



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias
División de Ciencias Biológicas
Departamento de Ciencias Ambientales

INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS

Efecto de la estimulación vaginocervical copulatoria sobre la actividad eléctrica amigdalina de la rata hembra

Tesis
que para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIAS DEL COMPORTAMIENTO
(OPCIÓN NEUROCIENCIAS)

presenta
Orlando Reynoso Orozco

Comité tutorial

Dra. Marisela Hernández González (Directora)

Dra. Gina Lorena Quirarte

Dr. Jorge Juárez González

Dr. Miguel Angel Guevara Pérez

Dra. Marcela Arteaga Silva

Guadalajara, Jalisco

Mayo de 2007

ÍNDICE

	Páginas
ABREVIATURAS	3
RESUMEN	5
ABSTRACT	6
INTRODUCCIÓN	7
ANTECEDENTES	11
Ciclo ovárico de la rata	11
Cambios conductuales en relación al ciclo ovárico de la rata	13
Aferencias y eferencias del aparato genital de la rata hembra	16
Estudios de EVC <i>in copula</i>	18
Estudios de EVC <i>ex copula</i>	21
Amígdala	24
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	31
OBJETIVO GENERAL	33
Objetivos específicos	33
HIPÓTESIS	34
MATERIALES Y MÉTODO	35
RESULTADOS	40
DISCUSIÓN	47
CONCLUSIONES	56
REFERENCIAS	57
APÉNDICE (Actividad neural eléctrica).....	69

ABREVIATURAS

AMN	Actividad multineuronal
AmM	Amígdala medial
APOm	Área preóptica medial
BSNT	Núcleo de la base de la stria terminalis
c-Fos	Gen de expresión temprana c-fos
D	Diestro
EEG	Actividad y/o registro electroencefalográfico
EVC	Estimulación vaginocervical
E	Eyacuación
FSH	Hormona folículo estimulante
FOS-IR	Inmunorreactividad al gen c-fos
I	Intromisión
IR-ES	Inmunorreactividad a receptores de estrógenos
LH	Hormona luteinizante
M	Monta
NVH	Núcleo ventromedial del hipotálamo
PA	Potencia absoluta
PR	Potencia relativa
P-E	Proestro-Estro
PRL	Prolactina
T 1	Theta 1 Banda de 4-8 Hz
T 2	Theta 2 Banda de 9-12 Hz

RA	Rápidas 13-25 Hz
r	Correlación de Pearson
V-Q	Vigilia quieto
5 I	Grupo de 5 intromisiones
25 I	Grupo de 25 intromisiones

RESUMEN

La estimulación EVC que recibe la hembra durante la interacción copulatoria es crítica en la reproducción y constituye una de las fuentes más importantes de estimulación sensorial que inducen cambios endocrinos, neurales y conductuales a corto y largo plazo. La amígdala medial (AmM) presenta una mayor activación neural durante, y hasta por varios minutos y días después de la estimulación copulatoria, participando directamente sobre la cuantificación temporal y en el procesamiento de las señales aferentes recibidas durante la conducta sexual. Por lo anterior, en este trabajo evaluamos si la actividad electroencefalográfica de la AmM de la rata en P-E presente cambios en respuesta a diferentes cantidades de EVC copulatorios. Se utilizaron 14 ratas hembra vírgenes de la cepa Wistar (250-300 gr), con un ciclo estral regular de 4 días. Los registros EEG se realizaron en la fase de P-E, después de una EVC copulatoria de 5 I y de 25 I respectivamente. Dicha captura fue dividida en tres bloques de tiempos de registro: 15 min iniciales; 20-40 min intermedios y 45-60 min finales post-EVC copulatoria. El grupo de 5 I manifestó durante toda la interacción copulatoria conductas proceptivas muy evidentes, mientras que el grupo de 25 I presentó conductas de rechazo evidentes a partir la 10 I. Se encontró una mayor PR de las tres bandas de frecuencia sólo durante los periodos intermedios y finales post-EVC copulatoria en el grupo de 5 I. En el grupo de 25 I, el EEG amigdalino se caracterizó por presentar también una mayor PR de las tres bandas, pero sólo durante el periodo final de la post-EVC copulatoria. El patrón EEG de la amígdala medial derecha e izquierda de las ratas en P-E 5 I vs 25 I fue similar, mostrando una diferente temporalidad de la ocurrencia de estos cambios EEG, el grupo 5 I presentó cambios desde los 20 min post-EVC copulatoria, en tanto que en el grupo 25 I, estos cambios se observaron hasta los 40 min post-EVC copulatoria. Esta diferente temporalidad en la ocurrencia de los cambios EEG podrían asociarse a los diferentes estados motivo-emocionales que experimenta la hembra. La mayor PR de las tres bandas de frecuencia desde los 20 min post-EVC podrían asociarse al estado apetitivo, en tanto que en el grupo de 25 I podría reflejar el tiempo mínimo requerido para que en las ratas que recibieron EVC excesiva asociada con evidentes conductas de rechazo hacia el macho, comience a presentarse un estado relajado y de menor sobreexcitación conductual. En resumen, estos resultados muestran que la funcionalidad EEG amigdalina de las ratas en P-E es sensible a la cantidad e intensidad de estimulación vaginocervical copulatoria.

ABSTRACT

It has been suggested that the vaginocervical stimulation (VCE) received by the female during the copulatory interaction plays a critical role in reproduction, inducing changes at endocrine, behavioral and neural levels. Different brain structures have been implicated in the modulation of sexual behavior, and the medial amygdale (mAM) have been shown to participate in the processing and temporal quantification of the intromissions received by the female during the sexual interaction. The aim of this study was to determine if the electroencephalographic activity (EEG) of the mAM is sensitive to different amount and intensity of VCE during the sexual interaction. Female Wistar rats (250-300g weight) were bilaterally implanted in the mAM and, after a recovery period, when the rats were in the proestrus-estrous phase, the EEG recordings were made, before (10 min) and after (60 min) receiving moderate (5 intromissions, or I) or intense (25 I) VCE during copulatory interaction with a male rat. The EEG recordings post-VCE were divided into three periods: 15 min at the beginning, 20-40 min intermediate and 45-60 minutes at the end. The females of the 5 I group showed solicitation behaviors (darting, hopping and lordosis) throughout the sexual interaction, while the females of the 25 I group started to show evident rejecting behaviors (kicking, boxing and no lordosis) as from approximately the 10th intromission. The EEG of the left and right mAM in the females of 5 I was characterized by an increase in the relative power (RP) of the three frequency bands (4-7, 8-12 y 13-25 Hz) during the 15 min at the beginning and 20-40 min intermediate post-VCE, while the 25 I group showed a similar EEG pattern but only during the last 45-60 min post-VCE. This different temporality in the occurrence of the EEG amigdalar changes could be associated to the different motivational stages of the females. The higher percentage of the three frequency bands from the 20 min post-VCE in the 5 I group could be associated with the appetitive sexual motivation of the female after receiving only 5 intromissions, whereas the fact that the females of the 25 I group showed a decreased RP of the three frequency bands until 45 min after post-VCE could be associated with the anxious state that results from the intense VCE, which could also be associated to estrus termination. Thus, it is possible that the higher percentage of the three frequency bands until 45-60 min could indicate the time at which females started to enter a relaxed state after the intense post-VCE.

Taken together, these results shown that, in receptive female rats, the amigdaline function is sensitive to the amount and intensity of VCE stimulation received during the sexual interaction.

INTRODUCCIÓN

La conducta reproductiva que despliegan los mamíferos durante su ciclo de vida implica tres características importantes en común a todos ellos: la primera es que está constituida por patrones motores específicos propios de cada especie y altamente estereotipados; la segunda, es que ésta se inicia en respuesta a estímulos sensoriales muy específicos, y tercera, que la conducta reproductiva es altamente dependiente de la presencia de las hormonas esteroideas gonadales (Veronique y col.1998).

La cópula en las ratas (*Rattus norvegicus*) involucra la coordinación de patrones motores muy complejos y altamente específicos, mientras el macho y la hembra se encuentran repetidamente uno a otro llevan a cabo conductas complementarias que incluyen la lordosis de la hembra en respuesta a la monta e intromisión y/o eyaculación por parte del macho. La expresión de la conducta sexual de la rata hembra está constituida tanto de componentes iniciadores o de solitación (ej; carreras, saltos, orejeos) así como de componentes consumatorios (ej; lordosis) (Coopersmith & col. 1996 a,b; Rowe & Erskine, 1993; Erskine & col.1989).

Sin embargo, dos tendencias antagónicas interactúan en la motivación de la conducta sexual de la rata hembra: la acción de las hormonas ováricas en el SNC que incrementan la sensibilidad y disponibilidad de la hembra ante los estímulos copulatorios y, por otra parte, la estimulación vaginocervical copulatoria intensa que induce con el tiempo conductas de rechazo. En diversos estudios se ha observado que las consecuencias fisiológicas que resultan de las intromisiones están directamente correlacionadas con el número de éstas, y se ha reportado en numerosos estudios que durante la libre cópula un número pequeño de intromisiones, y por consiguiente una reducida estimulación

vaginocervical, no es suficiente para terminar con el estro conductual e inducir la pseudogestación, y que únicamente después de 25 intromisiones ó de una sesión copulatoria *ad libitum* de 40 min finaliza el estro conductual (Coopersmith & col. 1996 a,b; Rowe & Erskine, 1993; Erskine & col.1989).

Una hembra en estro que recibe estimulación vaginocervical durante la interacción copulatoria muestra respuestas fisiológicas y conductuales muy variadas, tales como: aumento del ritmo cardiaco, dilatación de la pupila (Rodríguez-Sierra & col. 1975), inicio de las respuestas conductuales y neuroendocrinas asociadas con la gestación y pseudogestación (Erskine, 1995), cambios en la sensibilidad ante estímulos sensoriales (Cueva-Rolon & col.1995; Gintzler & Komisaruk, 1991; Gomora & col. 1994) e inducción de la expresión de genes tempranos en el cerebro y médula espinal (Chinapen & col.1992; Erskine & Hanrahn, 1997; Pfaus & col.1994).

Diferentes estudios electrofisiológicos han mostrado cambios a corto y a largo plazo en la funcionalidad de estructuras cerebrales específicas en relación a la estimulación vaginocervical, por ejemplo: Ramírez & col. (1966) reportan que durante la EVC artificial de ratas en proestro-estro (P-E) anestesiadas, aparece un estado característico de alertamiento en el EEG hipotalámico, subcortical y cortical (actividad rápida desincronizada) y un minuto después de la EVC aparece un EEG similar al del sueño lento, caracterizado por una alta proporción de frecuencias lentas y una disminución en la tasa de disparo de neuronas talámicas y corticales hasta por 20 o 60 min después de 30 seg de una EVC artificial continua (Komisaruk & col. 1967, Ramírez & col.1966). En ratas en la fase de P-E aumenta la tasa de disparo de células del bulbo olfatorio durante 15 min de EVC artificial continua (Guevara-Guzmán & col.1997). Asimismo, Rowe & Erskine describen

que la EVC artificial en ratas en P-E produce cambios funcionales a largo término en estructuras como el APOm, NBST y AmM, hasta por una hora después de una sesión copulatoria, concluyendo que éstos cambios en la expresión de c-fos en el APOm y AmM ocurren específicamente en respuesta a la estimulación genitosensorial (Rowe & Erskine, 1993). En un estudio realizado en nuestro laboratorio, se encontró que sólo las ratas en P-E durante la EVC artificial presentan una mayor proporción de frecuencias rápidas en la AmM respecto al estado basal y diestro; estos resultados ponen de manifiesto que la funcionalidad de la AmM ante la EVC artificial varía en relación al ciclo estral (Hernández-González & col. Sin publicar). Hay trabajos que reportan una mayor activación neural durante, y hasta por varios minutos y días después de la estimulación vaginocervical copulatoria o de la estimulación eléctrica o excitotóxica, lo cual se ha asociado con una mayor ocurrencia de pseudogestación. Estos estudios indican que la AmM es sensible ante los estímulos copulatorios somatosensoriales y que ejerce una influencia moduladora neuroendocrina directa sobre los pulsos de prolactina (Pfaus & col. 1996).

Esta muy bien descrito que la AmM está involucrada en el control de la regulación de los procesos conductuales y neuroendocrinos de la reproducción (ej., ovulación), ya que su ablación o lesión elimina la pseudogestación y altera la conducta de preferencia de pareja (Erskine, 1985; Erskine & col. 1989, 1997; Rajendren & Moss, 1993; Masco & Carrer, 1980). Además, los diversos estudios que miden el grado de respuesta FOS-IR en la AmM durante la conducta sexual sugieren que ésta área participa en la cuantificación temporal de la estimulación vaginocervical copulatoria, sugiriendo que es un importante centro de procesamiento de las señales aferentes recibidas durante la conducta sexual (Erskine 1993; Pfaff & col. 1994; Pfaus & col.1993; Pfaus & col.1994; Pfaus & col. 1997).

No obstante, aun cuando en varios trabajos se ha mostrado que la AmM muestra una alta activación c-fos después de los variados estímulos copulatorios, no se sabe si la funcionalidad eléctrica de esta estructura cambia en relación a la cantidad de EVC provocada por las múltiples intromisiones recibidas durante la copula. En base a lo anterior, en este estudio se pretende investigar si diferentes cantidades de EVC copulatoria se asocian con cambios EEG característicos en la AmM de la rata hembra en P-E.

ANTECEDENTES

Ciclo ovárico de la rata

La rata de laboratorio 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*, y consiste en una temporada de no-crianza o periodo de descanso en las hembras con reproducción estacional, durante el cual los ovarios y órganos accesorios reproductivos se encuentran relativamente inactivos, y por lo tanto 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 intermedia entre el *proestro* y el *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. Aunque la duración de las fases puede variar dependiendo del fotoperiodo y de otros factores, es regularmente monitoreado mediante la observación al microscopio de los tipos celulares predominantes en las paredes del tracto vaginal (frotis vaginal) (Freeman, 1994).

Las variaciones en el ciclo estral son producto de una serie de cambios en la síntesis de mensajeros químicos hormonales. 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). 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 & Ocampo, 1988). Durante el ciclo estral de la rata de tres a más cuerpos lúteos estarán presentes en el ovario. En el diestro un nuevo cuerpo lúteo se mantiene en un tamaño máximo hasta el metaestro del próximo ciclo. Si por el contrario los animales copulan y logran la preñez, o si son estimulados artificialmente en la vagina/cervix, la glándula pituitaria secreta suficientes cantidades de luteotropinas (prolactina) que rescatan al cuerpo lúteo y permiten que persista. Si la cópula es fértil la fase lútea persiste durante toda la gestación, es decir, de 20-22 días. Si ésta fue infértil o mecánico-artificial, el cuerpo lúteo persiste por 12 o 14 días, periodo conocido como pseudogestación (Freeman, 1994). La pseudogestación de la rata producto de la EVC está mediada por la estimulación del cuerpo lúteo gracias a la PRL hipofisiaria. De ahí que la elevación en los niveles circulantes de esta hormona sucedan sólo durante las primeras horas después de la estimulación en la fase del P-E de la rata, y poco tiempo después comienza a ser evidente la pseudogestación por la ocurrencia diaria de los dos pulsos de secreción de PRL y su liberación a la circulación (Castro Vazquez & McCann, 1979).

