio (Guevara Guzmán y col., 1996).

Los estudios iniciales de activación FOS-IR por EVC consisten en la aplicación de una simple o doble estimulación de 400g de presión sobre el cerviz durante 10 s con el émbolo de una jeringa de plástico de 1 ml, o en series distribuidas de 50 EVC (cada una de 2s) con el émbolo de una jeringa de vidrio redondeado y lubricado en intervalos de 6 min, diseñados para mimetizar el patrón temporal de la estimulación intromisiva que la hembra recibe durante una hora de cópula (Pfaus y Heeb, 1997). Pfaus y col (1994) han investigado el umbral de estimulación necesario para inducir la FOS-IR

dentro de las estructuras concentradoras de estrógenos, como el área preóptica medial (mPOA), la base del núcleo de la *stria terminalis* (BSNT), núcleo ventromedial del hipotálamo (VHM) y la amígdala medial (AmM). Las ratas ovariectomizadas y bajo tratamiento hormonal fueron sometidas a la EVC por 0,1,5,10,20,30,40 o hasta 50 veces durante el curso de una hora. Una simple estimulación fue necesaria para inducir FOS-IR en la AmM y un poco en mPOA (Pfaus y col.1993, 1994; Pfaus y Heeb, 1997).

Cambios generalizados en la actividad eléctrica del cerebro y cambios en la frecuencia y patrón de disparo del hipotálamo han sido registrados después de la estimulación vaginal y cervical en una gran variedad de especies (Veening y Coleen, 1998; Blake y Sawyer, 1972; Guevara Guzmán y cols.,1997; Ramírez y cols., 1966; Teresawa y Timiras, 1968). Los cambios en la actividad electroencefalográfica después de la EVC han sido registrados en el cerebro de la rata, Ramírez y col. (1967) han mostrado que la actividad EEG de la corteza frontal y parietal presenta un estado de post reacción a la EVC caracterizado por un EEG similar al del sueño cuando la EVC se lleva a cabo en el estro, el efecto perdura varios minutos después de la estimulación, sincronizando el EEG; en tanto que en las hembras en diestro bajo EVC predomina un EEG desincronizado parecido al del estado de alerta (Ramírez y col., 1967).

Es muy conocido que la estimulación vaginal en la tarde del diestro es incapaz de originar cambios en la actividad multiunitaria como la observada después de la estimulación en la tarde del proestro, debido a que el cerebro no ha sido adecuadamente expuesto al estrógeno (Blake y Sawyer, 1972) y que la EVC induce cambios en la actividad unitaria en el hipotálamo y tallo cerebral, en el núcleo talámico ventrobasal y en el núcleo del tracto solitario (Guevara Guzmán y col. 1997). A este respecto se ha reportado también que la actividad unitaria del bulbo olfatorio en ratas en proestro-estro manifiesta un incremento mucho mayor durante la EVC respecto al incremento observado en las ratas en diestro (Guevara Guzmán y col.1997). Hay indicios de que las hembras son sensibles al tipo de estimulación copulatoria recibida y que los patrones de esta estimulación tienen consecuencias directas sobre el subsecuente comportamiento reproductivo.

La actividad aferente de la EVC llega a la médula espinal por medio del nervio pélvico e hipogástrico, los cuales inervan las estructuras del tracto reproductivo

femenino, incluyendo la vagina, cervix y útero (Ganima y col.,2000; Berkley y col., 1990; Ginzler y Komisaruk, 1991; Gomora y col.,1994), tal y como lo demuestran los registros electrofisiológicos (Berkley y col. 1993b).

La expresión de la FOS-IR más significativa en respuesta a la EVC se observó en los segmentos L₅-S₁ en comparación con los otros segmentos lumbares. Esta área juega un papel muy importante como componente de los segmentos espinales que reciben los estímulos sensoriales vaginocervicales y sugieren que la EVC activa vías espinotalámicas y espinohipotálamicas (Burnstein y col., 1990) que probablemente median las respuestas neuroendocrinas y analgésicas ante la EVC (Crowley y col.1977).

La expresión de c-fos, producto de la EVC depende también de la etapa del ciclo estral y del tiempo de estimulación, ya que conforme aumente la EVC aumentará la expresión c-fos. La expresión mas significativa en la medula lumbosacra se presenta en la etapa de estro y la respuesta menos significativa se presenta en proestro (Ganima y col. 2000; Chinapen y col. 1992).

La receptividad de la rata hembra se incrementa con montas con pocas intromisiones o cuando a la hembra se le permite tener solo una intromisión (Hardy y DeBold, 1973). Por otra parte la receptividad disminuye por la excesiva estimulación resultado de las múltiples intromisiones. Parece ser que la estimulación vaginal facilita la lordosis y a su vez promueve conductas de rechazo, por lo que se ha propuesto que tal vez la estimulación vaginal tiene un componente facilitador, y otro aversivo que puede prevenir la receptividad (Rodríguez Sierra y col.1975).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Se ha descrito que la estimulación somatosensorial de origen cutáneo (desde la región perineal y flancos traseros) y de origen vagino-cervical juegan un papel importante para la inducción de la lordosis, así como en la inducción de los cambios hormonales relacionados con la gestación y en la manifestación de las conductas proceptivas posteriores a la EVC.

Se ha descrito que la EVC de la cópula normal o artificial puede ejercer un efecto que puede perdurar por mucho más tiempo (horas o días) que aquel producto de la estimulación misma. El que la EVC provoque facilitación o inhibición de la conducta copulatoria dependerá de la intensidad o del patrón de estimulación, así como de la latencia y duración del efecto de dicha estimulación.

La amígdala es un complejo de diferentes núcleos que está implicada en numerosas funciones, sobre todo en aquellas relacionadas con motivación, memoria y procesamiento emocional de la información sensorial o del medio externo. Su influencia sobre varios aspectos de la reproducción es a través de sus efectos sobre la secreción de gonadotropinas, secreción de prolactina y conducta sexual. Se ha reportado que la actividad neural en la AmM se incrementa durante y hasta por varios minutos o incluso días después de la EVC. Además su estimulación eléctrica o química resulta en una elevada incidencia de lordosis y de pseudogestación en la rata. Entre las numerosas aferencias y eferencias de la amígdala figura la corteza prefrontal, área cortical que juega a su vez un papel modulador importante sobre el procesamiento sensorial, procesos de memoria y organización secuencial relacionados con conducta sociales, tales como la conducta sexual y maternal.

Por otro lado se ha descrito que la sensibilidad a los estímulos sensoriales, particularmente olfatorios y somatosensoriales, así como la excitabilidad y actividad eléctrica de diversas estructuras cerebrales en respuesta a la EVC varía a través del ciclo estral.

Ya que se ha descrito que tanto la amígdala medial como la corteza prefrontal participan en el procesamiento motivo-emocional y en la integración sensorial durante la interacción copulatoria, en este estudio se pretende determinar si la actividad

electroencefalográfica (EEG) de estas estructuras presenta cambios característicos durante la EVC artificial y si este patrón EEG característico es influenciado por la fase del ciclo estral en que se encuentre la rata.

HIPÓTESIS

La estimulación vaginocervical se asociará con una mayor proporción de frecuencias rápidas en la CPF y en la AmM de las ratas en Proestro-Estro.



OBJETIVO GENERAL

Evaluar el patrón electroencefalográfico de la CPFm y de la AmM durante el ciclo estral de la rata virgen y el efecto de la estimulación vaginocervical sobre este patrón.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1.- Caracterizar la actividad electroencefalográfica de la CPFm y de la AmM de la rata virgen en Proestro-Estro y en Diestro.
- 2.- Determinar si la estimulación vaginocervical afecta el patrón electroencefalográfico característico de la CPFm y de la AmM en las ratas en Proestro-Estro y Diestro.
- 3.- Determinar si el tiempo o intensidad de EVC se asocia con una activación EEG diferencial en la CPFm y/o en la AmM.

MATERIALES Y MÉTODO

Animales

Todas las ratas Wistar utilizadas en este trabajo fueron criadas en el bioterio del Instituto de Neurociencias de la Universidad de Guadalajara para mayor control de edad. Todos los animales fueron mantenidos bajo un ciclo invertido de luz-oscuridad (12hr luz y 12 hr oscuridad), a una temperatura de 24 ± 2 °C, con agua y alimentación *ad libitum*, en cajas de acrílico transparente con una cama de aserrín.

Implante de electrodos

Se utilizaron 10 ratas hembra vírgenes adultas de la cepa *Wistar*, las cuales al alcanzar un peso de entre 250 – 300 g fueron implantadas bilateralmente con electrodos monopolares. Cada hembra fue anestesiada con pentobarbital sódico (35 mg/Kg, ip) para ser implantada bilateralmente y a permanencia con electrodos monopolares en la *Corteza Prefrontal Medial* (CPFM; 2.95 mm antero posterior respecto a bregma; 0.6 mm lateral respecto a la línea media y 5.1 mm por debajo de la duramadre, con la barra incidora colocada a -2.5 mm) y en la *Amígdala Medial* (AmM; 3.3 mm antero posterior respecto a bregma; 3.2 mm lateral respecto a la línea media y 8.6 mm por debajo de la duramadre, con la barra de incisivos colocada a -2.5 mm) según las coordenadas estereotaxicas del atlas de Paxinos y Watson (1997). Los electrodos utilizados se elaboraron con alambre de acero inoxidable (200 μ m de diámetro) aislado en toda su longitud, a excepción de la punta que tendrá descubierta la superficie de su sección transversal. Se colocaron además dos tornillos de acero inoxidable, uno en la parte más anterior del cráneo que servirá como electrodo de referencia y otro en la parte más posterior que sirvió como electrodo de tierra. Las salidas de los electrodos se soldaron a un conector hembra miniatura que se fijaron al cráneo con cemento dental.

Cada rata implantada fue mantenida en una caja individual de acrílico transparente con una cama de aserrín durante todo el experimento.

Registro de la actividad eléctrica cerebral

Después de un periodo de recuperación postquirúrgico de 8-10 días, todas las ratas fueron llevadas al cuarto de registro y se conectaron al polígrafo para su adaptación. El día de registro, las salidas de todos los electrodos fueron conectadas a los dispositivos de entrada de un polígrafo Grass 7B, del cual las señales, una vez amplificadas y filtradas, pasan a un convertidor analógico digital que funciona como interfase hacia una microcomputadora, en la cual se tienen programas computacionales elaborados *ex-profeso* para la captura simultánea del EEG de las cuatro estructuras cerebrales. La captura en línea de las señales EEG se efectuó mediante un programa llamado Captusen (Guevara Pérez y col. 1997), en el que se capturan a voluntad segmentos de dos segundos de EEG. Los filtros para el registro se colocaron de 1-35 Hz y la frecuencia de muestreo fue de 256 Hz.