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, mediante la modificación en la agudeza, sensibilidad y eficacia con la cual son percibidos los estímulos sensoriales (Nelson, 1996). Las hormonas implicadas en la reproducción cambian la probabilidad de que estímulos específicos motiven conductas concretas que facilitan al organismo la ejecución de una cópula exitosa (Nelson, 1996). Además, diversos estudios han mostrado que el estrógeno, por ejemplo, induce cambios estructurales y funcionales sobre áreas específicas del cerebro en la rata hembra adulta, como el hipocampo (Rudick & Wooley, 2001).

Durante la primera parte del ciclo estral o inicio del proestro el rechazo por parte de la hembra a los intentos sexuales del macho disminuyen progresivamente, dado que durante la etapa previa del anestro, que incluye a las fases de metaestro y diestro, la rata hembra se muestra hermética a los intentos de copula por parte del macho. Al final del proestro (tarde) e inicio del estado del estro la hembra se torna receptiva y permite que ocurra la cópula. Durante este corto periodo (4hrs a la semana aproximadamente) la hembra presenta conductas dirigidas al macho que se caracterizan principalmente por tres aspectos: la *atractividad*, que implica aquellas cualidades que ayudan al macho a detectar la disposición sexual de la hembra como es la producción de feromonas; la *proceptividad*, que comprende todas las actividades apetitivas de la hembra, que son acciones dirigidas al macho y que indican su iniciativa para establecer o mantener la interacción sexual, tales como la ejecución de carreras, saltos en zig-zag y movimientos rápidos de las orejas y vibrisas; y por último la *receptividad*, la cual consiste en adoptar una postura corporal adecuada que facilite la cópula, reflejo denominado lordosis. 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, acompañado por la desviación de la cola, con el fin de exponer la región genital y así facilitar la intromisión por parte del macho (Thornton & Fin, 1998). El reflejo de lordosis en las hembras de los mamíferos llevada a cabo durante el apareamiento es producto principalmente de la estimulación de las patas delanteras y áreas abdominales y pélvicas del macho sobre áreas específicas de los flancos traseros de la hembra, perineo, vagina y cervix.

En el contexto de la conducta sexual femenina, los estímulos somatosensoriales y olfativos son los que más han sido estudiados en diversos tipos de especies, los cuales se ha sugerido juegan el papel más importante sobre la conducta sexual femenina. Sin embargo es un hecho que la conducta sexual es polisensorial, y que esta depende de varios estímulos para su correcta ejecución. La estimulación somatosensorial proveniente de la región vaginocervical juega un papel muy importante en la inducción del reflejo de lordosis, en la ejecución y duración del estro conductual, así como en la inducción de los procesos hormonales relacionados con la gestación y pseudogestación. En este contexto, dos aspectos son muy interesantes respecto a la estimulación somatosensorial, específicamente aquella proveniente de la vagina y cervix, y son que dicha estimulación tiene un efecto dual (facilitador e inhibidor) sobre la conducta sexual femenina y sus efectos persisten o prevalecen durante más tiempo que la estimulación misma. El efecto dual de la estimulación vaginocervical está directamente correlacionado con el patrón, cantidad e intensidad de la estimulación recibida (Freeman, 1994).

Además del agotamiento sexual y la terminación conductual del estro, la estimulación sexual implica una serie de eventos o reacciones a “futuro”, tales como la recompensa sexual relacionada con el aprendizaje, así como los procesos neuroendocrinos asociados con la gestación y pseudogestación. Dichos cambios neuroendocrinos (mayor secreción de PRL) prevalecen aproximadamente 12 días después de la estimulación copulatoria, lo que sugiere que algún circuito reverberante o de “memoria” es activado por la estimulación vaginocervical (Pfaus & Heeb, 1997; Freeman, 1994).

Se ha sugerido que son muchas las maneras en que la información genitosensorial es procesada y almacenada durante la cópula para poder determinar la síntesis de PRL. Primero, las señales neurales generadas por cada intromisión son almacenadas y sumadas a lo largo de la conducta copulatoria, ya que el número e intensidad de cada intromisión del macho así como los intervalos entre cada una, afectan directamente la síntesis de PRL. Segundo, la síntesis diaria de PRL después de la estimulación copulatoria persiste aún en ausencia del estímulo (Freeman, 1994). En la medida en que los estrógenos y la progesterona inducen cambios a corto y a largo plazo en los circuitos neurales que median las conductas apetitivas y consumatorias de la hembra, también es cierto que la EVC durante la copula produce cambios a corto y largo plazo en la conducta sexual y en las funciones neuroendocrinas (Pfaus & col. 1996). La conducta de lordosis y el pico de sensibilidad para la secreción de PRL ante la estimulación vaginocervical ocurre coincidentemente con el estro, así que tanto la lordosis como la liberación de PRL son facilitadas por los estrógenos y progesterona, e influenciados por la funcionalidad del hipotálamo ventromedial (Lehman & Erskine, 2004).

Aferencias y eferencias del aparato genital de la rata hembra

En la rata hembra las aferencias sensoriales desde los receptores de presión en la piel de los flancos traseros 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, puede viajar a través de tres diferentes nervios: el pélvico, el pudendo y el hipogástrico (Veening & Coleen, 1998).

El nervio pélvico es la aferencia primaria sensorial desde el cervix. Los mensajes provenientes de la estimulación cervical ascienden al tallo cerebral a través de las columnas anterolaterales de la médula espinal. Las áreas neurales centrales involucradas en la estimulación cervical incluyen al núcleo reticular lateral, núcleo reticular gigantocelular y el núcleo de rafe. La actividad aferente de la estimulación vaginocervical llega por medio de la espina dorsal a través del nervio pélvico e hipogástrico; dos nervios que inervan el tracto de las estructuras reproductivas femeninas, incluyendo la vagina, el cervix y útero (Berkley & col. 1990; Ginzler & Komisaruk 1991; Gomora & col. 1994). La entrada del nervio pélvico, en la vértebra espinal lumbosacra, es crítica para inducir los cambios por la EVC, y si este es cortado se bloquean o se atenúan las respuestas neuroendocrinas, conductuales y autonómicas ocasionadas por la EVC.

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 & col., 1987). El nervio pudendo inerva los músculos estriados perineales en hembras y machos. Además, lleva información aferente desde el pene o clítoris y piel perigenital, y es un importante componente del control espinal de las

funciones sexuales y excretoras. 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, junto con el nervio hipogástrico y la cadena simpática (McKenna & Nadelhaft, 1986). La monta parece activar principalmente el nervio pudendo (Veening & Coleen, 1998).

El nervio hipogástrico parece tener fibras aferentes con origen en el cuerno del útero (Veening & Coolen 1998; Berkley & col. 1988; Peters & col. 1987). 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 & col. 1988,1990).

Las fibras aferentes desde del 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 & 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 aferentes uterinas son más sensibles durante el estro vaginal que durante otras etapas del estro, lo cual apoya la hipótesis de que las 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 solo 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 & col. 2000; Berkley & col. 1988).

Estudios de EVC *in copula*

La conducta sexual en la rata involucra la ejecución de patrones motores específicos en una secuencia espacial y temporal muy bien definida. El macho y la hembra repetidamente se encuentran uno a otro y llevan a cabo conductas complementarias que incluyen la lordosis por parte de la hembra en respuesta a la monta, intromisión y/o eyaculación del macho, existiendo además un marcado dimorfismo sexual entre los patrones temporales de copulación (Paredes & Vázquez, 1999). Los intervalos óptimos entre cada respuesta copulatoria son esenciales para desencadenar los reflejos sexuales neuroendocrinos apropiados que resultan en la activación de los estados progestacionales en la rata hembra respecto a la rápida eyaculación del macho (Adler, 1974; Erskine, 1989; Erskine & col. 1989; McClintock, 1984). Se sugiere que hay dos tendencias opuestas que interactúan en la motivación sexual femenina: 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 genital por parte del macho que después de cierto tiempo e intensidad induce un rechazo o aversión por parte de la hembra (Avitsur & Yirmiya, 1999; Madlafousek & Hlinak, 1977; Erskine, 1989).

En numerosas especies de roedores el número de intromisiones recibidas está positivamente correlacionado con el tiempo de terminación de la fase del estro. Coopersmith & col. (1996) reportaron que las hembras que reciben 30 intromisiones bajo condiciones naturales muestran una reducción del estro más evidente respecto a las hembras que recibieron 10 intromisiones. Observaron que un gran número de intromisiones sin un patrón temporal adecuado puede abreviar la duración del estro, pero está demostrado que bajo condiciones naturales solo después de 25 intromisiones o después de una sesión

copulatoria ad lib de 40 min finaliza el estro conductual. Por lo anterior, los autores propusieron que en la cópula autorregulada por la hembra, se requieren aproximadamente un mínimo de 10 intromisiones para terminar el estro, mientras que tan solo 5 intromisiones son suficientes para la inducción del cuerpo lúteo.

Han sido identificadas un grupo de estructuras concentradores de hormonas en el tallo cerebral y en el cerebro medio de roedores (hembras y machos) que son activadas ante la estimulación copulatoria; más específicamente por la estimulación de los nervios sensoriales que inervan el pene o la vagina/cervix, y en menor medida por estímulos somatosensoriales de los flancos traseros, estímulos olfatorios o feromonales o ante incentivos sexuales condicionados. Estas regiones incluyen el tubérculo olfatorio, el área preóptica (APOm), el septum lateral, el núcleo de la base de la stria terminalis (NBST), el hipotálamo paraventricular, el hipotálamo ventromedial (NVH), la amígdala medial (AmM), el núcleo ventral paramamilar, el tegmentum ventral, el campo tegmental central y el núcleo peripenduncular. Además, también son activadas regiones que no tienen los receptores intracelulares esteroideos clásicos, como el estriado dorsal y ventral o la corteza frontal e insular (Pfaus & col. 1996). Las lesiones de cada una de estas áreas alteran de diferente manera los coeficientes de lordosis y la secreción de prolactina. El APOm difiere del NVH y AmM en que juega un papel básicamente inhibitor sobre la lordosis y la pseudogestacion. Interesantemente, las lesiones del NVH y la AmM previenen el inicio de la pseudogestación, en tanto que las lesiones del APOm la facilitan. Asimismo, Rowe y Erskine en un trabajo de FOS-IR describen cambios funcionales a largo término en ratas en P-E en estructuras como el APOm, NBST y AmM hasta por una hora después de una sesión copulatoria, y concluyen que estos cambios en la expresión de c-fos en el APOm y

AmM ocurren específicamente en respuesta a la estimulación genitosensorial y se asocia con el inicio en la secreción de pulsos de prolactina.

La estimulación del tracto reproductivo da origen a una gran variedad de cambios neurales, neuroendocrinos y conductuales en la rata hembra (Martínez Gómez y col. 1992; Rodríguez Sierra y col. 1975). Potencia la respuesta de lordosis así como las conductas proceptivas (Crowley & col. 1976; Komisaruk & Diacow, 1973; Rodríguez Sierra & col. 1975). Regula las respuestas endocrinas asociadas con la liberación de LH e induce la liberación de PRL durante los primeros días de pseudogestación y al inicio de la preñez (Erskine, 1995; Gunnet & Freeman, 1983). Está involucrada en el transporte de los espermatozoides y en la fertilidad (Adler & Toner, 1986; Matthews & Adler, 1977). Atenúa las respuestas conductuales y neurales ante una estimulación nociocéptica (Crowley & col. 1976; Komisaruk & Wallman, 1977; Paff, 1980) y su efecto analgésico ha sido ampliamente registrado (Crowley & col. 1976; Gomora & col. 1994). Aumenta la expresión de genes de expresión temprana en el cerebro y médula espinal (Chinapen & col., 1992; Erskine & Hanrahn, 1997; Pfaus & col., 1994). Afecta la utilización de glucosa por el cerebro (Allen, 1981) y además, induce cambios en la actividad unitaria de las neuronas del hipotálamo y cerebro medio (Haskins, 1983), así como en el complejo talámico vomeronasal (Berkley 1990,1993), y en el núcleo del tracto solitario (Hubsher, 1994; Pfaff, 1973).

Durante la copula y la conducta de monta en ratas hembra y macho, la actividad EEG de la amígdala presenta espigas regulares de 30-40 Hz. Inmediatamente después de la penetración del macho, se observa un incremento en la amplitud de este ritmo de alta frecuencia en la amígdala en ambos sexos (Porter & col. 1956), y los registros simultáneos

del hipocampo y corteza cerebral muestran una alta frecuencia, bajo voltaje y registros asincrónicos característicos de los estados de alerta (Holmes & Egan, 1972). A su vez, la inducción de genes de expresión temprana, tales como el c-Fos, han sido ampliamente utilizados para marcar o identificar la activación de regiones del cerebro después de ser estimulado sexual o conductualmente. En las ratas hembra, el grado de expresión c-Fos en muchas de las regiones concentradoras de estrógenos es menos significativa después de una cópula sin intromisiones (ej. vagina obstruida con cinta) respecto de aquellas que recibieron únicamente estímulos táctiles en los flancos traseros o aquellas a las que previamente se les cortó el nervio pélvico. Esta inducción diferencial de c-Fos es consistente con la interpretación de que la EVC viaja a través del nervio pélvico, de ahí a la médula espinal y de médula espinal al encéfalo a través de la vía espino-hipotalámica, relativamente directa. Así, se ha sugerido que la EVC es el estímulo primario copulatorio necesario en la rata hembra para inducir la expresión c-fos en varias de las estructuras mencionadas previamente (Veening & Coleen, 1998).

Estudios de EVC *ex copula*

La técnica de EVC artificial consiste en aplicar estímulos en la región de la vagina y cervix mediante el uso de un émbolo de vidrio, un globo de látex o descargas eléctricas, entre otros. Uno de los métodos mas ampliamente utilizado, consiste en estimular la región de la vagina/cervix con una presión de entre 200-400 gr mediante el uso de un émbolo de vidrio de una jeringa de insulina, pulido y lubricado (Komisaruk & col. 1973, 1994). De acuerdo con la técnica descrita por Komisaruk (1973), el émbolo presiona contra la vagina y cervix, los cuales están comprimidos por un tejido conectivo contenido en dos láminas muy finas.

El émbolo no entra en el cuello del útero, sin embargo ejerce presión sobre el canal vaginal mientras comprime longitudinalmente el cervix. Una de las principales ventajas de esta técnica es que permite un registro de la estimulación vaginocervical temporalmente más controlado respecto a una interacción copulatoria y se evita la fertilidad, por lo que ha constituido una buena técnica para estudiar el reflejo de lordosis o la analgesia. Otras técnicas de EVC artificial pueden llevarse a cabo con un catéter de látex urinario con un globo al final (el globo se llena en el transcurso de 1 min con 0.8-1.0 ml de agua a temperatura ambiente) el cual permanece lleno durante 10 o 15 min dentro del canal vaginal (Guevara-Guzmán & col. 1997, 2001). Otra técnica consiste en la estimulación mediante un émbolo de vidrio (3x180 mm) que es insertado en la vagina y rotado manualmente durante 5 min (Guevara-Guzmán & col. 1997, 2001).

La EVC artificial también se ha correlacionado con la activación de varias áreas específicas del cerebro (Pfaus & col. 1993, 1997; Peters & col. 1997), por ejemplo, induce cambios en la actividad unitaria de las neuronas del hipotálamo y cerebro medio de roedores (Haskins, 1985), en el complejo talámico vomeronasal (Berkley & col. 1990, 1993), en el núcleo del tracto solitario (Hubsher, 1994; Pfaff, 1997), y aumenta la tasa de disparo de células del bulbo olfatorio de ratas en la fase de P-E ante 15 min de EVC artificial continua (Guevara-Guzmán & col.1997). Durante la EVC artificial un estado característico de alertamiento en el EEG aparece, con una actividad rápida desincronizada, y un minuto después aparece un EEG similar al del sueño lento (Komisaruk & col. 1967, Ramírez & col.1967). Este patrón EEG similar al del sueño que aparece en roedores en P-E, es caracterizado por una alta proporción de frecuencias lentas y una disminución en la tasa de disparo de poblaciones de neuronas talámicas y corticales. Aparece después de la

EVC, por lo que se le ha denominado como un estado de post-reacción (afterreaction) y prevalece hasta por 20 min después de 30 seg de EVC continua.

En un estudio realizado en nuestro laboratorio, observamos una actividad EEG basal diferencial en la corteza prefrontal medial y en la amígdala medial en relación al ciclo estral y durante la EVC artificial de la rata. Sólo las ratas en P-E durante la EVC artificial presentaron una mayor proporción de frecuencias rápidas en ambas estructuras respecto al estado basal, activación que no fue evidente en las ratas en D. Se encontraron diferencias entre fases estrales (P-E vs D) durante la EVC artificial sólo al dividir el tiempo de EVC artificial (1 minuto) en dos mitades de 30 seg cada una. Sólo durante la primera mitad de EVC artificial en las ratas en P-E la correlación interamigdalina de la banda de 8-12 Hz aumentó respecto a la primera mitad de EVC artificial en D. En tanto que durante la segunda mitad de EVC artificial en las ratas en P-E se presentó una mayor correlación interamigdalina en la banda de 13-21 Hz respecto a la segunda mitad de EVC artificial en las ratas en D. Estos resultados ponen de manifiesto que la funcionalidad de la AmM ante la EVC artificial varía en relación al ciclo estral y ante la duración y/o intensidad de estimulación vaginocervical (Hernández-González & col., sin publicar). Pfaus y col. (1996) han reportado un grado de activación c-Fos diferencial en la AmM ante diferentes cantidades de EVC artificial recibida, reportando una mayor activación de FOS-IR ante 50 EVC artificiales y menor con 1 EVC artificial.

El mismo grado de expresión c-Fos puede ser inducido mediante una cópula con intromisiones o mediante la EVC artificial con un patrón temporal definido. Los estudios iniciales de FOS-IR en el SNC como consecuencia de la EVC artificial utilizan la aplicación simple o doble de una presión de 400 gr sobre el cervix durante 10 s, o una serie

distribuida de 50 EVC (0, 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50 cada una con una duración de 2 s) a un intervalo de 5 o 6 min, con el émbolo de una jeringa de insulina (1ml). Este protocolo está diseñado para mimetizar el número aproximado de intromisiones que recibe la rata hembra por un macho durante una sesión copulatoria de 1 hr en una caja de dos niveles (Pfaus & col. 1996; Pfaus & Heeb, 1997).

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 (Agletton, 2000). La amígdala de los primates recibe una gran cantidad de proyecciones desde las áreas corticales, incluyendo las áreas auditivas y visuales, incluso más que otros mamíferos como el gato o la rata. Después del hipocampo, la amígdala es la estructura más importante del sistema límbico. 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 olfativo, 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). El núcleo medial comienza al nivel del núcleo del tracto olfatorio lateral y se extiende caudalmente hacia donde comienza el ventrículo lateral. El núcleo medial recibe el número

más grande de proyecciones desde la amígdala contralateral de todos los núcleos amigdalinos. Y a su vez, proyecta sólo unas pocas fibras al núcleo medial contralateral. Las principales entradas hacia el núcleo medial provienen de la corteza prefrontal, del núcleo de la base de la stria terminalis y del hipotálamo (Aggleton, 2000). El punto de vista tradicional acerca de la amígdala fue desafiado por Swanson y Petrovich (1998), y como argumento central proponen el hecho de que los grupos celulares que constituyen a la amígdala tienen un origen a partir de diferentes regiones cerebrales, y que a su vez estos grupos pueden diferenciarse en base al grado de conectividad y la distribución de los neurotransmisores dentro de cada grupo, y como consecuencia de esto puede diferenciarse funcionalmente. Los cuatro núcleos (funcionales) en la amígdala de la rata han sido descritos por Swanson y Petrovich de la siguiente manera: el núcleo central (autonómico), el núcleo medial (sistema olfativo accesorio), el núcleo cortical y basomedial (sistema olfativo principal) y el núcleo lateral y basolateral (sistema cortical frontotemporal).

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 *asparatato* y *GABA*, las terminales en la amígdala incluyen sistemas colinérgicos ascendentes dopaminérgicos, adrenérgicos y serotoninérgicos (Gloor, 1997; Aggleton, 2000). Contiene la mayoría de los neuropéptidos que se han encontrado en el sistema nervioso central de los mamíferos, y además, varios grupos de neuronas amigdalinas son receptoras selectivas de hormonas esteroideas, particularmente estrógenos y *andrógenos*, así como corticoesteroides (Pfaff & Keiner, 1972, 1973; Pfaff & col, 1976). Siendo la parte anterior del núcleo medial quien tiene el número más grande de células concentradoras de estrógenos de toda la amígdala (Mascó & Carrer 1980; Stumpf & col.1975; Pfaff & Yasuo, 1979). Además, los

receptores opioides son particularmente abundantes en la amígdala y se encuentran en todos sus núcleos (Wamsley & 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 así como de recompensa y castigo (Kaada, 1972). Durante mucho tiempo se le ha considerado como un área crucial para el procesamiento emocional de la información sensorial o del medio externo (Gloor, 1972, 1997). Se ha reconocido que la única modalidad sensorial que tiene acceso directo hasta la amígdala es el olfato, ya que las otras modalidades la alcanzan de manera escalonada a través de las cortezas de asociación.

La amígdala recibe proyecciones directas desde el bulbo olfatorio, y a su vez el órgano vomeronasal proyecta hacia la amígdala medial y al núcleo cortical posterior. Un gran número de evidencia indica que tanto la amígdala medial como el bulbo olfatorio y el sistema de transmisión vomeronasal son modulados por poblaciones de neuronas sensibles a estrógenos y andrógenos, y que a su vez tales neuronas forman parte de un gran sistema que controla tanto la conducta sexual como la parental, así como algunas formas de agresión.

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 & Moss, 1993; Veening & Coleen, 1998), así como en la integración de la motivación sexual. La estimulación de la AmM induce la ovulación, y su ablación o

estimulación de la región lateral altera secuencialmente la conducta sexual pero no la inhibe (Teresawa & Timiras, 1968), sugiriendo que su participación es más relevante en aspectos integradores y/o moduladores de una conducta, más que en la ejecución de ésta. Aunque sigue siendo controvertido, varias de las regiones de la amígdala parecen contribuir diferencialmente sobre la conducta sexual. La AmM tiene densos receptores a estrógenos y su exposición a largo plazo con estradiol incrementa la tasa de disparo en sus neuronas, sugiriendo que los tratamientos hormonales pudieran sensibilizar su capacidad de respuesta ante los estímulos sensoriales específicos. Además, la AmM de la rata es un núcleo sexualmente dimorfo, el cual actúa como un tejido receptor de estrógenos. La presencia prenatal o neonatal temprana de andrógenos durante el desarrollo fetal o en el ambiente neonatal temprano induce patrones permanentes y dimorficos en las sinapsis preópticas-amígdala-hipotalámicas, así como en el tamaño nuclear y densidad dendrítica. Se ha planteado que después de la diferenciación sexual y posterior maduración, las neuronas de la AmM de la rata hembra se sensibilizan ante los cambios en su ambiente con esteroides, proceso inducido por el ciclo estral, modulando así la liberación de la hormona liberadora de gonadotropinas y prolactina mediante un circuito amígdala-hipotálamo-pituitaria (Schies & col., 1988).

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 & 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 & Sakuma, 2001). Las señales provenientes desde el nervio pélvico incrementan la actividad neural del área preóptica medial, amígdala medial y el núcleo basal de la stria terminalis sólo en las ratas en P-E 1 hora después de la conducta copulatoria (Rowe & Erskine, 1993). La amígdala medial presenta una mayor activación neural durante, y hasta por varios minutos y días después de la estimulación copulatoria; por otra parte, la estimulación eléctrica o excitotóxica de la amígdala medial da como resultado una mayor incidencia de la pseudogestación. Estos estudios indican que la amígdala medial puede responder ante los estímulos copulatorios somatosensoriales así como ejercer una influencia moduladora neuroendócrina directa sobre los pulsos de prolactina (Pfaus & col. 1996). Como lo sugieren Coleen y col. (1998) tanto en machos como en hembras, la activación neural en el BNST y la AmM, pueden estar asociados con el relevo de las señales somatosensoriales hacia el APOm durante la cópula.

La AmM en total recibe entradas desde los bulbos olfatorios accesorios y núcleos pedunculares, y esto la convierte en un sitio de convergencia para los estímulos olfativos, feromonales y la estimulación genital (Pfaus & col. 1996). Esta región puede jugar un papel muy importante en las funciones neuroendocrinas relacionadas con la gestación, y se sugiere que la AmM de la rata hembra esta involucrada en la generación de los cambios neuroendocrinos inducidos por la 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 & Heeb, 1997). La amígdala recibe proyecciones desde las áreas de asociación somatosensoriales insulares, lo cual provee una vía muy clara para que los estímulos

somatosensoriales lleguen hacia esta. Algunas evidencias en animales involucran a la amígdala en algunos aspectos del procesamiento del dolor, ya que recibe información nociceptiva a través de las proyecciones del sistema espino-parabraquial del dolor, el sistema del trigémino, la región talámica intralaminar e insula. La exposición ante estímulos aversivos de múltiples modalidades sensoriales inducen la activación de la amígdala, tales como ciertos estímulos olfativos, gustatorios, visuales y auditivos. Sensaciones no placenteras interorreceptivas como la respiración entrecortada o hipercapnia también activan a la amígdala. De hecho, la responsividad de la amígdala ante los estímulos aversivos resulta ser un reflejo común y multimodal de la codificación amígdalina. Estímulos neutrales que previamente se asocian con consecuencias aversivas, ya sea por condicionamiento o por instrucciones explícitas, también la activan (Zald, 2002).

Algunos estudios en animales no humanos han llegado a especular acerca del papel que pueda jugar la amígdala durante la experiencia de estímulos con aspectos apetitivos así como en emociones positivas. Se ha propuesto que la amígdala participa en el condicionamiento clásico de segundo orden ante estímulos recompensantes, y se le ha involucrado en las adicciones y en la estimulación recompensante. Quizás el papel más claro de la amígdala en las emociones positivas radica en el contexto de la memoria ante eventos y estímulos positivos y recompensantes. En general, parece ser que está involucrada tanto en el proceso de alertamiento emocional así como en la subsecuente potenciación de la memoria (Hamann & col. 2002). Estas observaciones, además de sus conocidas conexiones neuroanatómicas con diversas áreas corticales y subcorticales, sugieren que la amígdala puede servir como una interfase externa e interna de la información sensorial dentro de los sistemas motivacionales del cerebro (Rolls, 1999).

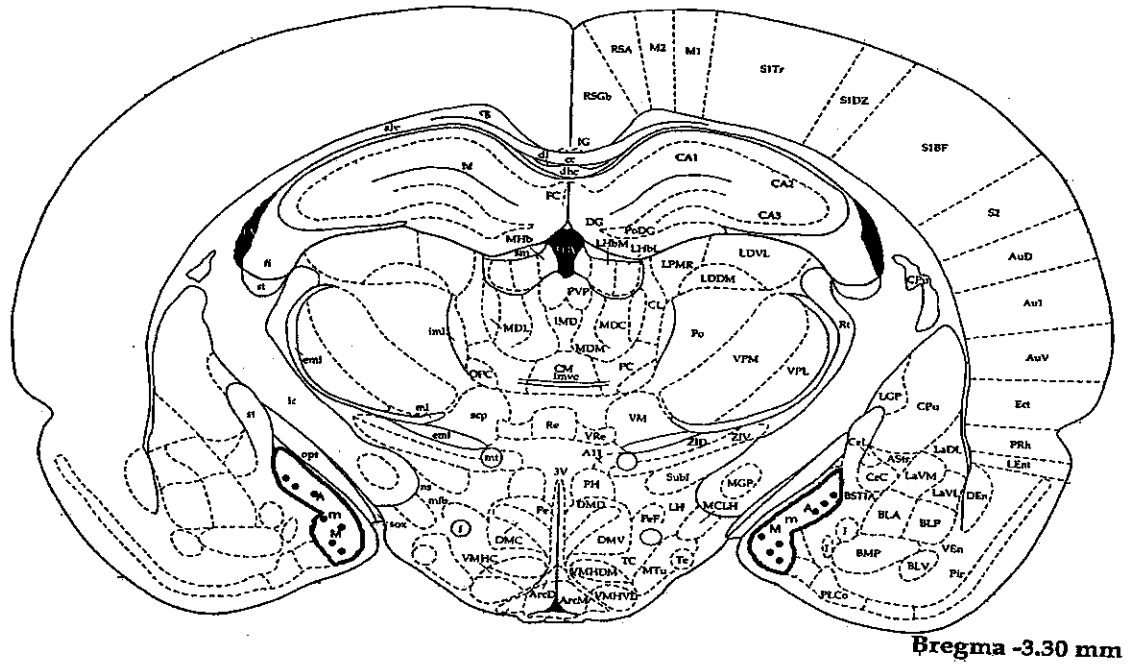


Fig. 1. Amígdala medial izquierda y derecha de la rata hembra, y sitio de implante de los electrodos (imagen modificada del atlas de Paxinos y Watson, 1997).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La estimulación vaginocervical (EVC) copulatoria es un factor crítico en la reproducción y constituye una de las fuentes más importantes de estimulación sensorial que inducen cambios endocrinos, neurales y conductuales a corto y largo plazo. Se ha descrito que la EVC ejerce un efecto dual sobre la conducta sexual femenina, y que dicho efecto es dependiente de la cantidad y patrón de EVC recibida. Diversos trabajos han reportado que la funcionalidad de la AmM es sensible a la cantidad de estímulos vaginocervicales que recibe la rata hembra durante la interacción sexual. Las señales neurales generadas por cada intromisión del macho son retenidas y sumadas a lo largo de la cópula, de modo que la receptividad y el grado de lordosis de la rata hembra disminuyen drásticamente ante periodos prolongados de estimulación. Por lo anterior se ha propuesto que la EVC puede tener cualidades placenteras así como aversivas en relación al tiempo y cantidad de estimulación vaginocervical. Por ejemplo, se ha reportado que bajo condiciones no controladas durante la conducta sexual un número pequeño de intromisiones es insuficiente para terminar el estro conductual o inducir la pseudogestación, y que solo después de 25 intromisiones o de una sesión copulatoria *ad libitum* de 40 min finaliza el estro conductual. Hay reportes de que la EVC artificial induce un EEG cortical (afterreaction), similar al del sueño en las ratas, conejos y gatos; únicamente en la fase de Proestro-Estro, caracterizándose el EEG por la presencia de una alta proporción de frecuencias lentas, así como en una disminución de la tasa de disparo de neuronas talámicas y corticales, hasta por 20 o 60 min sólo después de 30 seg de EVC artificial. A su vez, únicamente en las ratas en Proestro-Estro (P-E) aumenta la tasa de disparo de células del bulbo olfatorio después de 15