Registro EEG durante la estimulación vaginocervical

Los registros EEG durante la EVC se realizaron únicamente en dos fases estrales de la rata; en el Proestro-Estro (P-E) y en el Diestro (D), cuya determinación se efectuó mediante la extracción diaria y observación microscópica del frotis vaginal, y mediante la exposición de la hembra ante un macho sexualmente experto para detectar el estro conductual. Los registros EEG se realizaron durante la tarde del proestro mañana del estro (P-E) y diestro (D) entre las 14:00 y 17:00 h, siguiendo el mismo procedimiento para ambas etapas.

Una vez determinada la etapa del ciclo estral de interés, se sometió a la rata a un periodo de al menos media hora para adaptarse al cuarto de registro, el cual es sonoamortiguado, semioscuro y se mantiene a una temperatura ambiente. Después de ese periodo se colocó a la rata sobre una mesa, se conectaron las salidas de sus electrodos al polígrafo. Luego de unos 2-3 minutos, se inició la captura de señales del EEG en una conducta basal de vigilia quieto, sujetando suavemente a la rata durante el tiempo necesario para registrar 30 segmentos de EEG.

La EVC se realizó mediante un aparato estimulador, el cual consiste en una jeringa de vidrio de 1 ml con resortes en su interior, con el émbolo redondeado, pulido y

lubricado con aceite de maíz. Para ello, se sujetó suavemente a la hembra (de la misma manera que para el registro basal) y se introdujo el extremo redondeado del émbolo en la vagina, aplicándose una presión de 300g sobre la pared del cervix (**Figura 7 a,b**). Tal EVC se mantuvo hasta que se lograron capturar 30 segmentos de EEG de 2 segundos cada uno.

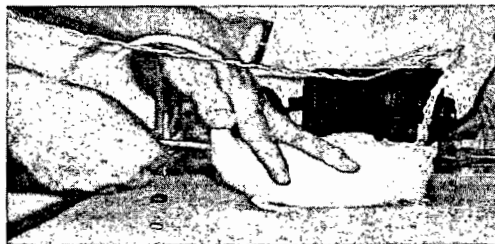


Figura 7a. Registro EEG durante la estimulación vaginocervical (EVC) de la rata.

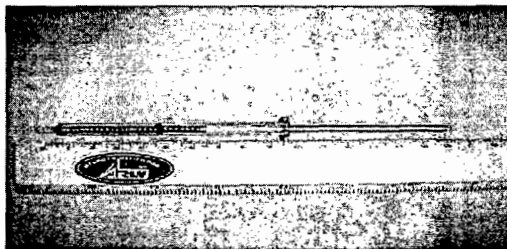


Figura 7b. Aparato de estimulación vaginocervical (jeringa de vidrio de 1ml).

Análisis electroencefalográfico

Se incluyeron los 30 segmentos de 2 s del EEG de cada estructura por cada sujeto y situación conductual. Después de una revisión previa en la cual se eliminaron todos aquellos segmentos de EEG que tuvieran artefactos por ruido o movimiento, mediante un programa elaborado *ex-profeso*, se aplicó la Transformada Rápida de Fourier para calcular la potencia total entre 4-21 Hz de modo que se obtuvo la potencia absoluta (PA) y la potencia relativa (PR) de las bandas de 4-7, 8-12 y 13-21 Hz. Estos valores son parámetros de medición complementarios: la PA es una estimación de la magnitud de componentes de la señal (amplitud al cuadrado del área bajo la curva de las ondas que

constituyen cada banda de frecuencia), en tanto que la PR es la proporción de potencia con que contribuye cada banda al espectro total de potencia del EEG. Se calculó también la correlación inter- e intrahemisférica de las estructuras mencionadas mediante el coeficiente de correlación producto-momento de Pearson.

Con el fin de determinar si el tiempo de EVC (y tal vez intensidad) afecta a la actividad electroencefalográfica de tales estructuras, en un análisis posterior se efectuó por separado el análisis de los 30 primeros segmentos de EEG de 1 s y los 30 posteriores segmentos de EEG de 1 s.

Histología

La localización de la punta de electrodos en las estructuras cerebrales de interés se verificó mediante la técnica descrita por Guzmán-Flores y col (1958). Para ello se administró una dosis letal de pentobarbital y los animales fueron perfundidos por vía intracardiaca con una solución de formalina al 10%. Veinticuatro horas mas tarde se extrajeron los cerebros y permanecieron al menos por 40 hr en la misma solución.

Posteriormente se incluyeron en parafina y se hicieron cortes coronales de 25 μm de grosor en un microtomo. Los cortes se colocaron en portaobjetos y se tiñeron con violeta de cresilo para posteriormente obtener fotografías amplificadas.

Análisis estadístico

El análisis estadístico fue limitado a las bandas de entre 4-21 Hz, ya que es probable que las frecuencias bajas estén contaminadas por artefactos. Se aplicó el análisis de correlación (Producto-momento de Pearson) para conocer el grado de semejanza que presentaron las señales EEG de la CPFm y AmM izquierda y derecha en cada situación conductual, así como la correlación intrahemisférica de dichas estructuras. Para determinar las diferencias entre condiciones, los valores de PA y PR de las diferentes bandas en cada estructura fueron sometidas a un ANOVA de dos factores para medidas repetidas. Para propósitos estadísticos los valores de PA se convirtieron a logaritmos. Los valores de correlación fueron transformados a valores Z de Fisher. Para determinar las diferencias entre pares de medias, se utilizó la prueba t de Student, y las diferencias se consideraron significativas cuando se alcanzó un valor de $p < 0.05$ a dos colas.

MÉTODO

10 ratas hembra vírgenes Wistar
250-300gr peso

Implante bilateral en CPFm y AmM

Recuperación postquirúrgica 8-10 días

Determinación de la fase del ciclo estral (diario)
*Proestro-Estro *Diestro

*Registro EEG durante:

a) Vigilia-quieto (Basal) b) Estimulación vaginocervical (EVC)

Análisis histológico del implante de electrodos

Análisis del EEG: Transformada rápida de Fourier

Bandas: 4-7, 8-12, 13-21 Hz

PR

CORRELACIÓN

RESULTADOS

Histológicos

En la CPFm los electrodos estuvieron localizados entre 3.7 y 3.2 mm anterior a bregma (entre la región prelímbica e infralímbica). En la AmM la punta de los electrodos se ubicó entre 5.8 y 6.04 mm posterior a bregma. En la mayoría de los casos la ubicación de los electrodos fue simétrica y sólo se consideraron aquellos sujetos en los que no se detectaron señales de ubicación errónea.

Conductuales

Durante la EVC se encontró que las ratas en P-E mostraron una conducta de lordosis más evidente durante los 60 s de EVC, sin embargo, a partir de los 26 a 30 s, la rata empezó a manifestar conductas indicadoras de incomodidad o aversión a la EVC, las cuales fueron representadas por ligeros movimientos de la cabeza, de los dientes y vibrisas, así como por mostrar una mayor tensión corporal y emisión de vocalizaciones. Por otro lado, las ratas en D mostraron una conducta de lordosis menos pronunciada durante todo el periodo de EVC y además, las conductas indicadoras de incomodidad aparecieron más pronto.

Cambios EEG en relación al ciclo estral

Corteza prefrontal medial

La actividad EEG de la CPFm presentó un patrón característico durante el estado basal de vigilia-quieto. En términos generales, las ratas que estaban en P-E presentaron una mayor PR de las frecuencias lentas ($t=2.65$, $p=0.02$ para la banda de 4-7 Hz) y una menor PR de las frecuencias rápidas ($t=-2.30$, $p=0.03$ para la banda de 8-12 Hz y $t=-2.49$, $p=0.03$ para la banda de 13-21 Hz) en la CPFm derecha respecto a las ratas que estaban en D. En la CPFm izquierda los valores de PR fueron muy similares aunque no alcanzaron a ser significativas las diferencias (**Figura 8**).

Estado Basal P-E vs D

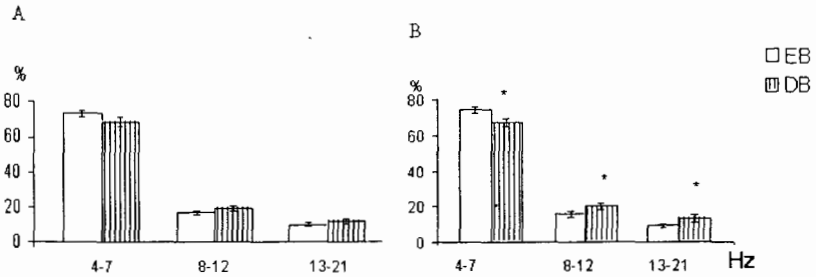


Fig. 8. - Media y error standard ($n=10$) de la PR de las tres bandas de frecuencia en la corteza prefrontal medial izquierda (A) y derecha (B) de las ratas en Proestro-Estro (EB) y Diestro (DB) durante el estado basal
 * $p < 0.05$ respecto a EB

El patrón EEG característico del estado basal de las ratas en P-E fue diferente de aquel mostrado durante la estimulación vaginocervical (EVC), de manera que durante tal estimulación en la CPFm derecha disminuyó la PR de la banda de 4-7 Hz ($t=2.61$, $p=0.02$) y aumentó la PR de las frecuencias rápidas de 8-12 ($t=-0.98$, $p=0.05$) y 13-21 Hz ($t=-3.72$, $p=0.004$) respecto al estado vigilia-quieto sin estimulación. El mismo patrón EEG fue encontrado en la CPFm izquierda para la banda de 4-7 Hz ($t=3.99$, $p=0.003$); para la banda de 8-12 Hz ($t=-2.03$, $p=0.05$) y para la banda de 13-21 Hz ($t=-4.75$, $p=0.001$) (**Figura 9**).

Estado basal vs EVC en P-E

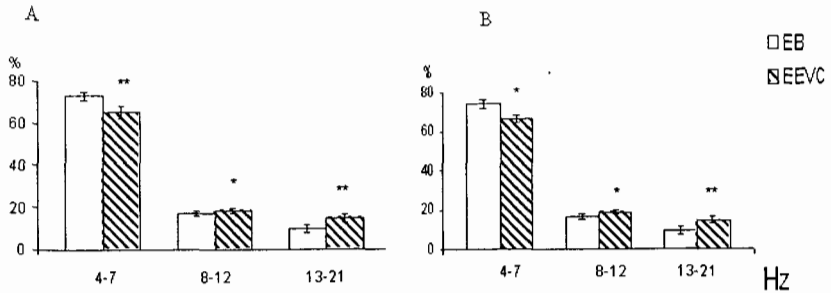


Fig. 9.- Media y error standard (n=10) de la PR de las tres bandas de frecuencia en la corteza prefrontal medial izquierda (A) y derecha (B) de las ratas en Proestro-Estro durante el estado basal (EB) y durante la estimulación vaginocervical (EEVC)
 * $p \leq 0.05$ respecto a EB ** $p \leq 0.01$ respecto a EB

En contraste, cuando las ratas estuvieron en la fase de diestro, el patrón EEG característico del estado basal en la CPFm izquierda y derecha no presentó diferencias significativas en ninguna de las bandas de frecuencia respecto a la condición de EVC (Figura 10).