min de EVC artificial continua. En un estudio realizado en nuestro laboratorio, observamos una actividad EEG basal diferencial en la CPF y en la AmM en relación al ciclo estral de la rata (P-E vs Diestro) y durante la EVC artificial (1 min); encontrándose que sólo las ratas en P-E durante la EVC artificial presentaron una mayor proporción de frecuencias rápidas en la AmM respecto al estado basal y ante la EVC, poniendo de manifiesto los resultados que la funcionalidad de la AmM durante la EVC artificial varía en relación al ciclo estral y al tiempo de estimulación.

En numerosos estudios esta bien descrito que la amígdala medial presenta una mayor activación neural durante, y hasta por varios minutos y días después de la estimulación copulatoria (ej., intromisiones, EVC artificial), y que participa directamente en la cuantificación temporal y en el procesamiento de las señales aferentes recibidas durante la conducta sexual. Por lo anterior, es probable que la funcionalidad electroencefalográfica de esta estructura presente cambios en respuesta a diferentes cantidades de EVC durante la copula.

OBJETIVO GENERAL

Determinar si la funcionalidad eléctrica de la AmM de la rata en P-E presenta cambios en relación a una estimulación vaginocervical copulatoria moderada o intensa.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Caracterizar la actividad EEG de la AmM de la rata en P-E durante la hora inmediata después de una estimulación vaginocervical copulatoria moderada con un máximo de 5 intromisiones asociadas con conductas de aceptación copulatoria de la rata hembra.
2. Caracterizar la actividad EEG de la AmM de la rata en P-E durante la hora inmediata después de una estimulación vaginocervical copulatoria intensa con un máximo de 25 intromisiones asociadas con conductas de rechazo indicadoras de la terminación del estro conductual.

HIPÓTESIS

La actividad eléctrica de la amígdala medial de la rata en Proestro-Estro presentará una mayor proporción de frecuencias rápidas después de una estimulación vaginocervical copulatoria intensa (25 intromisiones) respecto a una estimulación vaginocervical copulatoria moderada (5 intromisiones).

MATERIALES Y MÉTODO

Animales

Se utilizaron 14 ratas hembra vírgenes de la cepa Wistar con un peso de 250-300 gr, con un ciclo estral regular de 4 días. También se utilizaron ratas macho Wistar de 250-300 gr, sexualmente expertos (es decir, que en pruebas anteriores hayan copulado hasta 3 veces) para las pruebas de interacción sexual. Todos los animales fueron mantenidos bajo un ciclo invertido de luz-oscuridad (12h luz y 12h oscuridad) a temperatura ambiente, agua y comida *ad libitum*.

Para el implante de electrodos las ratas hembra fueron anestesiadas con pentobarbital sódico (35 mg/Kg, intraperitoneal), e implantadas bilateralmente y a permanencia 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 estereotáxicas del atlas de Paxinos y Watson (1997). Los electrodos utilizados se elaboraron con alambre de acero inoxidable (200 µm de diámetro) aislado en toda su longitud, a excepción de la punta, la cual estuvo descubierta de la superficie en su sección transversal. Se colocaron además dos tornillos de acero inoxidable, uno en la parte más anterior del cráneo que sirvió 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 fijo al cráneo con cemento dental. Cada rata implantada fue mantenida en el Bioterio del Instituto de Neurociencias (CUCBA, UdG), en una caja individual de acrílico transparente (15 x 15 x 30) con una cama de aserrín durante todo el experimento.

Registros conductuales y electroencefalográficos

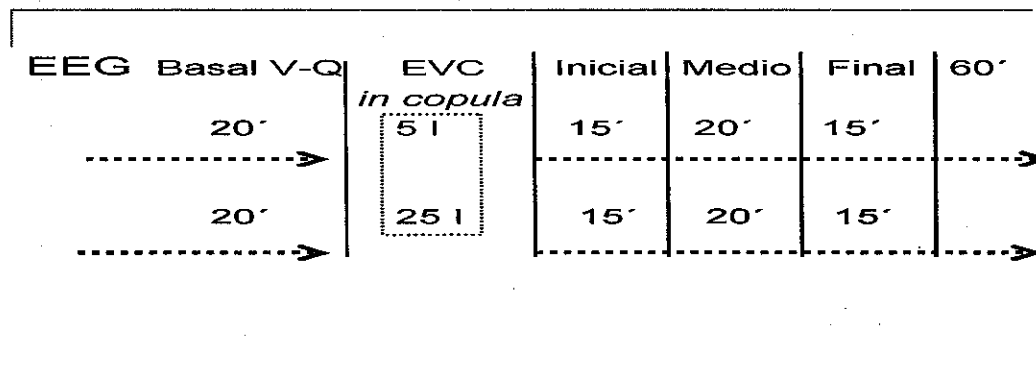
Los registros fueron llevados a cabo en un cuarto sonoamortiguado, semioscuro y a temperatura ambiente. Durante los registros electroencefalográficos las salidas de todos los electrodos fueron conectadas a los dispositivos de entrada del polígrafo (Grass 7B), conectado a su vez a una computadora. Los filtros del polígrafo se colocaron entre 1-30 Hz y se capturaron las señales a una frecuencia de muestreo de 1024 Hz. Las señales EEG una vez amplificadas y filtradas, pasaron a un convertidor analógico digital que funciona como interfase hacia la computadora, en la cual se tienen programas computacionales elaborados *ex-profeso* para la captura simultánea del EEG de la amígdala derecha e izquierda. La captura en línea de las señales EEG se efectuaron mediante un programa llamado Captusen (Guevara y col. 1999), en el que se capturaron a voluntad segmentos de EEG. Para todos los registros electroencefalográficos cada rata hembra fue mantenida en su caja habitación individual, la cual a su vez fue colocada en el interior de una caja de alambre faradizada (50 x 50 x 50 cm) para impedir la contaminación de la señal EEG con el ruido de la corriente eléctrica.

Después de un periodo de recuperación postquirúrgico (8-10 días) y de 2 a 3 días antes del experimento, las ratas fueron llevadas al cuarto de registro y se conectaron al polígrafo para su adaptación durante 20-30 min días antes del experimento. El día de registro (conductual y electroencefalográfico) se efectuó solo durante la fase de Proestro-Estro (P-E) de las ratas hembra, realizándose entre las 14 y las 17 hr. Dicha fase fue determinada mediante la palpación de los flancos traseros y ante la exposición de un macho sexualmente experto para observar la ejecución de las conductas de proceptividad y receptividad. Los registros EEG se efectuaron sólo durante la fase de P-E por dos razones:

1) Se requería que las hembras estuvieran receptivas para que aceptaran la interacción sexual y 2) por que se ha demostrado que la sensibilidad de varias estructuras cerebrales (como la amígdala, la corteza prefrontal, el bulbo olfatorio e hipotálamo, entre otras) es mayor en esta fase estral (Guevara-Guzmán y cols., 1997; Blake y Sawyer, 1972; Hernández-González y cols., 2004). Se evitó tomar frotis vaginal el día del registro EEG ya que se ha demostrado que esta estimulación vaginocervical (EVC) artificial afecta la actividad eléctrica cerebral.

El primer registro electroencefalográfico se realizó antes de la estimulación vaginocervical (EVC) copulatoria, en un estado basal de vigilia quieto y se capturaron aproximadamente de 5 a 10 min de EEG. Inmediatamente después se procedió a realizar los registros de EVC. Para ello, las hembras fueron colocadas en la caja de conducta sexual, donde estaba un macho sexualmente experto, y se procedió a evaluar la conducta sexual *ad limitum* con el número límite de intromisiones correspondiente para cada grupo. Un grupo de hembras estuvo bajo un diseño de EVC moderado asociado con conductas de aceptación dirigidas al macho y que incluyó un máximo de 5 intromisiones (5 I). El segundo grupo de hembras estuvo bajo un diseño de EVC intenso asociado con la presencia de conductas de rechazo de la hembra, dicha estimulación incluyó un máximo de 25 intromisiones (25 I). La conducta de rechazo típica es un enfrentamiento de la hembra hacia el macho cuando éste intenta montarla, alejándolo con sus patas delanteras (boxeo) o pateándole la cara con las patas traseras; conductas acompañadas por chillidos evidentes e incluso peleas. En este experimento, cuando un macho eyaculó, éste fue sustituido inmediatamente por otro macho para completar el número de intromisiones requerido en ambos grupos. En el grupo de 25 I, se contabilizaron también aquellas montas que ocurrieron sin intromisiones, y las eyaculaciones que ocurrieron antes de alcanzar el número de intromisiones requerido.

Inmediatamente después de que la hembra recibió el número necesario de intromisiones se volvió a colocar en la caja de registro electroencefalográfico, se conectó al polígrafo y se registró el EEG amigdalino durante los 60 min posteriores a la EVC copulatoria, específicamente durante la conducta de vigilia-quieto. Dicha captura fue dividida en tres bloques de tiempos de registro: 15 min iniciales post-EVC copulatoria; 20-40 min intermedios y 45-60 min finales post-EVC copulatoria.



Análisis histológico

La localización de la punta de electrodos en las estructuras cerebrales de interés se verificó de la siguiente manera. Se administró una dosis letal de pentobarbital inmediatamente después de la EVC copulatoria, para que los cerebros fueran perfundidos por vía intracardiaca con una solución de formalina al 10%. Veinticuatro horas más tarde se extrajeron los cerebros y permanecieron al menos por 40h en la misma solución. Posteriormente se incluyeron en parafina y se hicieron los cortes coronales de 25 µm de grosor en un microtomo. Los cortes se colocaron en portaobjetos y fueron teñidos con violeta de cresílo para la obtención de fotografías amplificadas. Se utilizaron un total de 14 animales, ya que se descartaron aquellos sujetos que perdieron el implante o al verificar la ubicación no estaban las puntas de los electrodos en la posición correcta. En la mayoría de

los casos, la ubicación de la punta de los electrodos fue simétrica. En la AmM izquierda y derecha los electrodos estuvieron localizados entre 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.

Análisis EEG

Sólo se incluyó en el análisis la actividad EEG de aquellas ratas cuyos segmentos de EEG no 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 4-25 Hz de modo que se obtuvo la potencia absoluta (PA) y la potencia relativa (PR) de las bandas de theta 1 (4-8 Hz, T1), theta 2 (9-12 Hz, T2) y frecuencias rápidas (13-25 Hz, RA). Se calculó también la correlación interamigdalina mediante el coeficiente de correlación producto-momento de Pearson. Para fines estadísticos, los valores EEG del periodo basal fueron restados a los valores EEG posteriores a la EVC copulatoria, es decir, a los segmentos iniciales, medios y finales post -EVC. Se compararon los valores de PR y correlación de cada una de las tres bandas entre condiciones de un mismo grupo y entre las condiciones de ambos grupos (Grupos correlacionados de diseño mixto).

Análisis estadístico

El análisis estadístico fue limitado a las bandas de entre 4-25 Hz, ya que es probable que las frecuencias bajas estuvieran contaminadas por artefactos. Para determinar las diferencias entre condiciones, los valores de PR de las diferentes bandas fueron sometidos a un ANOVA de dos factores para medidas repetidas. Para determinar las diferencias entre pares de medias, se utilizó la prueba t de Tukey, y las diferencias se consideraron significativas cuando se alcanzó un valor de $p < 0.05$.

RESULTADOS

Resultados conductuales

Todos los sujetos implantados a permanencia en la amígdala medial izquierda y derecha mostraron una conducta sexual normal. Las 7 hembras que constituyeron el grupo de 5 I, mostraron conductas características de proceptividad (orejeos, carreras, saltos) y receptividad (lordosis). Dichas conductas fueron muy evidentes desde el momento en que se colocaron con el macho así como durante todo el tiempo de la interacción copulatoria hasta completar las 5 I. Por otro lado, las hembras que constituyeron el grupo de 25 I, aún cuando mostraron evidentes conductas de receptividad y proceptividad al inicio de la interacción sexual, fue muy claro que después de aproximadamente 9 a 12 intromisiones, las hembras empezaron a mostrar conductas de rechazo, tales como un aumento en el número de chillidos y conductas de enfrentamiento al macho, las cuales consistieron en patadas y boxeo conforme se continuó con la interacción sexual. En la tabla 1 se muestra el número de respuestas copulatorias que recibieron las hembras de cada grupo.

Grupo 5 I	M	I	E	I rechazo
	4 ± 2.1	5	-	-
Grupo 25 I	14 ± 2.02	25	2.1 ± 0.3	10.1 ± 1.3

Tabla 1: Media ± error estándar del número de montas (M), Intromisiones (I) y eyaculaciones (E) durante la interacción copulatoria en el grupo 5 I y 25 I. Las I rechazo es el número promedio de la intromisión a partir de la cual los sujetos del grupo 25 I empezaron a mostrar conductas de rechazo.

Resultados electroencefalográficos

Amígdala medial izquierda

En los sujetos del grupo 5 I, se encontró que en los periodos intermedios (20-40 min) y finales (45-60 min) después de la EVC copulatoria la PR de T1 aumentó significativamente respecto al periodo inicial (0-15 min) del registro EEG [$p(F_{AB}= 72.44) \leq 0.00001$]. En los sujetos del grupo de 25 I la PR de esta banda aumentó significativamente durante los 45-60 min finales respecto a los 15 min iniciales y a los 20-40 min intermedios después de la EVC copulatoria [$p(F_{AB}= 72.44) \leq 0.00001$].

La PR de la banda de T2, en los sujetos del grupo de 5 I presentó un aumento significativo en los periodos de 20-40 min y 45-60 min después de la EVC copulatoria respecto a los 15 min iniciales del registro EEG [$p(F_{AB} = 12.90) = 0.00031$], mientras que en el grupo de 25 I la PR de la banda de T2 [$p(F_{AB} = 12.90) \leq 0.00031$], en los 45-60 min finales aumentó significativamente respecto a los 20-40 min intermedios y 15 min iniciales del registro EEG después la EVC copulatoria.

La PR de la banda de frecuencias rápida (RA) en los sujetos del grupo de 5 I [$p(F_{AB}= 13.24) = 0.00028$] presentó un aumento significativo durante los 20-40 min intermedios y los 45-60 min finales respecto a los 15 min iniciales del registro EEG después de la EVC copulatoria. Similarmente, en los sujetos del grupo de 25 I la PR de la banda de RA [$p(F_{AB}= 13.24) = 0.00028$] presentó un aumento significativo durante los 45-60 min finales respecto a los 15 min iniciales y los 20-40 min intermedios del registro EEG después de la EVC copulatoria (**Fig.2**).

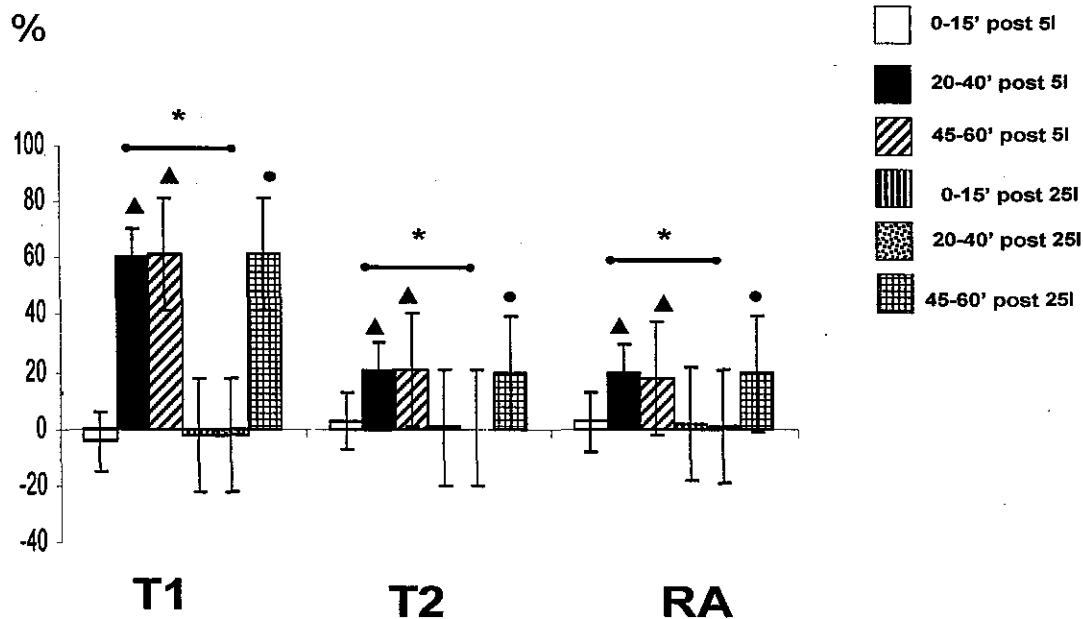


Figura 2.- Media \pm error estándar (n=14) de la PR de las tres bandas de frecuencia en la amígdala medial izquierda de ratas en P-E pertenecientes a los grupos 5 I y 25 I.

▲ $p \leq 0.00001$ Significativamente mayor que 15 min iniciales 5 I

● $p \leq 0.00001$ Significativamente mayor que 15 min iniciales y 45-60 min finales 25 I

* $p \leq 0.00001$ 20-40 min intermedios 5 I significativamente mayor que 20-40 min intermedios 25 I

Amígdala medial derecha

En el grupo con 5 I para la banda T1 [$p(F_{AB=58.24}) \leq 0.00001$], se encontró que en los periodos 20-40 min y 45-60 min después de la EVC copulatoria la PR de esta banda de frecuencias lentas aumentó respecto a los 15 min iniciales del registro EEG. En el grupo de 25 I la PR de T1 [$p(F_{AB=58.24}) = 0.00001$] aumentó durante los 45-60 min finales respecto a los 15 min iniciales y a los 20-40 min intermedios después de la EVC copulatoria.

La PR de la banda T2 en el grupo de 5 I [$p(F_{AB=13.59}) = 0.00025$], presentó un aumento durante los periodos de 20-40 min y 45-60 min después de la EVC copulatoria respecto a los 15 min iniciales del registro EEG. Mientras que en el grupo de 25 I la PR de

esta misma banda [$p(F_{AB}= 13.59) = 0.00025$] aumentó en los 45-60 min finales respecto a los 20-40 min intermedios y 15 min iniciales del registro EEG después la EVC copulatoria.

En las hembras que recibieron 5 I, la PR de la banda de 13-25 Hz ($p(F_{AB}= 18.48) = 0.00006$) presentó un aumento durante los 20-40 min intermedios y los 45-60 min finales respecto a los 15 min iniciales del registro EEG después de la EVC copulatoria. Finalmente, en los sujetos de 25 I la PR de la banda RA ($p(F_{AB}= 18.48) = 0.00006$) presentó un aumento durante los 45-60 min finales respecto a los 15 min iniciales y los 20-40 min intermedios del registro EEG después de la EVC copulatoria (**Fig.3**).

Al comparar los grupos, se encontró tanto en la amígdala izquierda como en la derecha, durante el periodo intermedio (20-40 min) la PR de las tres bandas EEG del grupo de 5 I presentó un aumento significativo respecto al periodo intermedio del grupo de 25 I (**Figs. 2 y 3**).

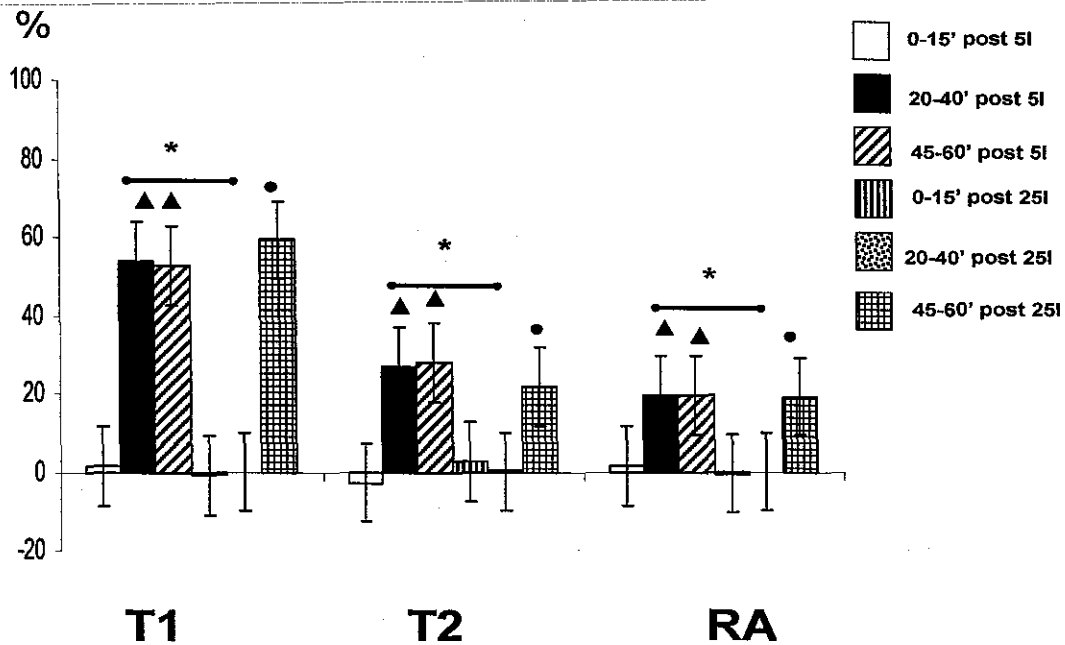


Figura 3.- Media \pm error estándar (n=14) de la PR de las tres bandas de frecuencia en la amígdala medial derecha de ratas en P-E pertenecientes a los grupos 5 I y 25 I.

▲ $p \leq 0.00001$ Significativamente mayor que 15 min iniciales 5 I

● $p \leq 0.00001$ Significativamente mayor que 15 min iniciales y 45-60 min finales 25 I

* $p \leq 0.00001$ 20-40 min intermedios 5 I significativamente mayor que 20-40 min intermedios 25 I.

Correlación interamigdalina

Los sujetos del grupo de 5 I presentaron una mayor correlación interamigdalina de T1 ($p(F_{AB=4.96}) = 0.01552$) durante los 20-40 min intermedios y los 45-60 min finales respecto a los 15 min iniciales del registro EEG después de la EVC copulatoria. En el grupo de 25 I, la correlación interamigdalina de estas frecuencias lentas también presentó un aumento ($p(F_{AB=4.96}) = 0.01552$) durante los 45-60 min finales respecto a los 15 min iniciales y 20-40 min intermedios del registro EEG después de la EVC copulatoria.

La banda de T2 en el grupo de 5 I presentaron una mayor correlación interamigdalina durante los 20-40 min intermedios y los 45-60 min finales [$p(F_{AB=5.58}) = 0.015529$] respecto a los 15 min iniciales. En el grupo de 25 I la correlación

interamigdalina de la banda de T2 ($p(F_{AB=5.58}) = 0.01552$) durante los 45-60 min finales presentó una mayor correlación respecto a los 15 min iniciales y los 20-40 min intermedios del registro EEG después de la EVC copulatoria.

Finalmente, la correlación interamigdalina de la banda 13-25 Hz presentó una mayor correlación durante los 20-40 min intermedios y los 45-60 min finales respecto a los 15 min iniciales ($p(F_{AB=6.49}) = 0.00581$) en los sujetos del grupo de 5 I, mientras que en el grupo de 25 I. la correlación interamigdalina de las frecuencias rápidas presentó una mayor correlación durante los 15 min finales respecto a los 15 min iniciales y los 20-40 min intermedios del registro EEG después de la EVC copulatoria [$p(F_{AB=6.49}) = 0.00581$] (Fig.4).

Al igual que en el caso de la PR, al comparar los grupos se encontró que durante el periodo intermedio (20-40 min) la correlación interamigdalina de las tres bandas EEG del grupo de 5 I presentó un aumento significativo respecto al periodo intermedio del grupo de 25 I (Fig.4).

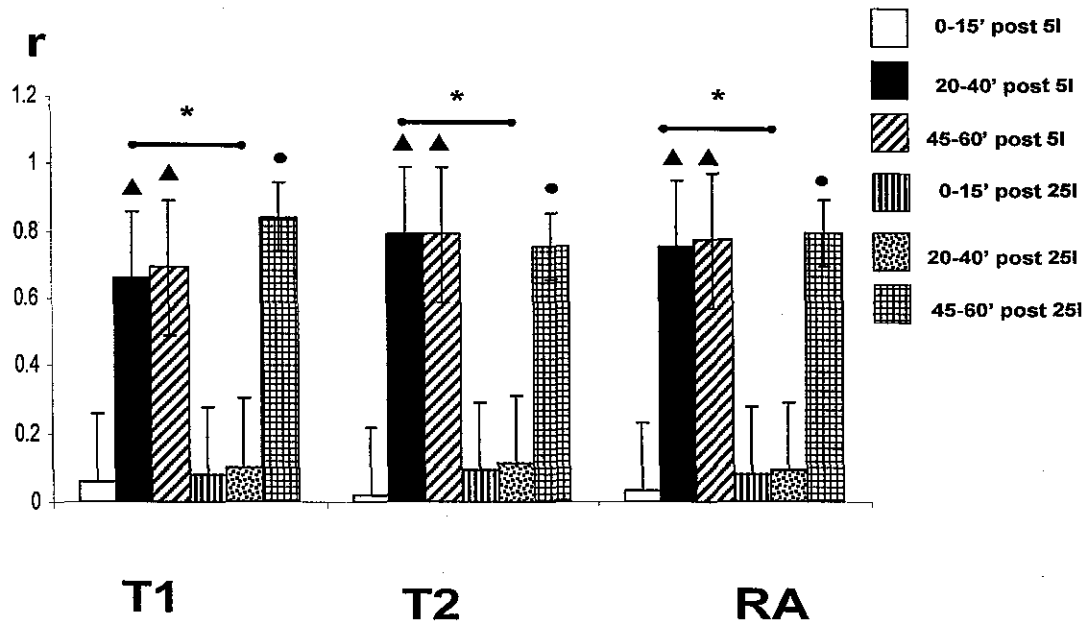


Figura 4.- Media \pm error estándar (n=14) de la correlación interamigdalina de las tres bandas de frecuencia de ratas en P-E pertenecientes a los grupos 5 I y 25 I.

▲ $p \leq 0.00001$ Significativamente mayor que 15 min iniciales 5 I

● $p \leq 0.00001$ Significativamente mayor que 15 min iniciales y 45-60 min finales 25 I

* $p \leq 0.00001$ 20-40 min intermedios 5 I significativamente mayor que 20-40 min intermedios 25 I

DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio coinciden con los datos de otros trabajos en los que se reporta que la funcionalidad de la amígdala medial es sensible a la cantidad de estímulos vaginocervicales copulatorios que recibe la rata hembra durante la interacción sexual.