Estado Basal vs EVC en D

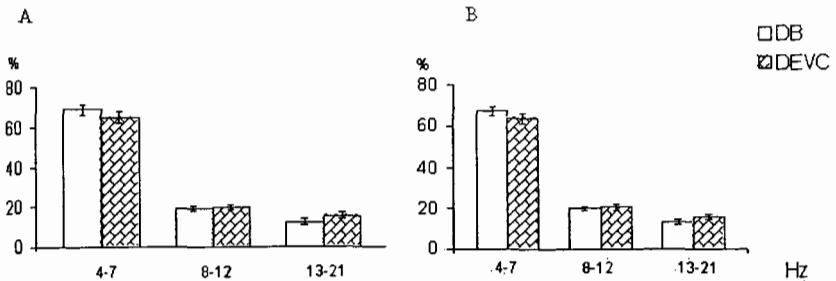


Fig. 10.- Media y error standard (n=10) de la PR de las tres bandas de frecuencia en la corteza prefrontal medial izquierda (A) y derecha (B) de las ratas en D durante el estado basal (DB) y durante la estimulación vaginocervical (DEVC).

Al comparar la actividad EEG de la CPFm de ambos hemisferios durante la EVC se hace evidente que tanto en la fase estral de P-E como en el D, la PR de las tres bandas fue muy similar.

Amígdala medial

El patrón EEG de la amígdala medial durante el estado basal presentó cambios característicos en relación al ciclo estral. Las ratas en P-E mostraron una mayor PR de las frecuencias lentas de 4-7 Hz ($t=2.60$, $p=0.04$) y una menor PR de las frecuencias rápidas de 8-12 ($t=-2.18$, $p=0.03$) y 13-21 Hz ($t=-2.04$, $p=0.04$) en la amígdala medial izquierda respecto a las ratas que estaban en D. Los valores de PR obtenidos en la amígdala medial derecha son similares aunque las diferencias no alcanzaron a ser significativas (**Figura 11**).

Estado basal P-E vs D

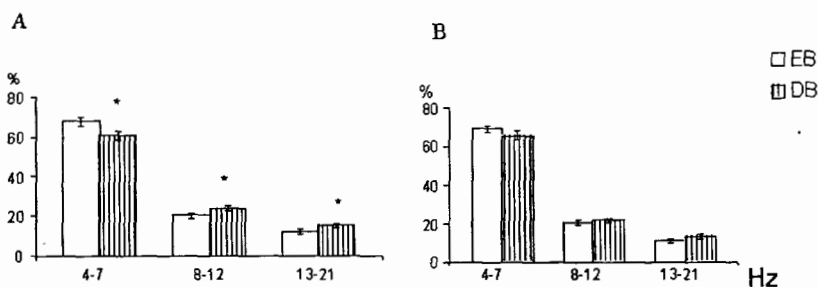


Fig. 11. - Media y error standard (n=10) de la PR de las tres bandas de frecuencia en la amígdala medial izquierda (A) y derecha (B) de las ratas en Proestro-Estro (EB) y Diestro (DB) durante el estado basal
 * $p \leq 0.05$ respecto a EB

Durante la EVC la actividad EEG de AmM de las ratas en P-E se caracterizó por una disminución en la PR de las frecuencias lentas de 4-7 Hz ($t=4.54$, $p=0.001$) y una mayor PR de las frecuencias rápidas de 8-12 ($t=-2.72$, $p=0.04$) y 13-21 Hz ($t=-5.35$, $p=0.0004$) respecto al estado basal, alcanzando la significancia estadística en la AmM izquierda; a diferencia de la AmM derecha que sólo presentó un incremento de la PR en la banda de frecuencias rápidas (13-21 Hz) durante la EVC respecto al estado basal ($t=-2.50$, $p=0.04$) (**Figura 12**).

Estado basal vs EVC en P-E

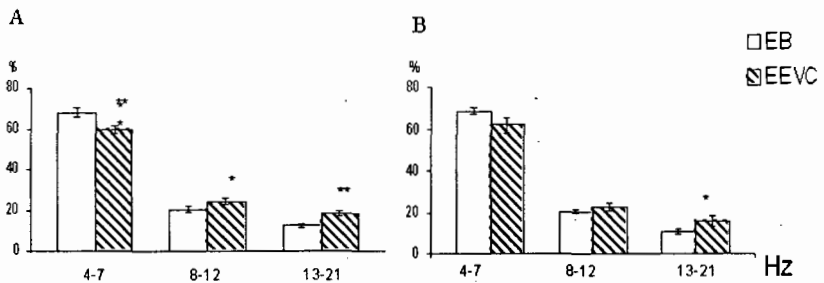


Fig 12.- Media y error standard ($n=10$) de la PR de las tres bandas de frecuencia en la amígdala medial izquierda (A) y derecha (B) de las ratas en Proestro-Estro durante el estado basal y durante la estimulación vaginocervical.
 * $p<0.05$ respecto a EB ** $p<0.05$ respecto a EB

No se encontraron diferencias significativas en la AmM izquierda ni derecha de las ratas en D durante el estado basal vigilia-quieto respecto a la estimulación vaginocervical. Al igual que en la CPFm, la AmM tampoco presentó cambios EEG en relación al ciclo estral durante la EVC (**Figura 13**).

EVC en P-E vs D

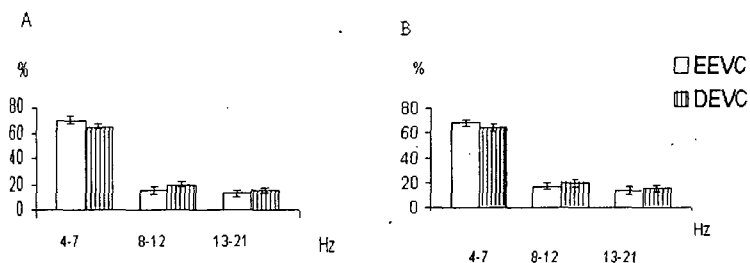


Fig. 13. - Media y error estándar (n=10) de la PR de las tres bandas de frecuencia en la amígdala medial izquierda (A) y derecha (B) de las ratas en Proestro-Estro (EEVC) y Diestro (DEVC) durante la estimulación vaginocervical

Como en promedio se capturaron 60 segmentos de EEG de 1s durante la estimulación vaginocervical en cada fase de interés del ciclo estral, se decidió dividir la condición de EVC en dos fases: una fase inicial en la que se incluyeron los primeros 30 segmentos de 1s y una fase final que incluyó los posteriores 30 segmentos de 1s de EVC. Esta división se efectuó tomando en consideración que aproximadamente entre los 13-15 segmentos de 2s cada uno, la rata empezó a manifestar conductas indicadoras de molestia por la EVC (movimientos de vibrisas y dientes, mayor tensión corporal tratando de liberarse).

Al comparar las fases iniciales y finales durante la EVC se encontró que sólo en la AmM, tanto izquierda como derecha de las ratas en P-E, la actividad EEG fue diferente durante la EVC inicial respecto a la EVC posterior. Esto es, durante los primeros 30 segmentos de EVC la AmM izquierda presentó una mayor PR de la banda lenta de 4-7 Hz ($t=4.16$, $p=0.003$) y una menor PR de la banda rápida de 8-12 Hz ($t=-5.29$, $p=0.0007$) respecto a la PR de las mismas bandas observada durante los 30 segmentos finales de EVC. En la AmM derecha se presentó una mayor PR de la banda lenta de 4-7 Hz ($t=2.8$, $p=0.02$) y una menor PR de la banda rápida de 8-12 Hz ($t=-2.79$,

p=0.02) de los 30 segmentos iniciales respecto a los segmentos finales de EVC alcanzando diferencias significativas (**Figura 14**).

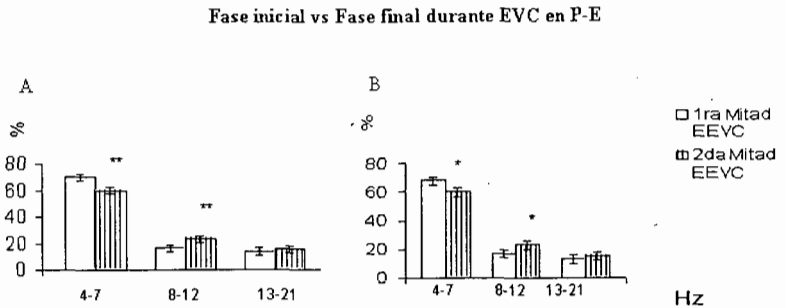


Fig. 14. - Media y error estándar (n=10) de la PR de las tres bandas de frecuencia en la amígdala medial izquierda (A) y derecha (B) de las ratas en Proestro-Estro durante la primera mitad y segunda mitad de estimulación vaginocervical
 * p<0.05 respecto a primera mitad de EVC
 ** p<0.05 respecto a primera mitad de EVC

Sólo en la correlación interamigdalina (r) (entre AmM izquierda y derecha) se encontraron diferencias entre las dos fases del ciclo estral durante los primeros y segundos mitad de EVC. Durante los primeros 30 s las ratas en P-E presentaron una mayor correlación de la banda de 8-12 Hz ($t = -2.99$, $p=0.01$) respecto a una menor correlación observada durante los primeros 30 s de EVC en las ratas en D. Similarmente, la correlación interamigdalina de la banda de 13-21 Hz fue significativamente mayor durante los 30 segundos posteriores de EVC en las ratas en P-E ($t=2.40$, $p=0.03$) respecto a la menor correlación observada durante los 30 segundos posteriores de EVC en las ratas en D (**Figura 15**).

r interamigdalina durante EVC en P-E vs D

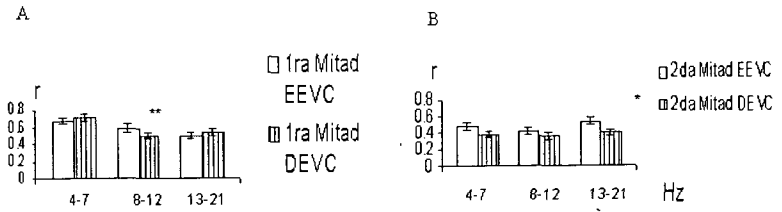


Fig. 15. - Media y error standard (n=10) de la correlación interamigdalina (r) de las ratas en Proestro-Estro y Diestro durante la primera mitad (A) y segunda mitad (B) de estimulación vaginocervical

** p<0.01 respecto a primera mitad de EEVC
 * p<0.05 respecto a segunda mitad de DEVC

DISCUSIÓN

Los resultados del presente trabajo coinciden con estudios previos, donde se ha descrito que la funcionalidad de diferentes estructuras cerebrales cambia en relación a los diferentes niveles hormonales que caracterizan al ciclo estral de la rata (Kawakami y Sawyer, 1959; Ramírez y col., 1997; Alcaraz y col., 1969; Cartas-Heredia y col. 1978; Guevara-Guzmán y col. 1996, 1997; Contreras y col. 2000; Morgan y Pfaff, 2002). A su vez, coincide con una gran variedad de estudios en los que se reporta que diferentes estímulos sensoriales (auditivos, visuales, olfatorios o somatosensoriales) afectaran de diferente manera la funcionalidad cerebral (Takenouchi y col. 1999; Jodo y col. 2000; Braun y Poeggel, 2001; Mirenowicz y Schultz, 1994, 1996; Schultz, 1986, 1994) y que a su vez, estos cambios asociados con la estimulación sensorial son también afectados por el ciclo estral.