En este trabajo experimental, las hembras que recibieron tan solo 5 intromisiones mostraron evidentes conductas receptivas y proceptivas durante toda la interacción copulatoria, mientras que las hembras que recibieron 25 intromisiones mostraron claras conductas de rechazo desde la intromisión número 10-12 aproximadamente. Este resultado conductual coincide con el de otros estudios, en los cuales se ha descrito que la EVC ejerce un efecto dual sobre la conducta sexual femenina, y que dicho efecto es dependiente de la cantidad y patrón de EVC recibida (Rodríguez-Sierra & cols., 1975). Las influencias inhibitorias producto de la continua ejecución de la conducta sexual han sido reportadas en diversos estudios, por ejemplo, se ha reportado un decremento en la ejecución de la lordosis debido a las continuas montas del macho en un periodo breve de tiempo o cuando la estimulación producto de las montas es acompañada por intensa estimulación vaginocervical. Hardy y DeBold (1972) han reportado que cuando la estimulación producto de las montas es acompañada de intromisiones y eyaculaciones en repetidas ocasiones, las montas del macho resultan en un incremento en la ejecución de las conductas de rechazo y disminución de la lordosis. En contraste, el que haya pocas intromisiones tiene un efecto facilitador en la ejecución de la lordosis. Coopersmith & cols. (1996) estudiaron los efectos de diferentes duraciones e intensidades de la EVC sobre la conducta sexual, y la posterior duración del ciclo estral de las ratas hembra. Ellos encontraron que las hembras con ciclo estral normal, durante la fase de P-E, y que pudieron o no autorregular la interacción

copulatoria con machos sexualmente expertos hasta 30 intromisiones, durante las primeras 15 intromisiones reguladas o no autorreguladas, siguieron mostrando normalmente la respuesta de lordosis y de aceptación del macho; en tanto que durante las 15 intromisiones posteriores se observaron decrementos drásticos en la respuesta sexual, manifestados por mayores intervalos interintromisión y presencia de evidentes conductas de rechazo (boxeo, patadas, chillidos), además de ausencia de lordosis. En este experimento, se encontró que las ratas del grupo 25 I comenzaron a mostrar las conductas de rechazo desde la intromisión número 10 o 12, es decir, más temprano que las ratas del experimento de Coopersmith. Esta diferencia pudiera deberse a que utilizaron diferente cepa o bien a pequeñas diferencias metodológicas; no obstante, nuestros resultados coinciden en que efectivamente, después de un gran número de intromisiones, la rata muestra conductas de rechazo.

Se ha demostrado que la frecuencia y patrón de intromisiones que recibe la hembra durante la cópula es crítica y determinante, constituyendo una de las fuentes más importantes de estimulación sensorial que inducen cambios endocrinos, neurales y conductuales a corto y largo plazo. Se ha propuesto que las estructuras amigdalinas juegan un papel importante en la modulación e integración sensorial de la conducta sexual en la rata hembra (Erskine 1993; Rajendren & Moss 1993; Veening & Coleen, 1998), así como en la integración de la motivación sexual; su importante papel en las funciones neuroendocrinas relacionadas con la gestación también ha sido estudiado y se ha mostrado que la AmM participa en la generación de los cambios neuroendocrinos inducidos por la EVC asociados a la pseudogestación (Pfaus & Heeb, 1997).

En este trabajo, encontramos claras diferencias en el EEG amigdalino en relación al número de intromisiones recibidas por la hembra en P-E durante su interacción copulatoria con un macho. Un patrón EEG característico de la amígdala medial fue obtenido en las

ratas que recibieron 5 I. Específicamente, se encontró una mayor PR de las tres bandas de frecuencia sólo durante los periodos intermedios y finales post-EVC copulatoria, es decir, a partir de los 20 min post-EVC copulatoria. La gran proporción de frecuencias en los rangos de 4-8, 9-12 y 13-25 Hz específicamente en periodos intermedios y finales de la post-EVC en el grupo de 5 I pudiera estar asociada con los aspectos apetitivos y motivacionales de la conducta sexual, indicados por la gran prevalencia de conductas receptivas y proceptivas que fueron manifestadas por la hembra durante la interacción copulatoria. Así, es probable que la mayor activación de la amígdala medial a partir de los 20 min Post-EVC, represente el estado motivacional relacionado con la fase apetitiva de la conducta sexual. Existen datos que apoyan esta sugerencia, por ejemplo, se ha sugerido que las señales neurales generadas por cada intromisión del macho son retenidas y sumadas a lo largo de la cópula, de modo que la receptividad y el grado de lordosis de la rata hembra varían dependiendo del grado de EVC. La receptividad de la rata hembra se incrementa con montas con pocas intromisiones o cuando a la hembra se le permite tener sólo 2-3 intromisiones (Hardí & DeBold, 1973). Así pues, podríamos sugerir que este patrón EEG de la amígdala (mayor PR de las frecuencias amigdalinas desde los 20 minutos post-EVC) pudiera estar relacionado con el efecto facilitador de la actividad sexual.

La banda de 4-12 Hz corresponde al ritmo denominado theta hipocámpico, descrito por Vanderwolf (1988). Dicha banda se ha relacionado con una gran variedad de conductas, principalmente con la inmovilidad durante estados de alertamiento o atención del animal, así como en la ejecución de conductas voluntarias, tales como caminar, correr, nadar, etc. Por otra parte, se ha observado una correlación funcional muy evidente entre la actividad del hipocampo como generador del ritmo theta y de ciertas conductas cuando se hace énfasis en los aspectos apetitivos vs consumatorios de las conductas motivadas. Es decir, se

ha encontrado que estas frecuencias lentas prevalecen sobre todo en relación a las conductas apetitivas, provocándose una desincronización y alentamiento de la actividad hipocampal. Varios estudios han mostrado que durante la ocurrencia de estados placenteros asociados a conductas motivadas, tales como la ingesta de leche en gatos, lactancia en mujeres y ratas, o durante el olfateo de material de nido en ratas lactantes, ocurre una prevalencia cortical de frecuencias rítmicas de 8-12 Hz; por lo que se ha sugerido que tal ritmo theta puede considerarse como un buen correlato electrofisiológico de las conductas apetitivas.

Por otro lado, la prevalencia de frecuencias rápidas se ha considerado como indicadora de una mayor activación neuronal, asociadas con estados de alerta y ansiedad. Numerosos estudios han descrito una actividad rápida e irregular de bajo voltaje (de 12 hasta los 40 Hz) en la corteza bajo diversas situaciones conductuales de alerta o como respuesta ante estímulos sensoriales óptimos en animales y humanos. Así, el hecho de que la AmM muestre una mayor proporción de las tres bandas de frecuencia a partir de los 20 min post-EVC pudiera representar 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 o en la prevalencia o continuación de la receptividad de la rata. Otra de las posibles explicaciones para la activación amigdalina es que pudiera reflejar el procesamiento emocional y/o motivacional de tal estimulación sexual, como ha sido mostrado en otros estudios (Kondo & Sakuma, 2001). Trabajos con modelos tales como los de preferencia de pareja y de lesión de la amígdala, muestran que su lesión origina respuestas emocionales disfuncionales, eliminando la capacidad de la hembra de discriminar entre dos machos, o incluso permitiendo montas del macho estando en la fase de anestro, resultados que en su

conjunto han llevado a sugerir que la AmM esta involucrada en la regulación emocional de la conducta sexual (Kondo, Y. & Sakuma, Y., 2001).

Se ha mostrado también que tan sólo 5 intromisiones son suficientes para la inducción del cuerpo lúteo, evento que explicaría en mucho los procesos de pseudogestación que frecuentemente ocurren como respuesta a la EVC, en tanto que un mínimo de 10 intromisiones son requeridas para la terminación del estro conductual (Coopersmith & cols., 1996).

En las ratas del grupo con 25 I, por otro lado, la funcionalidad amigdalina se caracterizó por presentar también una mayor PR de las tres bandas, pero sólo durante el periodo final de la post-EVC copulatoria, es decir, la AmM únicamente presentó cambios electroencefalográficos significativos a partir de los 45-60 min siendo muy evidente la baja PR de las tres bandas en los periodos iniciales e intermedios.

El tratar de interpretar estos datos resulta bastante complicado, sin embargo, trataremos de hacer una correlación del despliegue conductual de la rata con la actividad EGG inmediata posterior a la EVC copulatoria. A todas las ratas del grupo de 5 I, les fue interrumpida la secuencia sexual sin que recibieran ninguna eyaculación por parte del macho, por tanto, es bastante probable que durante el registro EEG posterior, estas hembras aún mantuvieran una alta motivación o arousal sexual, como ha sido observado en varios registros realizados en nuestro laboratorio. El hecho de que la AmM en el grupo 5 I presente una mayor proporción de las tres bandas de frecuencia desde los 20 min post-EVC podría estar representado este mayor estado de motivación sexual.

En contraste, en el grupo de ratas que recibieron 25 I, todas recibieron al menos una eyaculación, y como se mencionó en los resultados, desde la intromisión número 10 en promedio, empezaron a mostrar evidentes conductas de rechazo, patadas, boxeo y

conductas de enfrentamiento al macho, tal como fue descrito por Pfaus & col. (2000). En nuestro experimento, esta conducta de evidente ansiedad se mantuvo durante el registro EEG, manifestando chillidos y forcejeo durante la manipulación al conectarlas. Por tanto, el hecho de que la mayor proporción de frecuencias EEG se observe hasta después de los 45 minutos post-EVC nos resulta bastante sorprendente, ya que esperábamos una mayor actividad amigdalina, sobre todo de frecuencias rápidas, durante toda la hora posterior a las 25 I, reflejando el grado de mayor ansiedad. No obstante, es probable que esta activación más tardía posterior a la EVC copulatoria de 25 I pudiera asociarse con el procesamiento de la información somatosensorial proveniente desde las regiones perineales, de la vagina y del cervix, como ha sido mostrado por Rowe & Erskine (1993). Tales autores han descrito una mayor activación c-fos en el área preóptica medial y en la AmM en respuesta a la estimulación cervical inducida por 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. Es probable entonces que la menor proporción de frecuencias durante los primeros 45 minutos inmediatos posteriores a las 25 I se asocien con un estado de "saturación sensorial", resultante de la sobre estimulación genital, la cual podría reflejarse en las conductas de ansiedad, rechazo y por tanto, desmotivación sexual. Asimismo, el hecho de que la proporción de frecuencias comience a incrementarse del minuto 45 en adelante podría representar tal vez "la recuperación paulatina" a un estado de relajación. Otra posible

explicación ante esta disminución temprana de la PR de las diferentes frecuencias EEG amigdalinas, es que pudieran estar asociadas con un evento nociceptivo o doloroso resultante de sobreestimulación vaginocervical. Estudios de imagenología funcional han demostrado a su vez que diversas estructuras cerebrales aumentan su actividad ante los estímulos nociceptivos, y la amígdala ha mostrado decrementos en su funcionalidad después de los estímulos dolorosos (Derbyshire, S.W. & cols. 1997).

No obstante, existen también reportes de que la EVC artificial en las ratas eleva los umbrales al dolor, produciendo analgesia en una gran variedad de pruebas. A pesar de que la analgesia producto de la EVC artificial es un fenómeno grueso, la magnitud de la analgesia disminuye con repetidas y prolongadas estimulaciones. La EVC provoca la liberación de glutamato y aspartato; y los efectos analgésicos son mediados por los sistemas monoaminérgicos, opiáceos y peptidérgicos. Sin embargo, el hecho de que la EVC provoque efectos antinociceptivos más que nociceptivos, indican que la liberación de neurotransmisores inhibitorios inhiben la acción de los neurotransmisores excitatorios. Los cambios en el balance de los neurotransmisores excitatorios e inhibitorios liberados ante la repetida EVC podrían cambiar gradualmente los efectos de analgésicos a algia bajo las condiciones de una prolongada EVC (Caba M., y cols. 1998). Así pues, no sería raro pensar que esta baja proporción de frecuencias EEG amigdalinas después de la sobreestimulación vaginocervical se asociará con un efecto nociceptivo o doloroso asociado a dicha cantidad de estimulación.

Estos cambios electroencefalográficos presentados en la amígdala ante distintas cantidades de EVC copulatorios así como a lo largo de la hora inmediata después de dicha estimulación, pueden estar reflejando el papel modulador que la amígdala ejerce sobre las diversas estructuras relacionadas con la conducta reproductiva. El hecho de que se

presenten cambios característicos en la AmM después de distintas cantidades de EVC pudieran reflejar los distintos procesos relacionados con la terminación del estro en el caso del grupo de 25 I, y por otra parte, la inducción del cuerpo lúteo e inicio de la pseudogestación/gestación para el grupo de 5 I.

Al realizar un análisis entre grupos, encontramos diferencias significativas en las tres bandas de frecuencia al comparar la PR de las tres bandas correspondientes al periodo intermedio (20-40 min) del grupo 5 I respecto al periodo intermedio del grupo 25 I. La PR de las tres bandas fue significativamente mayor en la amígdala medial de las ratas del grupo de 5 I respecto al grupo de 25 I. El hecho de que sólo los periodos intermedios post-EVC copulatoria presentaran diferencia significativa en la proporción de frecuencias entre grupos resulta muy interesante; es probable que sea específicamente este periodo el tiempo límite al cual, en el caso del grupo 5 I es evidente la facilitación sexual (mayor motivación sexual, reflejada por facilitación de conductas preceptivas y receptoras) en tanto que en el grupo 25 es evidente el rechazo sexual.

Esta diferencia significativa entre periodos intermedios post-EVC copulatoria también se hizo evidente al comparar la correlación inter-amigdalina. Se encontró una alta correlación para las tres bandas de frecuencia en el grupo de 5 I respecto a la del grupo de 25 I. Se ha considerado que una actividad neuronal compartida por dos áreas corticales, ya sea por información aferente similar, procesamiento semejante de la información o un alto grado de conectividad entre ellas, se reflejaría en una actividad EEG muy parecida y, por el contrario, en la medida en que los procesos neurofisiológicos subyacentes sean diferentes, las señales EEG de las dos áreas cerebrales también lo serán. Es decir que mientras mayor sea la relación funcional entre las dos áreas, más semejante será su actividad. El hecho de que específicamente durante el periodo intermedio (20-40 min) la correlación EEG entre las

amígdalas derecha e izquierda de las ratas que recibieron sólo 5 I sea mayor, probablemente refleje la funcionalidad coordinada de ambas amígdalas, lo cual se traduciría en un estado apetitivo; facilitador de la proceptividad y receptividad de la hembra.

Por otro lado, el hecho de que las ratas que recibieron una estimulación vaginocervical excesiva (grupo 25 I) hayan mostrado una mucho menor correlación interamigdalina, podría a su vez indicar que durante ese estado ansioso y de evidente rechazo sexual, la amígdala derecha e izquierda están funcionando de forma totalmente independiente, lo que se traduciría en el estado sobreactivado y de ansiedad que fue evidente en las hembras después de la sesión de 25 I.

La diferente temporalidad de los cambios EEG y de correlación amigdalina que caracterizaron a la post-EVC copulatoria moderada y excesiva que fueron encontradas en este estudio, corrobora datos previos en los cuales se ha mostrado que la funcionalidad cerebral es sensible a la cantidad e intensidad de EVC que recibe la rata y demuestran además, que la temporalidad de ocurrencia de estos cambios es diferente, lo cual podría asociarse con los diferentes estados motivo-emocionales (apetitivos y consumatorios) que son experimentados por la rata inmediatamente después de tales eventos copulatorios. Estos datos EEG podrían a su vez estar asociados con la cascada de respuestas hormonales que son activadas después de la EVC y que fundamentan los procesos de pseudogestación y terminación del estro conductual, como ha sido sugerido en otros estudios. Investigaciones adicionales son requeridas de llevar a cabo en un futuro, con el fin de dilucidar con mayor claridad la relación entre la funcionalidad amigdalina y la estimulación vaginocervical en la rata.

CONCLUSIONES

La cantidad e intensidad de estimulación vaginocervical copulatoria provoca cambios en la conducta sexual de la rata hembra en proestro-estro. Aquellas ratas que sólo recibieron 5 I, mostraron una facilitación de conductas receptivas y preceptivas, en tanto que las que recibieron 25 I mostraron desde la 10 I aproximadamente, claras conductas de rechazo y de terminación del estro conductual.

El patrón EEG de la amígdala medial derecha e izquierda de las ratas en P-E que recibieron 5 I y 25 I fue similar, pero mostraron una diferente temporalidad de la ocurrencia de estos cambios EEG, esto es, en el grupo 5 I los cambios EEG fueron evidentes desde los 20 minutos post-EVC copulatoria, en tanto que en el grupo 25 I, estos cambios se observaron hasta los 40 minutos post-EVC copulatoria. Esta diferente temporalidad en la ocurrencia de los cambios EEG podrían asociarse a los diferentes estados motivo-emocionales que experimenta la hembra. En el caso del grupo 5 I, la mayor PR de las tres bandas de frecuencia desde los 20 minutos post-EVC podrían asociarse al estado apetitivo y por tanto, de alta motivación sexual, en tanto que en el grupo de 25 I, el hecho de que los cambios EEG ocurra más tarde, podría reflejar el tiempo mínimo requerido para que en las ratas que recibieron EVC excesiva asociada con evidentes conductas de rechazo hacia el macho, comience a presentarse un estado relajado y de menor sobreexcitación conductual.

En resumen, estos resultados muestran que la funcionalidad EEG amigdalina de las ratas en P-E es sensible a la cantidad e intensidad de estimulación vaginocervical copulatoria.

REFERENCIAS

- 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. *Physiology and Behavior*, 5, 1003-1007.
- Aggleton J.P. (Ed.). (2000). *The Amygdala: A functional analysis*. New York. Oxford University Press.
- Allen T.O., Adler N.T., Greenburg J.H., Reivich M. (1981). Vaginal stimulation selectively increases metabolic activity in the rat brain. *Science*, 221, 1071-1072.
- Amaral D. (1998). Memory: Anatomical organization of candidate brain regions. En: *Handbook of Physiology V*. Washington. American Physiological Association.
- Avitsur R. & Yirmiya R. (1999). The partner preference paradigm: a method to study sexual motivation and performance of female rats. *Brain Research Protocols*, 3, 320-325.
- Blaustein J.D., Auger A.P., Heeb M., LaRiccia L., & Moffatt C.A. (1998). Regulation of brain progesterin receptors and sexual receptivity by mating stimulation. INABIS'98.
- Blake C.A. & 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. *Physiology and Behavior*, 30, 229-232.
- Beckstead R.M. (1976). Convergent thalamic and mesencephalic projections to the anterior medial cortex in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 166, 403-416.
- Beltramino C. & 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). Afferent fibers supplying the uterus in the rat. *Journal of Neurophysiology*, 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. *Journal of Neurophysiology*. 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. *Journal of Neurophysiology*, 69, 557-568.
- Berkley K.J., Hubscher C.H., & Wall P.D. (1993b). Neural responses to stimulation of the cervix, uterus, colon, and skin in the rat spinal cord. *Journal of Neurophysiology*, 69, 545-556.
- Besson J. & Chaouch A. (1987). Peripheral and spinal mechanisms of nociception. *Physiology Reviews*. 67. 67-180.
- Burnstein R., Clifer K.D., & Giesler G.J. (1990). Cells of origin of spinothalamic tract in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 291, 329-344.
- Bruce L.L. & Neary T.J. (1995). The limbic system of tetrapods: a comparative analysis of cortical and amygdalar populations. *Brain Behavior and Evolution*. 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. & 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 Research*, 144, 95-107.
- Carrillo A.J. & 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. *Neuroscience Letters*, 145, 93-96.
- Chugani H.T., Phelps M.E., & Mazziotta J.C. (1987). Positron emission tomography study of human brain functional development. *Annals of Neurology*. 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 in Neuroscience*. 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 Research*. 137. 67-84.
- Domesick V.P. (1969). Projections from the cingulate cortex in the rat. *Brain Research*, 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. *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. *Journal of Endocrinology*. 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. & Hanrahan S. (1997). Effects of paced mating on c-fos gene expression in the female 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 ovariectomized-adrenalectomized hormone-primed rats. *Behavioral Neuroscience*, 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 Research Bulletin*, 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 distension. *Brain Research Bulletin*. 32. 467-469.
- Feldman S. & Conforti N. (1981). Amygdectomy inhibits adrenocortical responses to somatosensory and olfactory stimulation. *Neuroendocrinology*. 32. 330-334.
- Fernández-Guasti A., & Picazo O. (1992). Changes in during behavior during the estrous cycle: effects of estrogen and progesterone. *Psychoneuroendocrinology*, 17,6. 681-689.
- 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.

- 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. & Komisaruk B.R. (1991). Analgesia is produced by uterocervical mechanostimulation in rats: roles of afferent nerves and implication for analgesia of pregnancy and parturition. *Brain Research*. 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.
- Gloor P. (Ed) (1997). The amygdaloid system. The temporal lobe and limbic system. Oxford University Press.
- Gomora P., Beyer C., Gonzáles Mariscal G., & Komisaruk B.R. (1994). Momentary analgesia produced by copulation in female rats. *Brain Research*. 656. 52-58.
- González Pimentel R. & Hernández González M. (2002). En: *Motivación animal y humana*. Hernández González M. (Ed.) Manual Moderno.
- González Mariscal G. & González Flores O. (2002). En: *Motivación y conducta: sus bases biológicas*. Escobar Briones C. & Aguilar Robledo R.A. (Eds.). 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, M.A., 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., & Freeman M.E. (1983). The mating-induced release of prolactin: A unique neuroendocrine response. *Endocrinology Reviews*, 4, 44-61.
- Hardy F.D. & DeBold J.E. (1973). Effects of repeated testing on sexual behavior of the female rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*. 85. 195-202.
- Hartman C.G. (1944). Some new observations on the vaginal smear of the rat. *Yale Journal of Biology and Medicine*, 17, 99-112.

- Hayashi S., Yokpsuka M., & Orikasa C. (1999). Developmental aspects of estrogen receptors in the rat brain. En: Neural control of reproduction. Physiology and Behavior. Eds. Maeda
- Henke P.G. (1982). The telencephalic limbic system and experimental gastric pathology: a review. *Neuroscience Biobehavior Review*, 6, 381-390.
- Henke P.G. (1985). The amygdala and forced immobilization of rats. *Behavior and Brain Research*, 6, 19-24.
- Hill R.G. & Ayliffe S.J. (1981). The antinociceptive effect of vaginal stimulation in the rat is reduced by naloxone. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 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. *Experimental Neurology*. 96. 443-455.
- Higuchi T., Uchide K., Honda K., & Negoro H. (1986). Oxytocin release during parturition in the pelvic-neurectomized rat. *Journal of Endocrinology*. 109. 249-254.
- Holmes J.E., & Egan K. (1972). Electrical activity of the cat amygdala during sexual behavior. *Physiology and Behavior*. 10. 863-867.
- Holson R.R. (1986). Medial prefrontal cortical lesions and timidity in rats. I. Reactivity to aversive stimuli. *Physiology and Behavior*. 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 Research*, 664, 1-8.
- Jackson M.E & Moghaddam B. (2001). Amygdala regulation of nucleus accumbens dopamine output is governed by the prefrontal cortex. *The Journal of Neurology*, 21,2, 676-681.
- Jerison H.J. (1994). Evolution of the brain. En: Neuropsychology. Zaidel D.W. (ed) San Diego Academi Press.
- Kalra S.P. & Sawyer C.H. (1970). Blockade of copulation-induced ovulation in the rat by an anterior hypothalamic deafferentation. *Endocrinology*, 27, 1124-1128.
- Klaric J.S. & Hendricks S.E. (1986). Effects of two stage lesions of medial preoptic area on sexual behavior in sexually inexperienced male rats. *Physiology and Behavior*, 37, 539-542.

- Kawakami M. & Kubo K. (1979). 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 hipothalamus of the cat: effect of genital stimuli, luteinizing hormone and oxytocin. *Japanese Journal of Physiology*, 77, 466-486.
- Komisaruk B.R. & Wallman J. (1977). Antinociceptive effects of vaginal stimulation in rats: neurophysiological and behavioral studies. *Brain Research*, 137, 85-107.
- Komisaruk B.R., Sensone 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.
- Kondo Y. & Sachs B. (2002). Disparate effects of small medial amygdala lesion on noncontact erection, copulation and partner preference. *Physiology and Behavior*, 76, 443-447.
- Kondo Y. & Sakuma Y. (1998). The medial amygdala controls a coital pace of female rats via emotional response. 31 Annual Meeting of Neuroscience. San Diego, California.
- Kostarczyk E.M. (1986). The amygdala and male reproductive functions. I. Anatomical and endocrine bases. *Neuroscience Biobehavior Reviews*, 10, 67-77.
- Krettek J.E. & Price J.L.(1977). Projections from the amygdaloid complex to the cerebral cortex and thalamus in the rat and cat. *Journal of Comparative Neurology*, 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. *Physiology and Behavior*, 36, 1017-1020.
- Kondo 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). Vaginocervical stimulation supresses the expression of c-fos induced bay mating in thoracic, lumbar and sacral segments of the female rat. *Neuroscience*, 74, 237-249.
- LeDoux J.E. (1993). Emotional memory systems in the brain. *Behavior and Brain Research*, 58, 69-79.

- 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. *Journal of Endocrinology*. 37. 177-189.
- Lincoln D.W. (1969). Response of hypothalamic units to stimulation of vaginal cervix; specific versus non-specific effects. *Journal of Endocrinology*. 43. 683-684.
- Luque E.H. & Castro Vázquez A. (1983). Sensory mechanisms involved in the induction of pseudopregnancy by progesterone: increased sensitivity to stimulation of pudental sensory field. *Endocrinology*. 113. 385-390.
- McGinnis M., Lumia A., & McEwen B.S. (1985). Increased estrogen receptor binding in amygdala correlates with facilitation of feminine behavior induced by olfactory bulbectomy. *Brain Research*. 334. 19-25.
- Madlafousek J. & Hlinak Z. (1977). Sexual behaviour of the female laboratory rat: inventory, pattering and measurement. *Behaviour*, 63, 129-174.
- Mascó D.H. & 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. *Physiology and Behavior*. 7. 797-805.
- Mandl A.M. (1951). The phases of the oestrous cycle in the adult white rat. *Journal of Experimental Biology*, 28, 576-584.
- Mandl A.M. (1951). Cyclical changes in the vaginal smear of adult ovariectomized rats. *Journal of Experimental Biology*, 28, 585-592.
- Moltz H., Lubin M., Leon M., & Numan M. (1970). Hormonal induction of maternal behavior in the ovariectomized nulliparous rat. *Physiology and Behavior*, 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.
- 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. *Behavioral Neuroscience*. 109. 354-365.
- McKenna K.E. & Naedelhaft I. (1986). The organization of the pudental nerve in the male and female rat. *Journal of Comparative Neurology*. 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 Research*, 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 Research*, 32, 151-167.
- Mason J.W. (1959). Plasma 17-hydroxycorticosterone levels during electrical stimulation of the amygdaloid complex in conscious monkeys. *American Journal of Physiology*, 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 Research*. 32. 151-167.
- McGinnis M.Y., Lumia A.R., & McEwen B.S. (1985). Increased estrogen receptor binding in amygdala correlates with facilitation of feminine sexual behaviour induced by olfactory bulbectomy. *Brain Research*. 334. 19-25.
- Melis M.R. & Argiolas A. (1995). Dopamine and sexual behavior. *Neuroscience Biobehavioral Reviews*, 19, 19-38.
- Moss R.L., & Law O.T. (1971). The estrous cycle: its influence on single unit activity in the forebrain. *Brain Research*. 30. 435-438.
- McDonald A.J. (1989). Excitatory amino acid immunohistochemistry distinguishes basolateral amygdaloid neurons projecting to the prefrontal cortex versus mediodorsal thalamic nucleus. *Society of Neuroscience Abstracts*. 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 Research*. 500. 285-290.
- McDonald A.J. (1998). Cortical pathways to the mammalian amygdala. *Progress in Neurobiology*. 55. 257-332.
- 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 Research Bulletin*. 21. 701-709.
- Nieuwenhuys R. (1985). Chemoarchitecture of the brain. Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York.
- 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.

- Ortega Villalobos M., Garcia Bazan M., Solano Flores L.P., Ninomiya 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 Research Bulletin*, 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 Research*, 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 Research*, 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. & 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 Research*, 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. & Keiner M. 1973. Atlas of estradiol-concentrating cells in the central nervous system of the female rat. *Journal of Comparative Neurology*, 151, 121-158.
- Pfaff D.W. & 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., & Jenkins F.A. (1978). X-ray cinematographic analysis of lordosis in female rats. *Journal of Comparative Physiology*, 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., Kleopulus S.P., Mobbs C.V., Gibbs R.B., & Pfaff D.W. (1993). Sexual stimulation activates c-fos within estrogen-concentrating regions of the female rat forebrain. *Brain Research*. 624. 253-267.

Pfaus J., Jacob A., Kleopoulos S., Gibbs R., & Pfaff D.W. (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. & 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.

Porter R.W., Cavanaugh E.B., Critchlow B.V., & Sawyer C.H. (1957). Localized changes in electrical activity of the hypothalamus in estrous cats following vaginal stimulation. *American Journal of Physiology*. 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. *Journal of Comparative Neurology*. 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. *American Journal of Physiology*, 212, 1376-1384.

Rajendren G. & 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 Research*, 617. 81-86.

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.) *Reproductive handbook of behavioral Neurobiology*, 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 preotic area facilitates sexual behavior but does not reverse sexual satiation. *Behavioral Neuroscience*. 114. 553-560.

Rodríguez Sierra J.F., Crowley W.R., & Komisaruk B.R. (1975). Vaginal stimulation in rats induces prolonged lordosis responsiveness and sexual receptivity. *Journal of Comparative Physiology and Psychology*. 89. 79-85.