Aunque varios de los trabajos mencionados evaluaron los cambios funcionales en relación a la EVC en estructuras como la corteza cerebral (Ramírez y col. 1967), el bulbo olfatorio (Guevara-Guzmán y col. 1996, 1997), el área preóptica medial y el hipotálamo (Haskins 1983), el complejo talámico vomeronasal (Berkley 1990, 1993) y el núcleo del tracto solitario (Hubsher, 1994; Pfaff, 1973) entre otras; por otra parte, muy pocos estudios se habían enfocado a estudiar la funcionalidad simultánea de la amígdala y de la corteza prefrontal en relación al ciclo estral y ante la estimulación vaginocervical, y menos aún tratando de analizar la correlación funcional entre ambas estructuras. La relevancia de este trabajo radica en la utilización de la técnica electroencefalográfica, para determinar el funcionamiento de estas estructuras específicamente durante la EVC; a diferencia de los métodos de activación c-fos, en donde el registro de la actividad cerebral es posterior al estímulo somatosensorial.

En este trabajo, la actividad en el EEG de la CPFm y de la AmM presentó un patrón característico durante el estado basal de vigilia-quieto. En términos generales, las ratas que estaban en P-E presentaron una mayor PR de las frecuencias lentas y una menor PR de las frecuencias rápidas (8-2 Hz y 13-21 Hz) respecto a las ratas que estaban en D. Varios estudios han descrito una actividad rápida de bajo voltaje en relación a una mayor activación conductual y/o neuronal en asociación a los altos

niveles de estrógenos característicos de la fase de P-E en la rata (Kawakami y Sawyer, 1959; Alcaraz y col. 1969; Cartas-Heredia y col. 1978; Guevara-Guzmán y col. 1996, 1997; Ramírez y col. 1997; Contreras y col. 2000; Morgan y Pfaff, 2002). Es probable que la mayor activación del EEG durante el estado basal mostrado en las ratas en D se asocie con el mayor grado de ansiedad y activación que muestran las ratas en esta etapa del ciclo estral. Esta sugerencia podría ser apoyada por los estudios de Fernández-Guasti y Picazo (1990 y 1992) mostraron que las ratas en P-E presentan menores niveles de ansiedad en pruebas de enterramiento (para evitar un choque eléctrico, la rata cubre con aserrín el dispositivo) que las ratas en D.

El patrón electroencefalográfico característico del estado basal de vigilia-quieto cambió significativamente ante la estimulación vaginocervical pero sólo en las ratas en P-E, de manera que durante tal estimulación en la CPFm y en la AmM disminuyó la PR de la banda de 4-7 Hz y aumentó la PR de las frecuencias rápidas de 8-12 y 13-21 Hz respecto al estado basal de vigilia-quieto sin estimulación. No obstante, al comparar el EEG del estado basal de las ratas en D respecto a la EVC, esta diferencia no fue evidente. Los presentes resultados nos permiten sugerir que la funcionalidad de estas estructuras es mucho más sensible a la EVC durante la fase de P-E que durante la fase de D, sugerencia que puede ser apoyada substancialmente por los estudios de Guevara-Guzmán y col. (1997) quienes mostraron una mayor activación c-fos y mayor tasa de disparo neuronal en el bulbo olfatorio durante la EVC, activación que fue mucho más evidente en las ratas en estro respecto a las que estaban en diestro. Además, Ganima y col. (2000) reportaron una mayor activación c-fos en los segmentos lumbares en respuesta a la EVC en ratas en estro, y a su vez Blake y Sawyer (1972) encuentran una mayor actividad multineuronal hipotalámica en las ratas en estro respecto a las que estaban en diestro.

En su conjunto, estos resultados muestran que la EVC se asocia con una mayor activación del EEG, tanto de la CPFm como en la AmM, solo en las ratas en P-E. Es probable que la mayor proporción de frecuencias rápidas observada durante la EVC de las ratas en P-E durante la EVC refleje de alguna manera el procesamiento de la información somatosensorial proveniente desde las regiones perineales, de la vagina y del cervix, como ha sido demostrado por Rowe y Erskine (1993). Tales autores han

detectado una mayor activación c-fos en el área preóptica medial y en la AmM en respuesta a la estimulación cervical inducida por la intromisión durante la cópula normal, activación que ocurrió específicamente en respuesta a la estimulación genitosensorial asociada con la información que viaja a través del nervio pélvico. El hecho de que esta activación no se presentó en las ratas con sección del nervio pélvico, demostró que gran parte de la activación cerebral durante la EVC resulta de la estimulación de la piel perineal, pared vaginal y útero, estimulación que es llevada a través del nervio pélvico hasta la médula espinal y de ahí al cerebro a través de la vía espinohipotalámica relativamente directa. Además, las hembras que reciben EVC experimentalmente muestran cambios conductuales similares a aquellos observados después del apareamiento, como incremento de la conducta de rechazo y magnitud de la lordosis disminuida (coeficiente de lordosis) (Pfaus y col. 2000).

En los estudios de activación c-fos producto de la EVC, se ha detectado la activación, aunque menor, de otras estructuras tales como la corteza prefrontal, el núcleo de la base de la *stría terminalis*, el núcleo ventral preamilar y el área tegmental ventral (Coopersmith y col., 1996). Aunque el papel preciso de estas regiones en la conducta sexual femenina se desconoce, la expresión de c-fos observada en ellas sugiere su posible participación moduladora en la interacción sexual; como pudiera ser la integración motivo-emocional o la identificación de estímulos incentivos (olfatorios, auditivos y visuales tanto del macho como del ambiente) relacionados con la conducta sexual (Pfaus y Hebb, 1997). La activación c-fos en la corteza prefrontal en ratas hembra parece ocurrir cuando ellas copulan activamente en cámaras de dos niveles, controlando las conductas ejecutivas del macho; ellas muestran altos niveles de sollicitación y conductas proceptivas ante estas condiciones (es decir una mayor motivación) pero no cuando ellas reciben la EVC o estimulación de los flancos, lo cual apoyaría la sugerencia de la participación prefrontal en los aspectos motivo-emocionales de la interacción sexual femenina.

Uno de los aspectos que más llamó nuestra atención, fue el hecho de que al comparar el EEG de las ratas en P-E y con las ratas en D durante la EVC, no se encontraron diferencias entre ambas fases estrales. Como existen reportes de que el tiempo y la intensidad de EVC pueden ejercer efectos tanto facilitadores como

inhibidores sobre la conducta sexual posterior, nos preguntamos si tal vez existieran diferencias características en el EEG si se dividía el tiempo de EVC que aplicamos (60 segmentos) en dos mitades; considerando que a menor tiempo de EVC, y tal vez a menor intensidad, el estímulo induciría efectos positivos (placenteros?) en la hembra, mientras que ante un mayor tiempo de EVC, tal estímulo adquiere efectos aversivos o de rechazo.

Hay indicios de que las hembras son sensibles al tipo de estimulación copulatoria recibida y que el patrón de esta estimulación tiene consecuencias directas sobre el funcionamiento reproductivo. Los trabajos clásicos de McClintock y col. (1978, 1982) han mostrado que bajo condiciones seminaturales las ratas hembra en estro conductual se aproximan y se retiran de los machos a voluntad, de tal manera que su conducta regula o "marca el paso" del patrón temporal de estimulación copulatoria que ellas reciben. Similarmente, estos patrones de conducta son observados experimentalmente cuando a las hembras se les da la oportunidad de evitar el contacto con el macho durante una sesión de apareamiento, al tener acceso solo ellas a una caja neutral. Bajo estas condiciones de apareamiento autorregulado por la hembra, es mayor la probabilidad de que ellas se retiren más veces y permanezcan más tiempo lejos de los machos, conforme el tiempo e intensidad de la estimulación copulatoria se incrementa; es decir, conforme reciben un mayor número de intromisiones y eyaculaciones. Esto resulta en un alargamiento de los intervalos entre intromisiones consecutivas mucho mayor que aquel que ocurre en condiciones de apareamiento no regulado por la hembra. Estas interacciones tienen consecuencias para la función reproductiva, debido a que la estimulación por la cópula autorregulada disminuye el número de intromisiones necesarias para inducir pseudogestación (Erskine y col. 1989); maximiza el tamaño de la camada (Coopersmith y Erskine, 1994) y también es más efectiva que la estimulación por apareamiento no regulado en abreviar la duración de las conductas proceptivas de la hembra (Erskine y col. 1989).

Coopersmith y col. (1996) estudiaron los efectos de diferentes duraciones e intensidades de la EVC sobre la conducta sexual, y la posterior longitud del ciclo estral de las ratas hembra. Ellos encontraron que las ratas hembra con su ciclo estral normal, durante la fase de P-E, y que pudieron o no autorregular la interacción copulatoria con

machos sexualmente expertos, recibiendo en total 30 intromisiones, durante las primeras 15 intromisiones reguladas o no autorreguladas las ratas siguieron mostrando normalmente las respuestas de lordosis y de aceptación del macho; en tanto que durante las 15 intromisiones posteriores se observaron decrementos en la responsividad sexual. En otras palabras, las ratas que pudieron regular la temporalidad de la cópula presentaron mayores intervalos de interintromisión y una proceptividad disminuida (mayores conductas de rechazo) en la segunda mitad de la prueba.

Estos datos sugieren que los cambios en la respuesta sexual de la hembra ocurren a través del ciclo estral y que la naturaleza de estos cambios es diferencialmente dependiente del tipo y cantidad de estimulación recibida durante el apareamiento.

En base a estos antecedentes fue que decidimos dividir los 60 segmentos de EEG capturados durante la EVC en dos mitades de 30 segmentos y analizar si existían diferencias en el funcionamiento de la CPFm y de la AmM en relación a la fase del ciclo estral en que se encontrara la rata.