- Robbins A., Berkley K.J., & Sato Y. (1994). Estrous cycle variation of afferent fibers supplying reproductive organs in the female rat. *Brain Research*. 596. 353-356.
- Rowe D.W., & 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 Research*. 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. *Biology of Reproduction*, 40, 209-219.
- Sakuma Y. & Akaishi T. (1987). Cell size, projections path and localization of estrogen-sensitive neurons in the rat ventromedial hypothalamus. *Journal of Neurophysiology*. 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. *Natural Neuroscience*. 2. 859-861.
- Sarter M. & Markowitsch H.J. (1985). Involvement of the amygdala in learning and memory: a critical review, with emphasis on anatomical relations. *Behavioral Neuroscience*, 99. 342-380.
- 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. *International Journal of Impotence Research*, 11, 1.
- Schies M.C., Jöels M., & Shinnick-Gallagher P. (1988). *Brain Research*. 440. 380-385.
- Shreiner L. y Kling A. 1953. Behavioral changes following rhinencephalic injury in cats. *Journal of Neurophysiology*, 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. *Brain Research*, 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. & Petrovich G.D. (1998). What is the amygdala? *Trends Neuroscience*. 21:8. 323-331.
- Swanson L.W. (1981). A direct projection from Ammon's horn to prefrontal cortex in the rat. *Brain Research*. 217. 150-154.
- 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. *Journal of Neuroendocrinology*. 5. 397-404.
- Thornton J.E. & Finn P.D. 1998. Estrus. En: Encyclopedia of Reproduction. Eds. Knobil E. y Neill J.D..
- Teresawa E. & Timiras P.S. 1968. Electrical activity during the estrous cycle of the rat: cyclic changes in limbic structures. *Endocrinology*. 83. 207.
- Veronique G.J., 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. & 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. *International Review of Neurobiology*. 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*. MIT Press, Cambridge, M.A.
- Vanderwolf C.H. (1992). The electrocorticogram in relation to physiology and behavior: a new analysis. *Electroencephalographic Clinical Neurophysiology*, 82. 165-175.
- Wersinger S.R., Baum M.J., & Erskine M.S. (1993). Mating-induced Fos-like immunoreactivity in the rat forebrain: a sex comparison and a dimorphic effect of pelvic nerve transection. *Journal of Neuroendocrinology*. 5. 557-568.
- Woon Lee J. & Erskine M.S. (2000). Changes in pain threshold and lumbar cord immediate-early gene expression induced by paced and nonpaced mating in female rats. *Brain Research*. 861. 26-36.

APÉNDICE

Actividad neural eléctrica

El electroencefalograma o EEG consiste en el registro de la actividad bioeléctrica generada por núcleos celulares cerebrales, compuesto principalmente por señales u ondas lentas. Se le puede definir como variaciones de voltaje que pueden ir en un rango de amplitud desde -100 hasta +100 μ V, y en frecuencia de 0.5 hasta 40Hz.

Dentro de este rango de frecuencias diversos autores han descrito algunas subdivisiones de frecuencias que forman bandas características de interés, y donde la prevalencia de incidencia es determinante e indicadora de diversos estados fisiológicos particulares en diversas especies de animales. La técnica electroencefalográfica provee medidas de la distribución espacial de los campos de voltaje cerebrales, los cuales están distribuidos en función del tiempo, y provee una medida indirecta de la función cerebral ante variaciones fisicoquímicas, estímulos sensoriales, variaciones hormonales, patrones motores, edad, sueño-vigilia, aprendizaje, emociones, entre otros. Por lo tanto los ritmos del EEG varían dramáticamente y están correlacionados con estados hormonales particulares y/o de conducta, con niveles de atención, sueño y vigilia o patologías, y evidentemente entre diferentes grupos filogenéticos de animales. Se han realizado numerosos estudios en los que se ha correlacionado la actividad eléctrica del hipocampo con la conducta de animales en libre movimiento (Vanderwolf, 1969, 1975). Por ejemplo, Vanderwolf (1969) correlacionó la actividad eléctrica del hipocampo con conductas voluntarias y automáticas en la rata: al ritmo theta hipocámpico tipo I (4-7 Hz) se le ha asociado a conductas voluntarias tales como caminar, correr, nadar, pararse de patas, escarbar, manipular objetos

con las patas anteriores, realizar movimientos de cabeza y cambios de postura corporal, así como durante el amamantamiento y la eyaculación; en tanto que el ritmo theta hipocámpico tipo II (7-12 Hz) se ha relacionado principalmente ante la inmovilidad durante un estados de alerta o atención del animal. Dos sistemas participan en la generación de los patrones característicos en el EEG en estado de alertamiento en los roedores, el sistema tálamo-cortical para la banda de beta, y el sistema septo-hipocampal para la banda de theta, ambos bajo el control de influencias globales provenientes de distintos sistemas activadores ascendentes provenientes del tallo cerebral e hipotálamo posterior. Estas bandas incluso presentan patrones de incidencia sexualmente dimorficos, presentado los machos una mayor proporción de theta (PR) que las hembras. Las hembras presentan una mayor proporción de beta y delta que los machos; este patrón de preponderancia sugiere un mecanismo de alertamiento hipocampal para los machos, y un mecanismo tálamo-cortical en las hembras (Ugalde, E. y col. 2000)

El registro EEG solo toma en cuenta ondas de pequeña amplitud y casi siempre de frecuencias altas, de ahí que los ritmos del EEG sean definidos como ondas recurrentes y similares, tanto en forma como en duración, conformados tanto de la medición como de la amplificación y análisis de las diferencias entre las fluctuaciones eléctricas de los potenciales de campo en un tiempo dado. El hecho de que las diferencias de potencial fluctúen implica que las señales registradas en su conjunto forman una banda y dicha banda puede ser “descompuesta” en sus componentes principales o en bandas mas pequeñas. Los potenciales de campo pueden se subdivididos en varios tipos en base a una frecuencia limite cercana a 100 Hz. Si un grupo sincronizado de estímulos toman lugar en un sistema de fibras eferentes a través de estructuras superficiales las ondas de EEG evolucionan a tener una gran amplitud y a estar separadas unas de otras. En el caso de una secuencia

periódica de estallidos eferentes, el registro de los potenciales de campo muestra fluctuaciones senoidales en los potenciales, siendo este mecanismo el principio en la generación de los ritmos alfa y las ondas más lentas del EEG. Para la mayoría de estudios de EEG, una frecuencia de respuesta de 0.16 a 100 Hz es lo adecuado, a pesar de que se pueden adquirir frecuencias menores (hasta de DC) y superiores (hasta de 3800 Hz) dependiendo del estudio.

Los cambios en las concentraciones de iones dentro y fuera de tales células ocasionan diferencias en la carga eléctrica de su membrana, diferencias que pueden ser registradas mediante diversas técnicas tales como el EEG, el registro unitario, registro multiunitario, el patch clamp, etc. El registro electroencefalográfico o electroencefalograma consiste en la captura de los cambios de voltaje en el cerebro, cambios conformados a su vez por la sumatoria de los potenciales de campo de diferentes estructuras cerebrales. En general, el potencial de campo de una población de neuronas es igual a la sumatoria de los potenciales de campo de cada neurona, de ahí que el fenómeno del EEG solo pueda ser registrado a una distancia considerable de la fuente. Es necesario que las neuronas responsables estén acomodadas regularmente entre si y que se activen de manera sincrónica, de ahí que las neuronas piramidales sean las principales generadoras del EEG cortical, además de otros generados de EEG como el tálamo. Un potencial de campo cortical es generado sincrónicamente por las neuronas piramidales en empalizada, teniendo un arreglo funcional similar al de una capa de dipolos.

El cerebro humano, por ejemplo, esta constituido por diversos grupos celulares, tales como células gliales, neuronas y capilares. Al menos 10^{10} de las neuronas que constituyen el cerebro se localizan en la corteza, su capa más externa, las cuales además, forman aproximadamente 10^{14} interconexiones sinápticas. Como consecuencia de la

conservación de las cargas eléctricas en un medio conductor (tejido cerebral, fluido cerebral, membranas, cráneo y cuero cabelludo) la fuente de la corriente produce un eflujo o salida de corriente hacia el medio por una parte y un influjo o entrada de corriente por la otra parte de la fuente, de ahí el termino corriente en un dipolo. La importancia esencial de estas poblaciones neuronales es que trabajen en sincronía, y eso es dependiente de la conectividad entre las neuronas que forman dicha población o red.

Entonces, es la sumatoria de los potenciales postsinápticos lo que contribuye primeramente en la generación de los potenciales de campo extracelulares. Cuando una neurona es penetrada por un microelectrodo puede observarse que su membrana celular tiene un potencial eléctrico de entre -60 y -70 mV, con un potencial negativo en el espacio intracelular. Como la actividad eléctrica del cerebro es debida a las variaciones intra y extracelulares en las corrientes de iones (Na, K, Cl) a través de la membrana plasmática de las neuronas, en un estado de reposo el potencial interno de una neurona es de -70 mV, y durante la despolarización el potencial de membrana se incrementa hasta $+30$ mV, con una duración aproximada de 1mseg.

El contacto eléctrico entre las terminales de entrada del aparato de registro y el tejido del cual la actividad eléctrica es registrada es un hecho gracias a los llamados electrodos. Para el registro de la actividad eléctrica del cerebro varios tipos de electrodos pueden ser usados, con un mínimo técnicamente establecido de 3 (tierra, referencia y fuente). La elección del tipo de electrodo dependerá de la localización de estos y de la situación conductual del registro y de si este será un registro extra o intracraneal. Una propiedad básica de cualquier tipo de electrodo es que debe existir una unión metal-líquido en la conexión eléctrica entre el tejido y el aparato. Las propiedades electroquímicas de la

unión metal-líquido y piel-electrolitos originan un potencial eléctrico estable y una impedancia eléctrica en la conexión entre el tejido y el aparato.

Usualmente un sistema de registro EEG esta equipado con un número idéntico de canales de registro, de 8 hasta 16, 21 o incluso más. El flujo de la corriente a través del cuerpo del sujeto y los conductores ambientales hacen que se genere una corriente alterna vía sujeto-tierra y electrodo-tierra, y este flujo de la corriente origina un voltaje alterno (AC) entre la tierra y el sujeto. El amplificador de entrada de las señales esta conectado con los electrodos de registro y la medición de los potenciales de campo se lleva a cabo en esta etapa. El amplificador de entrada debe ser más sensible en relación a los componentes de la señal, los cuales son diferentes entre electrodos y entre aquellos componentes de igual amplitud y polaridad. Los canales de registro EEG están provistos de filtros ajustables, el HP (high pass) y el LP (low pass), lo que significa que la frecuencia de respuesta de cada canal puede ser restringida a la banda de frecuencia de interés. Las magnitudes de la actividad eléctrica del cerebro pueden tener un rango de los microvolts hasta los milivolts. La actividad eléctrica simultánea registrada por los electrodos puede tener diferentes magnitudes, así que para mantener un adecuado voltaje de entrada o corriente para el amplificador de salida (output), un canal de registro de EEG es provisto de un ganador ajustable. El canal de salida envía el voltaje, corriente o energía necesaria para que el sistema pueda hacer registro. Para almacenar y/o procesar la información de los datos del EEG se hace uso de un equipo auxiliar. La sensibilidad del registro puede ser evaluada fácilmente utilizando un sistema de calibración manual. En este sentido, muchos voltajes de calibración pueden ser aplicados a varios registros de sensibilidad para evaluar y ecualizar los propósitos.

Principales bandas de interés en el EEG:

a) Oscilaciones lentas (ondas Delta)

Una oscilación lenta (menor de 1 Hz) fue descrita primero en registros intracelulares de neuronas neocorticales en animales anestesiados, y fueron encontrados de manera natural durante el sueño lento. Entre más profundo es el sueño, los husos disminuyen al igual que la amplitud de las señales, desarrollando ritmos EEG más lentos, generalmente referidos como ondas delta. Tienen una oscilación de 1-4 Hz y hay dos tipos de ondas delta: unas generadas en la corteza y otra generadas en el tálamo.

b) Ritmo Theta

Tienen un rango de frecuencia de 4-7 Hz. Se ha mencionado que este ritmo decrece en amplitud y regularidad de roedores hacia otras especies de mamíferos, y que está pobremente representado en primates. La importancia del ritmo theta trasciende debido a su relación con el procesamiento sensorial y el control de diferentes tipos de movimientos en roedores. Sin embargo, la inducción de la potenciación sináptica a largo plazo (LTP), un fenómeno involucrado en los inicios de la memoria, es óptima cuando el intervalo de tiempo entre un estímulo es acerca de 0.2 seg, lo que corresponde a la banda de frecuencia de theta hipocampal. Las ondas theta han sido registradas en áreas límbico-corticales (hipocampo, corteza entorrinal, áreas singulares) donde son generalmente descritas como de una actividad rítmica lenta extendiéndose de 3-4 Hz hasta 10 Hz.

c) Ritmos Alfa

Ocurren en un rango de frecuencia de 8-13 Hz. Se describen generalmente durante estados de vigilia relajados. Las ondas alfa incrementan durante la respuesta a estímulos visuales y en pruebas de atención.

d) Husos oscilatorios

Clásicamente los husos han sido considerados como el epítome en la sincronización del EEG durante la etapa del sueño ligero y están asociados a estados de inconciencia. Este tipo de oscilación es definido por la asociación de dos ritmos distintos: ondas de 7-14 Hz con secuencias que duran de 1-2 seg, y con recurrencias periódicas de secuencias de husos con un ritmo lento de 0.2-0.5 Hz. Los husos son generados en el Tálamo, pero su forma y sincronización en un amplio rango son definitivamente influenciadas por la corteza.

e) Ritmos rápidos (ondas gamma)

Se ha reportado la presencia de ondas de 20-40 Hz durante diferentes condiciones durante el aumento de la atención. Las oscilaciones gamma han estado ligadas en la mediación de funciones motoras de un orden elevado. Los ritmos rápidos tienen lugar cuando las condiciones sensoriales son óptimas; estas oscilaciones están presentes de manera espontánea en la actividad del tálamo y durante la despolarización de las neuronas de la corteza, y no solamente durante la vigilia cuando la información es procesada, sino también durante el sueño natural de ondas lentas y durante una profunda anestesia. El rol de las neuronas corticales en la formación de ritmos de 40 Hz es generalmente aceptada, y hay una gran evidencia de que estructuras subcorticales están interpuestas en las complejas cadenas neuronales que generan el ritmo de 40 Hz. El hecho es que las células tálamo-

corticales sí oscilan a 40 Hz, debido a factores extrínsecos como intrínsecos. Los ritmos de 40 Hz, se piensa, reflejan una condición en el incremento difundido de la vigilancia del cerebro.

Una de las técnicas que nos permiten analizar los datos obtenidos del EEG de manera precisa es el Análisis de Fourier, el cual consiste en descomponer en bandas de frecuencia el EEG, para así poder determinar la potencia absoluta y la potencia relativa de las bandas de frecuencia que lo constituyen. La técnica que nos permite determinar cuales frecuencias están covariando y así poder obtener las bandas características es el Análisis de Componentes Principales. A su vez la técnica de la Correlación hace posible obtener índices matemáticos para comparar el grado de semejanza entre dos variables, siendo en este caso el EEG de dos estructuras neurales diferentes.