Sólo en la AmM derecha e izquierda de las ratas en P-E se encontraron diferencias en la actividad EEG entre la primera y segunda mitad de la EVC. Durante los primeros 30 segmentos de EVC se presentó una mayor PR de la banda de 4-7 Hz y una menor PR de la banda de 8-12 Hz respecto a los 30 segmentos de EVC posteriores. La banda de 4-7 Hz corresponde al ritmo denominado Theta tipo II hipocámpico descrito por Vanderwolf (1988, 1990, 1992) el cual se ha relacionado principalmente con la inmovilidad durante un estado de alerta o de atención del animal, en tanto que la banda de 8-12 Hz corresponde al ritmo theta tipo I hipocámpico que se ha asociado con la ejecución de conductas voluntarias, tales como el caminar, correr, nadar, manipular objetos o realizar movimientos de cabeza. Se ha mostrado que la actividad theta hipocámpica es frecuentemente registrada en corteza y en otras estructuras subcorticales por un mecanismo de conducción en volumen (Bland y Whishaw, 1976).

Así, es probable que la mayor proporción de frecuencias lentas en la AmM durante el periodo inicial de EVC se asocie con el estado de inmovilidad y una mayor atención a los estímulos que manifiesta la rata hembra en esta condición, con el procesamiento de la información somatosensorial generada por la EVC, o a ambos procesos. En tanto que el incremento de la PR de la banda de 8-12 Hz que ocurrió

específicamente en la segunda mitad de la EVC es probable que se asocie con la ejecución de ligeros movimientos de cabeza, vibrisas y del cuerpo que fueron evidentes sólo en esta segunda mitad de EVC. Aunque no se realizó un análisis sistemático de estas conductas, si fue muy evidente que a partir de los 24-30 segmentos de EVC la rata empezaba a manifestar estos movimientos indicadores de la incomodidad después del mayor tiempo de estimulación.

Ya que sólo en las ratas en P-E ocurrió esta funcionalidad diferencial de la AmM entre la primera mitad y segunda mitad de EVC, es posible sugerir que la actividad neuronal de la amígdala es más sensible para la detección o procesamiento de la EVC, y que esta mayor sensibilidad amigdalina es dependiente de que se mantengan elevados los niveles de estrógenos y progesterona.

Los resultados de correlación interamigdalina (AmM izquierda vs AmM derecha) también mostraron una importante diferenciación funcional entre las fases estrales. Durante la primera mitad de EVC, las ratas en P-E presentaron una mayor correlación interamigdalina de la banda de 8-12 Hz respecto a la primera mitad de EVC en las ratas en D. Similarmente, durante la segunda mitad de EVC las ratas en P-E presentaron una mayor correlación interamigdalina de la banda de 13-21 Hz respecto a la segunda mitad de EVC en las ratas en D. Varios estudios han mostrado que durante la ocurrencia de estados placenteros, como la ingestión de leche en gatos, la lactancia en mujeres y ratas (Cervantes y Ruelas 1985; Cervantes y col. 1992; Lincoln y col. 1980) o el intervalo posteyaculatorio y acicalamiento en ratas (Kurtz y Adler, 1973) ocurre una prevalencia cortical de frecuencias rítmicas de 8-12 Hz. Por otro lado, una mayor proporción de frecuencias rápidas, indicadoras de una mayor activación neuronal, se han asociado con estados de alerta o de ansiedad (Bouyer y cols., 1981; Murthy y Fetz, 1992). Así, es probable que la mayor proporción de frecuencias de 8-12 Hz durante la primera mitad de EVC se asocie con un posible estado placentero que a ese tiempo e intensidad de EVC todavía no le es incómodo a la rata, mientras que la presencia de frecuencias rápidas durante la segunda mitad de EVC probablemente se asocia con el estado ansioso o de incomodidad que le provoca el mayor tiempo de EVC al que ha estado expuesta la rata.

Durante la conducta sexual femenina la participación de la amígdala se ha realizado fundamentalmente mediante la identificación de c-fos. En estos estudios se ha

observado que la amígdala corticomedial exhibe una alta actividad después de que la hembra ha estado en contacto sexual. Parte del control neural que ejerce la amígdala, depende de interacciones con la vía olfatoria, pero también de la interacción con vías aferentes que provienen del tracto genital, vía el nervio pélvico, y que responden a estimulaciones de la pared vaginal y de la piel. Los estudios de lesión de la amígdala en hembras han mostrado que se disminuye su capacidad ovulatoria (afectando la ciclicidad), lo cual pone de manifiesto su participación en la modulación del ciclo estral de la hembra a través de sus efectos sobre la secreción de gonadotrofinas y prolactina. La actividad neuronal característica de esta estructura aumenta durante y hasta por varios minutos o días después de la estimulación vaginocervical, ya sea inducida por la intromisión por parte del macho o por manipulación experimental. Además, se ha descrito que la estimulación eléctrica o química de la amígdala resultan en una elevada incidencia de la pseudogestación, lo cual muestra que la amígdala medial puede responder ante la estimulación cervical y alterar el patrón de secreción de prolactina. Ya que la EVC puede inducir estados de pseudogestación en cualquier etapa del ciclo estral (Everett, 1964), se ha sugerido que en la AmM la información sensorial recibida pudiera ser retenida por varios días antes de la expresión del primer pulso de prolactina, fundamentando el proceso neural de la pseudogestación.

Los presentes resultados muestran que al realizar las comparaciones de EVC entre fases estrales sin dividir el tiempo de EVC en dos mitades sólo se obtienen diferencias EEG en la CPFm y AmM de las ratas en P-E durante la EVC respecto al estado basal de vigilia-quieto pero no durante la EVC entre fases estrales. Mientras que al hacer la división del tiempo de EVC, considerando que en la primera mitad tal estimulación todavía no le es aversiva (placentera?) a la rata, ya se encuentran diferencias importantes entre fases estrales pero solo en la AmM. Por tanto, es probable que la actividad EEG de la amígdala sea tan sensible a la EVC que es capaz de discernir la cualidad placentera o aversiva de la EVC aplicada, lo cual ha sido demostrado por otros estudios conductuales.

Es probable que estos cambios EEG amigdalinos pudieran reflejar los procesos de integración sensorial y/o procesos de retención a largo plazo de la EVC que resultaría en la ocurrencia de la pseudogestación en la rata. Otra de las posibles explicaciones para

la activación diferencial de la AmM en respuesta al tiempo de EVC es que pudieran reflejar el procesamiento emocional y/o motivacional de tal estímulo sexual, como ha sido mostrado en varios estudios (Kondo y Sakuma, 2001).

CONCLUSIONES

La actividad EEG basal de la CPFm y AmM presenta cambios en relación al ciclo estral, durante el P-E hay una menor proporción de frecuencias lentas y una mayor proporción de frecuencias rápidas respecto al D.

La EVC provoca cambios en la actividad EEG de la CPFm y de la AmM respecto al estado basal sólo en las ratas que están en la fase de P-E.

La actividad EEG de la amígdala medial es más sensible al tiempo (o intensidad) de EVC pero solo en las ratas en P-E.

La diferencias entre fases estrales durante la EVC sólo se observó al dividir el tiempo de EVC en dos mitades. Durante la primera mitad de EVC las ratas en P-E presentaron una mayor correlación interamigdalina de la banda de 8-12 Hz mientras que en la segunda mitad se incrementó la correlación interamigdalina de la banda de 13-21 Hz respecto a las ratas en D. Esta funcionalidad diferencial podría asociarse con la cualidad placentera o aversiva de la EVC

BIBLIOGRAFÍA

- *Adler N.T., Resko J.A., Goy R.W. 1970. The effect of copulatory behavior on hormonal change in the female rat prior to implantation. *Physiol. Behav.* 5. 1003-1007.
- *Aggleton J.P y Saunders R.C. 2000. The Amygdala –what’s happened in the last decade? Pags. 1-31. En: *The Amygdala: A functional analysis*. Ed. Aggleton J.P. Oxford University Press.
- *Allen T.O., Adler N.T., Greenburg J.H., Reivich M. 1981. Vagino-cervical stimulation selectively increases metabolic activity in the rat brain. *Science*. 221. 1071-1072.
- *Amarral D. 1998. Memory: Anatomical organization of candidate brain regions. En: *Handbook of Physiology V*. Washington. A. Physiol. Asso. 211-294.
- *Astwood E.B. 1939. Changes in weight and water content of the uterus of the normal adult rat. *Am. J. of Physiol.*, 126: 161-162.
- *Avitsur R. y Yirmiya R. 1999. The partner preference paradigm: a method to study sexual motivation and performance of female rats. *Brain research Protocols*. 3. 320-325.
- *Blake C.A. y Sawyer C.H. 1972. Effects of vaginal stimulation on hypothalamic multiple-unit activity and pituitary LH release in the rat. *Neuroendocrinology*. 10. 358-370.
- *Bauer J.H., 1983: Effects of maternal state on the responsiveness to nest odors of hooded rats. *Physiol. and Behav.*, 30: 229-232.
- *Beach F.A., Zitrin A. y Jaynes J. 1998. Neural mediation of mating in male cats. I Effects of unilateral and bilateral removal of the neocortex. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 49. 321-327.
- *Beckstead R.M. 1976. Convergent thalamic and mesencephalic projections to the anterior medial cortex in the rat. *J. Comp. Neurol.* 166. 403-416.
- *Beckstead R.M..1979. An autoradiographic examination of cortico-cortical and subcortical projections of the mediodorsal-projection (prefrontal) cortex of the rat. *J. Comp. Neurol.* 184. 43-62.

- *Beltramino C. y Taleisnik S. 1978. Effect of electrochemical stimulation in the olfactory bulbs on the release of gonadotropin hormones in rats. *Neuroendocrinology*. 28. 320-328.
- *Berkley K.J., Robbins A., Sato Y. 1988. Afferents fibers supplying the uterus in the rat. *J. Neurophysiol.* 59. 1. 142-163.
- *Berkley K.J., Hotta H., Robbins A., Sato Y. 1990. Functional properties of afferent fibers supplying reproductive and other pelvic organs in pelvic nerve of female rat. *J. Neurophysiol.* 63. 256-272.
- *Berkley K.J., Guilbaud G., Benoist J.M., Gautron M. 1993a. Responses of neurons in and near the thalamic ventrobasal complex of the rat to stimulation of uterus, cervix, vagina, colon, and skin. *J. Neurophysiol.* 69. 557-568.
- *Berkley K.J., Hubscher C.H., Wall P.D. 1993b. Neuronal responses to stimulation of the cervix, uterus, colon and skin in the rat spinal cord. *J. Neurophysiol.* 69. 2.
- *Berkley K.J., Hubscher C.H., Wall P.D. 1993c. Neural responses to stimulation of the cervix, uterus, colon, and skin in the rat spinal cord. *J. Neurophysiol.* 69. 545-556.
- *Besson J. y Chaouch A. 1987. Peripheral and spinal mechanisms of nociception. *Physiol. Rev.* 67. 67-180.
- *Bitran D. y Hull E.M. 1987. Pharmacological analysis of male rat sexual behavior. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 11. 365-389.
- *Bivin S.W., Crawford P.M., Brewer N.R. 1979. *Morphophysiology*. Eds. Baker H.J., Lindsey J.R., Weisbroth S.H. 1979. *The laboratory rat. Vol 1. Biology and Diseases*.
- *Brodman K. 1912. Neu ergebnisse ubre vergleichende histologische Lokalisation der Grosshirnrinde mit besonderer Berucksichtigung des Stirnhirns. *Anat. Anz. Suppl.* 41. 157-216.
- *Burnstein R., Clifer K.D., Giesler G.J. 1990. Cells of origin of spinothalamic trac in the rat. *J. Comp. Neurol.* 291. 329-344.
- *Bruce L.L. y Neary T.J. 1995. The limbic system of tetrapods: a comparative analysis of cortical and amygdalar populations. *Brain Behav. Evol.* 46. 24-34.

- *Caba M., Komisaruk B.R. Beyer C. 1998. Analgesic synergism between AP5 (an NMDA receptor antagonist) and vaginocervical stimulation in the rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 61. 45-48.
- *Carlson R.R. y De Feo V.J. 1965. Role of the pelvic nerve vs. the abdominal sympathetic nerves in the reproductive function of the female rat. *Endocrinology*. 77. 1014-1022.
- *Carrillo A.J., Rabii J., Carrer H.F., Sawyer C.H. 1978. Modulation of the proestrous surge of luteinizing hormone by electrochemical stimulation of the amygdala and hippocampus in the unanesthetized rat. *Brain Res*. 144. 95-107.
- *Carrillo A.J. y Dunn J.D. 1977. The effect of amygdaloid ablation or stimulation on plasma corticosterone levels in the male rat. *Neuroscience*. 2. 997-1006.
- *Chinapen S., Swann J.M., Steinman J.L., Komisaruk B.R. 1992. Expression of c-fos protein in lumbosacral spinal cord in response to vaginocervical stimulation in rats. *Neurosci. Lett*. 145. 93-96.
- *Chugani H.T., Phelps M.E., Mazziotta J.C. 1987. Positron emission tomography study of human brain functional development. *Ann. Neurol*. 22. 487-497.
- *Coopersmith C., Candura C., Erskine M.S. 1996. Effects of paced mating and intromissive stimulation on feminine sexual behavior and estrus termination in the cycling rat. *Journal of comparative psychology*. 110. 176-186.
- *Cotman C.W., Monaghan D.T., Ottersen O.P., Storm-Mathinsen J. 1987. Anatomical organization of excitatory amino acid receptors and their pathways. *Trends Neurosci*. 10. 273-280.
- *Crowley W.R., Rodriguez-Sierra J.F., Komisaruk B.R. 1977. Monoaminergic mediation of the nociceptive effect of vaginal stimulation in rats. *Brain Res*. 137. 67-84.
- *Crowley W.R., Jacobs R., Volpe J., Rodriguez-Sierra J.F. Komisaruk B.R. 1976. Analgesic effect of vaginal stimulation in rats: modulation by graded stimulus intensity and hormones. 483-488.

- *Damasio H., Grabowski T., Frank R., Galaburda A.M., Damasio A.R. 1994. The return of Phineas Gage: Clues about the brain from skull of a famous patient. *Science*. 264. 1102-1105.
- *Divac I., Björklund A., Lindvall O., Passingham R.E. 1978a. Converging projections from mediodorsal thalamic nucleus and mesencephalic dopaminergic neurons to the neocortex in three species. *J. Comp. Neurol.* 180. 59-72.
- *Divac I., Kosmal A., Björklund A., Lindvall O. 1978b. Subcortical projections to the prefrontal cortex in the rat as revealed by horseradish peroxidase technique. *Neurosci.* 3. 785-796.
- *Domesick V.P. 1972. Thalamic relationship of the medial cortex in the rat. *Brain Behav. Evol.* 6. 457-483.
- *Domesick V.P. 1969. Projections from the cingulate cortex in the rat. *Brain Res.* 12. 296-320.
- *Dominguez J., Riolo J. V., Xu Z., Hull E.M. 2001. Regulation by the medial amygdala of copulation and medial preoptic dopamine release. *The journal of Neuroscience.* 21 (1). 349-355.
- *Dyer R.G., Pritchett C.J., Cross B.A. 1972. Unit activity in the diencephalons of female rats during the estrous cycle. *J. Endocrinol.* 53. 151-160.
- *Erskine M.S., Kornberg E., Cherry J.A. 1989. Paced copulation in rats: Effects of intromission frequency and duration on luteal activation and estrus length. *Physiology and behavior.* 45. 33-39.
- *Erskine M.S. y Hanrahan S. 1997. Effects of paced mating on c-fos gene expression in the females rat brain. *Journal of neuroendocrinology.* 9. 903-912.
- *Erskine M.S. 1985. Effects of paced coital stimulation on estrus duration in intact cycling rats and ovariectomized and avariectomized-adrenalectomized hormone-primed rats. *Behav. Neurosci.* 99. 151-161.
- *Erskine M.S. 1993. Mating-induced increases in FOS protein in the preoptic area and medial amygdala in cycling female rats. *Brain. Res. Bull.* 32. 447-451.

*Estrada Palma L.Y., Solano Flores L.P., Aldana A., Guevara Guzmán R., Wayner M.J. 1993. Olfactory bulb neurons respond to cervico-vaginal distensión. *Brain Res. Bull.* 32. 467-469.

*Feldman S. y Conforti N. 1981. Amygdalectomy inhibits adrenocortical responses to somatosensory and olfactory stimulation. *Neuroendocrinology.* 32. 330-334.

*Ferino G., Thierry A.M., Safrfroy M., Glowinski J. 1987. Anatomical and electrophysiological evidence for a direct projection from Ammon's horn to the medial prefrontal cortex in the rat. *Experimental Brain Research.* 65. 421-426.

*Fernández-Guasti A., Picazo O. 1992. Changes in burring behavior during the estrous cycle: effects of estrogen and progesterone. *Psychoneuroendocrinology.* 17.6: 681-689.

*Fleming A.S. y Luebke A. 1981. Timidity prevents the virgin female rat from being a good mother: Emotionality differences between nulliparous and parturient females. *Physiol. Behav.,* 27: 863-868.

*Fletcher P.C., Shallice T., Dolan R.J. 1998a. The functional role of the prefrontal cortex in episodic memory. I. Encoding Brain. 121. 1239-1248.

*Fletcher P.C., Shallice T., Frith C.D., Frackowiak R.S.J., Dolan R.J. 1998b. The functional role of the prefrontal cortex in episodic memory. I. Encoding Brain. 121. 1249-1256.

*Freeman M.E., 1994: *The Neuroendocrine Control of the ovarian cycle of the rat.* En: (Knobil E., Neill D.J. eds.) *The Physiology of Reproduction.* 2nd edition. Raven Press. New York.

*Fritts E.M., Asbury T.E., Horton E.J., Walter L.L. 1998. Medial prefrontal lesion deficits involving or sparing the prelimbic area in the rat. *Neurology.* 13. 237-246.

*Fuster J. M. 2001. The prefrontal cortex –an update: time is of the essence. *Neuron.* 30. 319-333.

*Fuster J.M. 1997. *The prefrontal cortex-anatomy, physiology and neuropsychology of the frontal lobe.* Tercera edición. Filadelfia: Lippincott-Raven.

- *Ganima A., Bennis M., Rampin O., Rousseau. 2000. Influence of estrous cycle on vaginocervical sensitivity: a fos-immunohistochemical study of lumbosacral spinal cord. *Brain Research*. 109-117.
- *Ginzler A.R. y Komisaruk B.R. 1991. Analgesia is produced by uterocervical mechano-stimulation in rats: roles of afferent nerves and implication for analgesia of pregnancy and parturition. *Brain Res*. 566. 299-302.
- *Gloor P. 1972. Temporal lobe epilepsy: its possible contributions to the functional significance of the amygdala and of its interaction with neocortical-temporal mechanism. En: Eleftheriou, B.E. (ed). *The neurobiology of the amygdala*. New York. Plenum Press. 423-457.
- *Gloor P. 1997. The amygdaloid system. The temporal lobe and limbic system. Oxford University Press. 591-721.
- *Gomora P., Beyer C., Gonzáles Mariscal G., Komisaruk B.R. 1994. Momentary analgesia produced by copulation in female rats. *Brain. Res*. 656. 52-58.
- *González Pimentel R. y Hernández González M. 2002. En: *Motivación animal y humana*. Ed. Hernández González M. Manual Moderno.
- *González Mariscal G. y González Flores O. 2002. En: *Motivación y conducta: sus bases biológicas*. Eds. Escobar Biones C. y Aguilar Robledo R.A. Manual Moderno.
- *Grijalva C.V., Levin E.D., Morgan M., Roland B., Martin F.C. 1990. Contrasting effects of centromedial and basolateral amygdaloid lesions on stress-related responses in the rat. *Physiology and behavior*. 48. 495-500.
- *Guevara-Guzman R., Barrera-Mera B., Weiss M.L. 1997. Effect of the estrous cycle on olfactory bulb response to vaginocervical stimulation in the rat: results from electrophysiology and fos immunohistochemistry experiments. *Brain Research Bulletin*. 44. 141-149.
- Guevara Guzman R., Donatti-Albarran A., Barrera-Mera B., Weiss M.L. 1996. Response to VCS across the estrous cycle in the rat: electrophysiology and c-fos expression. *Soc. Neurosci. Abstr*. 22.
- *Guevara Pérez M., Ramos J., Hernández González M., Madera Carillo H., Corsi Cabrera M. 1997. CAPTUSEN: Un Sistema para la Adquisición Computarizada del EEG y Potenciales relacionados a eventos. *Revista Mexicana de Psicología*. 14. 5-12.

- *Gunnert J.W. y Freeman M.E. 1983. The mating-induced release of prolactin: A unique neuroendocrine response. *Endocrinol. Rev.* 4. 44-61.
- *Hardy F.D. y DeBold J.E. 1973. Effects of repeated testing on sexual behavior of the female rat. *J. Comp. Phys. Psych.* 85. 195-202.
- *Hartman C.G. 1944. Some new observations on the vaginal smear of the rat. *Yale J. Biol. Med.* 17. 99-112.
- *Hayashi S., Yokpsuka M. y Orikasa C. 1999. Developmental aspects of estrogen receptors in the rat brain. En: *Neural control of reproduction. Physiology and Behavior.* Eds. Maeda
- *Heape W. 1900. The "sexual season" of mammals and the relation of the "pro-oestrus" to menstruation. *Q.J. Micr. Sci.* 44. 1-70.
- *Henke P.G. 1982. The telencephalic limbic system and experimental gastric pathology: a review. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 6. 381-390.
- *Henke P.G. 1985. The amygdala and forced immobilization of rats. *Behav. Brain Res.* 6. 19-24.
- *Hill R.G. y Ayliffe S.J. 1981. The antinociceptive effect of vaginal stimulation in the rat is reduced by naloxone. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 4. 631-632.
- *Higuchi T., Uchide K., Honda K., Negoro H. 1987. Pelvic neurectomy abolishes the fetus-expulsion reflex and induces dystocia in the rat. *Exp. Neurol.* 96. 443-455.
- *Higuchi T., Uchide K., Honda K., Negoro H. 1986. Oxytocin release during parturition in the pelvic-neurectomized rat. *J. Endocrinol.* 109. 249-254.
- *Holson R.R. 1986. Medial prefrontal cortical lesions and timidity in rats. I. Reactivity to aversive stimuli. *Physiol. Behav.* 37. 221-230.
- *Hubsher C.H., Berkley K.J. 1994. Response of neurons in caudal solitary nucleus of female rats to stimulation of vagina, cervix, uterine horn and colon. *Brain Res.* 664. 1-8.
- *Jackson M.E y Moghaddam B. 2001. Amygdala regulation of nucleus accumbens dopamine output is governed by the prefrontal cortex. *The Journal of Neuroscience.* 21 (2). 676-681.

- *Jacobson S., Butters N. y Tovsky N.J. 1978. Afferent and efferent subcortical projections of behaviorally defined sectors of prefrontal granular cortex. *Brain. Res.* 159. 279-296.
- *Jerison H.J. 1994. Evolution of the brain. En: *Neuropsychology*. Zaidel D.W. (ed) San Diego. Academi Press. 53-81.
- *Kalra S.P. y Sawyer C.H. 1970. Blockade of copulation-induced ovulation in the rat by an anterior hypothalamic deafferentation. *Endocrinology*. 27. 1124-1128.
- *Klaric J.S. y Hendricks S.E. 1986. Effects of two stage lesions of medial preoptic area on sexual behavior in sexually inexperienced male rats. *Physiol. Behav.* 37. 539-542.
- *Kapur S., Craik F.M.I., Jones C., Brown G.M., Houle S. y Tulving E. 1995. Functional role of the prefrontal cortex in retrieval of memories: a PET study. *Neuro Report*. 6. 1880-1884.
- *Kawakami M. y Kubo K. 1971. Neuro-correlate of limbic-hypothalamo-pituitary-gonadal axis in the rat: change in limbic-hypothalamic unit activity induced by vaginal and electrical stimulation. *Neuroendocrinology*. 7. 65-89.
- *Kawakami M. y Saito H. 1970. Unit activity in the hypothalamus of the cat: effect of genital stimuli, luteinizing hormone and oxytocin. *Jap. J. Physiol.* 77. 466-486.
- *Kluver H. y Bucy P. 1939. Preliminary análisis of functions of the temporal lobes in monkeys. *Arch. Neurol. Psychiat.* 4f2. 979-1000.
- *Komisaruk B.R. y Wallman J. 1977. Antinociceptive effects of vaginal stimulation in rats: neurophysiological and behavioral studies. *B. Res.* 137. 85-107.
- *Komisaruk B.R., Sansone G.R., Gerdes C.A., O'Bannon III R.T., Whipple B., Chinapen S., Caba M. 1998. Central and peripheral genital neural pathways in females: functional anatomy. *INABIS'98*.
- *Komisaruk B., Cueva Rolon R., Sansone G., Bianca R., Gomez O., Chinapen S., Beyer C., White B.A. 1994. Evidence that the vagus nerve mediates some effects of vaginocervical stimulation after genital deafferentation or spinal cord transection in the rat. *The Proceedings of the 26th Conference on Reproductive Behaviour* pp 66.
- *Kostarczyk E.M. 1986. The amygdala and male reproductive fuctions. I. Anatomical and endocrine bases. *Neurosci. Biovehav. Rev.* 10. 67-77.

- *Krettek J.E. y Price J.L. 1977. Projections from the amygdaloid complex to the cerebral cortex and thalamus in the rat and cat. *J. Comp. Neurol.* 172. 687-722.
- Kristal M.B., Thompson A.C., S  ller S.B., Komisaruk B.R. 1986. Placenta ingestion enhances analgesia produced by vaginal/cervical stimulation in rats. *Physiol. Behav.* 36. 1017-1020.
- *Kolb B. 1990a. Prefrontal cortex. En: *The cerebral cortex of the rat.* Kolb B. y Tees R.C. A Bradford Book. The MIT Press. 437-458.
- *Kolb B. 1990b. Organization of the Neocortex of the rat. En: *The cerebral cortex of the rat.* Kolb B. y Tees R.C. (eds) A Bradford Book. The MIT Press. 21-33.
- *Kondo Y. y Sakuma Y. 2001. The medial amygdala controls a coital pace of female rats via emotional response. 31 Annual Meeting of Neuroscience. Program Number 191.10.
- *Lee J.W., Erskine M.S. 1996. Vaginal stimulation suppresses the expression of c-fos induced by mating in thoracic, lumbar and sacral segments of the female rat. *Neuroscience.* 74. 237-249.
- *Lee C.I., Ingersoll D.W., 1979: Social chemosignals in five Belontiidae (pisces) species. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 93: 1171-1181.
- *LeDoux J.E. 1993. Emotional memory systems in the brain. *Behav. Brain. Res.* 58. 69-79.
- *Lincoln D.W. 1969. Response of hypothalamic units to stimulation of vaginal cervix; specific versus non-specific effects. *J. Neuroendocrin.* 43. 683-684.
and mechanical vaginal stimulation on the membrane excitability of hypothalamic and midbrain neurons. *Brain Res. Bull.* 10. 489-496.
- *Lincoln D.W. 1967. Unit activity in the hypothalamus, septum and preoptic area of the rat: characteristics of spontaneous activity and the effect of oestrogen. *J. Endocrinol.* 37. 177-189.
- *Lindvall O., Bjorklund A., Divac I. 1978. Organization of catecholamine neurons projecting to the prefrontal cortex in the rat. *Brain Res.* 142. 1-24.

- *Liu Y.C., Salamone J.D., Sachs B.D. 1997. Lesion in medial preoptic area and bed nucleus of the stria terminalis: differential effects on copulatory behavior and noncontact erection in male rats. *J. Neurosci.* 17. 5245-5253.
- *Long J.A., Evans H.M., 1922: The estrous cycle of the rat and its associated phenomena. *Memories University of California.* 6-148.
- *Luque E.H., Castro Vázquez A. 1983. Sensory mechanisms involved in the induction of pseudopregnancy by progesterone: increased sensitivity to stimulation of pudendal sensory field. *Endocrinol.* 113. 385-390.
- *Madlafousek J. y Hlinak Z. 1977. Sexual behaviour of the female laboratory rat: inventory, patterning and measurement. *Behaviour.* 63. 129-174.
- *Mascó D.H. y Carrer H.F. 1980. Sexual receptivity in female rats after lesion or stimulation in different amygdaloid nuclei. *Physiology and Behavior.* 24. 1073-1080.
- *Malsbury C.W. 1971. Facilitation of male rat copulatory behavior by electrical stimulation of medial preoptic area. *Physiol. Behav.* 7. 797-805.
- *Mandl A.M., 1951: The phases of the oestrous cycle in the adult white rat. *J. of Exp. Biol.* 28: 576-584.
- *Mandl A.M., 1951: Cyclical changes in the vaginal smear of adult ovariectomized rats. *J. of Exp. Biol.* 28: 585-592.
- *Moltz H., Lubin M., Leon M., Numan M., 1970: Hormonal induction of maternal behavior in the ovariectomized nulliparous rat. *Physiol. and Behav.* 5: 1373-1377.
- *McClintock M.M., 1987: A functional approach to the behavioral endocrinology of rodents. En: (Crews D., ed.) *Psychology of reproductive behavior.* New York. Prentice Hall: 1987: 176-203.
- *Mermelstein P.G. y Becker J.B. 1995. Increased extracellular dopamine in the nucleus accumbens and striatum of the female rat during paced copulatory behavior. *Behav. Neurosci.* 109. 354-365.
- *McKenna K.E. y Naedelhaft I. 1986. The organization of the pudendal nerve in the male and female rat. *J. Comp. Neurol.* 277. 532-549.

- *Masters D.B., Jordan F., Beyer C., Komisaruk B.R. 1993. Release of amino acids into regional superfusates of the spinal cord by mechanostimulation of the reproductive tract. *Brain Res.* 621. 279-290.
- *Matheson G.K., Branch B.J., Taylor A.N. 1971. Effects on amygdaloid stimulation on pituitary adrenal activity in conscious rats. *Brain Res.* 32. 151-167.
- *Mason J.W. 1959. Plasma 17-hydroxycorticosterone levels during electrical stimulation of the amygdaloid complex in conscious monkeys. *Am. J. Physiol.* 196. 44-48.
- *Matheson G.K., Branch B.J., Taylor A.N. 1971. Effects of amygdaloid stimulation on pituitary-adrenal activity in conscious cats. *Brain Res.* 32. 151-167.
- *McGinnis M.Y., Lumia A.R., McEwen B.S. 1985. Increased estrogen receptor binding in amygdala correlates with facilitation of female sexual behaviour induced by olfactory bulbectomy. *Brain Res.* 334. 19-25.
- *Melis M.R. y Argiolas A. 1995. Dopamine and sexual behavior. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 19. 19-38.
- *Moss R.L., Law O.T. 1971. The estrous cycle: its influence on single unit activity in the forebrain. *Brain Res.* 30. 435-438.
- *McDonald A.J. 1985. Immunohistochemical identification of gamma-aminobutyric acid containing neurons in the rat basolateral amygdala. *Neurosci. Lett.* 53. 203-207.
- *McDonald A.J. 1989. Excitatory amino acid immunohistochemistry distinguishes basolateral amygdaloid neurons projecting to the prefrontal cortex versus mediodorsal thalamic nucleus. *Soc. Neurosci. Abs.* 15. 1249.
- *McDonald A.J. 1989a. Coexistence of somatostatin with neuropeptide Y, but not with cholecystokinin or vasoactive intestinal peptide, in neurons of the rat amygdala. *Brain Res.* 500. 285-290.
- *McDonald A.J. 1998. Cortical pathways to the mammalian amygdala. *Progress in Neurobiology.* 55. 257-332.
- *McDonald A.J. 1992. Cell types and intrinsic connections of the amygdala. En: *The amygdala: Neurobiological aspects of emotion, memory, and mental dysfunction.* Pasg. 67-96. Ed. Aggleton J.P. Wiley Liss: New York.

*Nance D.M., Burns J., Klein C.M., Burden H.W. 1988. Afferent fibers in the reproductive system and pelvic viscera of the female rats: anterograde tracing and immunocytochemical studies. *Brain Res. Bull.* 21. 701-709.

*Nelson J. 1964. An introduction to behavioral endocrinology. Pags. 353-393. Sinauer Associates.

*Ottersen O.P., Fischer B.O., Rinwick E., Storm-Mathisen J. 1986. Putative amino acid transmitters in the amygdala. En: Schwarcz R and Ben-Ari (eds), *Excitatory amino acids and epilepsy*. Plenum Press, New York.London. 53-66.

*Ortega Villalobos M., García Bazan M., Solano Flores L.P., Nínomiya Alarcón J.G., Guevara Guzmán R., Wayner M.J. 1990. Vagus nerve afferent and efferent innervation of the rat uterus: an electrophysiological and HRP study. *Brain Res. Bull.* 25. 365-371.

*Pacheco P., Manzo J., Carrillo P., Martínez-Gomez M. 1998. Postural and visceral reflexes evoked by genital stimulation in females. *INABIS'98*.

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

*Paredes R.G., Tzschentke T., Nakach N. 1998. Lesions of the medial preoptic area/anterior hypothalamus (MPOA/AH) modify partner preference in male rats. *Brain Res.* 813. 1-8.

*Paredes R., Haller A.E., Manero M.C., Alvarado R., Agmo A..1990. Medial preoptic area kidling induces sexual behavior in sexually inactive male rats. *Brain Res.* 515. 20-26.

*Pardey-Borrero B.M., Tamasy V., Timiras P.S., 1985: Circadian pattern of multiunit activity of the rat suprachiasmatic nucleus during the estrous cycle. *Neuroendocrinology.* 5: 450-456.

*Paxinos G. y Watson C. 1997. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Academic Press, New York.

*Peters L.C., Kristal M.B., Komisaruk B.R. 1997. Sensory innervation of the external and internal genitalia of the female rat. *Brain. Res.* 408. 199-202.

- *Pfaff D.W. 1999. Drive. Neurobiological and molecular mechanisms of sexual motivation. The MIT Press. London, England.
- *Pfaff D.W., Schwartz-Giblin S., McCarthy M.M., Kow L.M. 1994. Cellular and molecular mechanisms of female reproductive behaviors. En: *The Physiology of Reproduction* vol 2. Raven Press, New York.
- *Pfaff D.W. y Keiner M.1973. Atlas of estradiol-concentrating cells in the central nervous system of the female rat. *J. Comp. Neurol.* 151. 121-158.
- *Pfaff D.W. y Keiner M.1972. Estradiol concentrating cells in the rat amygdala as part of the limbic-hypothalamic hormone-sensitive system. En: Eleftherion B.E. (ed). *The Neurobiology of the amygdala*. Plenum Press. New York/London. 775-785.
- *Pfaff D.W., Diakow C., Montgomery M. y Jenkins F.A. 1978. X-ray cinematographic analysis of lordosis in female rats. *J. of Comp. Physiol.* 92: 937-941.
- *Paus T., Zijdenbos A., Worsley K., Collins D.L., Blumenthal J., Giedd J.N., Rapoport J.L., Evans A.C. 1999. Structural maturation of neural pathways in children and adolescents: In vivo study. *Science.* 283. 1908-1911.
- *Pfaus J.G., Kleopoulus S.P., Mobbs C.V., Gibbs R.B. y Pfaff D.W. 1993. Sexual stimulation activates c-fos within estrogen-concentrating regions of the female rat forebrain. *Brain. Res.* 624. 253-267.
- *Pfaus J., Jacob A., Kleopoulus S., Gibbs R. y Pfaff D. 1994. Sexual stimulation induces Fos immunoreactivity within GnRH neurons of the female rat preoptic area: interaction with steroid hormones. *Neuroendocrinology.* 60. 283-290.
- *Pfaus J.G. y Heeb M.M. 1997. Implications of the immediate early gene induction in the brain following sexual stimulation of female and male rodents. *Brain research bulletin.* 44. 397-407.
- *Pitkänen A. 2002. Connectivity of the rat amygdaloid complex. Pags. 31-116. En: *The Amygdala: A functional analysis*. Ed. Aggleton J.P. Oxford University Press.
- *Porter R.W., Cavanaugh E.B., Critchlow B.V. y Sawyer C.H. 1957. Localized changes in electrical activity of the hypothalamus in estrous cats following vaginal stimulation. *Americ. J. Physiol.* 189. 145-151.

*Porrino L.J., Crane A.M., Goldman-Rakic P.C. 1981. Direct and indirect pathways from the amygdala to the frontal lobe in rhesus monkeys. *J. Comp. Neurol.* 198. 121-136.

*Ramirez D.V., Komisaruk B.R., Whitmoyer D.I., Sawyer C.H. 1966. Effects of hormones and vaginal stimulation on the EEG and hypothalamic units in rats. *Amer. J. Physiol.* 212. 1376-1384.

*Ray J.P. y Price J.L. 1993. The organization of projections from mediodorsal nucleus of the thalamus to orbital and medial prefrontal cortex in macaque monkeys. *J. Comp. Neurol.* 337. 1-31.

*Rajendren G. y Moss R.L. 1993. The role of the medial nucleus of the amygdala in the mating-induced enhancement of lordosis in female rats: the interaction with luteinizing hormone-releasing hormone neural system. *Brain Res.* 617. 81-86.

*Rodriguez-Sierra J., Crowley W., Komisaruk B. 1975. Vaginal stimulation in rats induces prolonged lordosis responsiveness and sexual receptivity. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 89. 79-85.

*Rosenblatt J.S. Mayer A.D., Siegel H., 1985: Maternal behavior among the nonprimate mammals. En: (Adler N., Pfaff D.W., Goy R.W., eds.) *Reprod. handbook of behav. Neurobiol.*, vol. 7. Plenum Press. New York.

*Rosenblatt J.S., 1990: Landmarks in the physiological study of maternal behavior with special reference to the rat. En: (Krasgenor N.A., Bridges R.S., eds.) *Mammal. Parent.*, Oxford University Press. New York.

*Rodríguez-Manzo G., Pellicer F., Larsson K., Fernandez-Guasti A.. 2000. Stimulation of the medial preoptic area facilitates sexual behavior but does not reverse sexual satiation. *Behav. Neurosci.* 114. 553-560.

*Robbins A., Berkley K.J., Sato Y. 1994. Estrous cycle variation of afferent fibers supplying reproductive organs in the female rat. *Brain Res.* 596. 353-356.

*Rowe D.W. y Erskine M.S. 1993. c-fos Proto-oncogene activity induced by mating in the preoptic area, hypothalamus and amygdala in the female rat: role of afferent input via the pelvic nerve. *Brain. Res.* 621. 25-34.

- *Sato S., Hayashi R.H., Garfield R.E. 1989. Mechanical responses of the rat uterus, cervix and bladder to stimulation of hypogastric and pelvic nerves in vivo. *Bio. Repr.* 40. 209-219.
- *Sakuma Y. y Akaishi T. 1987. Cell size, projections path and localization of estrogen-sensitive neurons in the rat ventromedial hypothalamus. *J Neurophysiol.* 57. 1148-1159.
- *Sumano L.H., Ocampo C.V., 1988: *Farmacología veterinaria*. Mc Graw Hill. México. 494-511. () Sowell E.R., Thompson P.M., Holmes C.J., Jernigan T.L., Toga A.W. 1999. In vivo evidence for post-adolescent brain maturation in frontal and striatal regions. *Nat Neurosci.* 2. 859-861.
- *Shabsigh A., Buttyan R., Burchardt T., Hayek O.R., Agati V.D., Olsson C., Shabsigh R. 1999. The microvascular architecture of the rat vagina revealed by image analysis of vascular corrosion cast. *Int. J. Imp. Res.* 11. Suppl 1.
- *Sarter M. y Markowitsch H.J. 1985. Involvement of the amygdala in learning and memory: a critical review, with emphasis on anatomical relations. *Behav. Neurosci.* 99. 342-380.
- *Shreiner L. y Kling A. 1953. Behavioral changes following rhinencephalic injury in cats. *J. Neurophysiol.* 16. 643-659.
- Schneider S.P., Beyer C., Komisaruk B.R. 1985. Strychine antagonizes vaginal stimulation-produced analgesia at the spinal cord by mechanostimulation of the reproductive tract. *B. Res.* 621. 279-290.
- *Steinman J.L., Komisaruk B.R., Yaksh T.L. Tyce G.M. 1983. Spinal cord monoamines modulate the antinociceptive effects of vaginal stimulation in rats. *Pain.* 16. 155-166.
- *Sakuma Y. 1999. Neural control of reproductive behavior: a bird's eye view. En: *Neural control of reproduction. Physiology and behavior*. Eds. Maeda K., Tsukamura H., Yokoyama A. Japan Scientific Societies Press. Karger.
- *Swanson L.W. 1981. A direct projection from Ammon's horn to prefrontal cortex in the rat. *B. Res.* 217. 150-154.
- *Swanson L.W. y Petrovich G.D. 1998. What is the amygdala?. *Trends Neurosci.* 21:8. 323-331.

*Tetel M.J., Getzinger M.J., Blaustein J.D. 1993. Fos expression in the rat brain following vaginal-cervical stimulation by mating and manual probing. *J. Neuroendocrinol.* 5. 397-404.

*Thornton J.E. y Finn P.D. 1998. Estrus. En: *Encyclopedia of reproduction*. Eds. Knobil E. y Neill J.D.

*Terasawa E. y Timiras P.S. 1968. Electrical activity during the estrous cycle of the rat: cyclic changes in limbic structures. *Endocrinology.* 83. 207.

*Veronique G.J.M., Van der Horst., Holstege G. 1998. Sensory and motor components of reproductive behavior: pathways and plasticity. *Behavioural Brain Research.* 92. 157-167.

*Veening J.G. y Coolen L.M. 1998. Neural activation following sexual behavior in the male and female rat brain. *Behavioral Brain Research.* 92. 181-183.

*Vanderwolf C.H. 1988. Cerebral activity and behavior: control by central cholinergic and serotonergic systems. *Int Rev. Neurobiol.* 30. 22-340.

*Vanderwolf C.H. 1990. An introduction to the electrical activity of the cerebral cortex: relations to behavior and control by subcortical inputs. En: B. Kolb., R.C. Tees (eds). *The cerebral cortex of the rat*. Pp 151-189. MIT Press, Cambridge, M.A.

*Vanderwolf C.H. 1992. The electrocorticogram in relation to physiology and behavior: a new analysis. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 82. 165-175.

van der Kooy D., McGinty J.F., Koda L.Y., Gerfen C.R., Bloom F.E. 1982. Visceral cortex: A direct connection from prefrontal cortex to the solitary nucleus in rat. *Neurosci. Lett.* 33. 123-127.

*Wersinger S.R., Baum M.J. y Erskine M.S. 1993. Mating-induced Fos-like immunoreactivity in the rat forebrain: a sex comparison and a dimorphic effect of pelvic nerve transection. *J. Neuroendocrinol.* 5. 557-568.