

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

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



EFFECTO DE LA MALNUTRICIÓN PRENATAL SOBRE ÍNDICES CONDUCTUALES DE MADURACIÓN SEXUAL Y COPULA EN RATAS MACHO

Trabajo para titulación en la modalidad de:

T E S I S

Que para obtener el grado de Licenciado en Biología

Presenta:

ITZEL PAOLA CARRALES OROZCO

Las Agujas, Zapopan Jal.

CREDITOS

La presente tesis fue realizada en el Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta Reproductiva a cargo de la Dra. Marisela Hernández González, del Instituto de Neurociencias de la Universidad de Guadalajara.

La tesis fue dirigida por la Dra. Marisela Hernández González. Los revisores fueron la Dra. Pilar Durán Hernández, la Dra. Silvia Josefina López Pérez, la Dra. Graciela Gudiño y el Dr. Miguel Angel Guevara Pérez.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres por regalarme la oportunidad de ser quien soy, por amarme sin condición, además de enseñarme en cada paso que recorría lo importante de la vida, por inspirarme cada día, y darme todo lo que tengo.

A mi hijo Gadiel, por regalarme una sonrisa al final del día, además darme fuerza para seguir adelante, por cada día que me haz dado a tu lado.

A mis abuelitos Javier y Lilia, por su amor y enseñarme a vivir.

A mi hermana por su paciencia, su gran apoyo, compañía.

A mi gran compañero, amigo, novio, esposo José Luis que en las buenas y en las malas ha estado a mi lado, escuchándome y animándome a continuar adelante.

A mis tíos, primos, por su apoyo y consejos.

Con gran admiración y respeto a la directora del presente trabajo, a la Dra. Marisela Hernández González por su apoyo, comprensión, dedicación, amistad y enseñarme a apreciar el maravilloso mundo de la ciencia.

Al Dr. Miguel Angel Guevara, por su apoyo, amistad y dedicación en mi formación académica.

A los sinodales por aceptar la realización del presente trabajo, y por cada uno de sus consejos, correcciones y por su preciado tiempo que me otorgaron.

Agradecemos a los apoyos del CONACYT 40168-M, DGAPA-UNAM IN201505, UR304INB.

DEDICATORIAS

**A la memoria de mi compañera de la niñez,
mi hermana del alma, Berenice.**

Con gran cariño a mi tío Gustavo.

ÍNDICE

Lista de abreviaturas

RESUMEN

INTRODUCCIÓN..... 1

ANTECEDENTES:

1.- NUTRICIÓN INADECUADA..... 3

- Modelos y efectos de la nutrición inadecuada..... 4

2.-PUBERTAD EN LA RATA..... 7

- Acicalamiento..... 9
- Separación Prepuberal..... 11
- Erecciones Penianas.....12

3.-CONDUCTA SEXUAL.....12

4.-EFECTO DE LA MALNUTRICION SOBRE LA CONDUCTA SEXUAL..... 18

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA..... 22

OBJETIVOS..... 23

HIPÓTESIS..... 24

METODOLOGÍA:

- Método de Malnutrición..... 23
- Registros conductuales..... 27
- Separación Prepuberal..... 28
- Conducta Sexual..... 28
- Análisis Estadístico..... 29

RESULTADOS:

1.- PESOS CORPORALES..... 30

2.-ACICALAMIENTO GENITAL..... 31

- Frecuencia.
- Duración

3.-ERECCIONES PENEANAS.....	35
• Frecuencia.	
• Duración	
4.-SEPARACIÓN PREPUCIAL.....	41
5.-CONDUCTA SEXUAL.....	42
DISCUSIÓN.....	45
CONCLUSIONES.....	54
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55

ABREVIATURAS

AG	Acicalamiento Genital
CS	Conducta Sexual
EP	Erecciones Peneanas
EPE	Erecciones Peneanas Espontáneas
GCo	Grupo Control
GMPr	Grupo Malnutrido Prenatalmente
HT	Hit Rate o Tasa de Eficiencia
I	Intromisión
IPE	Intervalo Posteyaculatorio
LI	Latencia de Intromisión
M	Monta
No. M	Número de montas
No. I	Número de intromisiones
SNC	Sistema Nervioso Central
SP	Separación Prepucial

RESUMEN.

Existen numerosos estudios en los cuales se da evidencia de la gran importancia e influencia que ejerce una mala nutrición sobre diversas funciones y conductas. En un intento por dilucidar los diversos efectos de la malnutrición hipoproteínica, se han diseñado modelos de malnutrición por reducción en la cantidad de proteína (caseína) en la dieta del animal durante los periodos pre y posnatal empleando dietas cuyo aporte de proteínas es del 8% (malnutrición moderada) y 6% (malnutrición grave). El objetivo del presente estudio es determinar si la malnutrición prenatal (alimento con solo 6% de caseína) modifica la edad de inicio de la separación prepucial (SP), de la ocurrencia del acicalamiento genital (AG) y de las erecciones peneanas espontáneas (EPE), así como la eficiencia de la ejecución sexual en ratas macho desde el destete hasta la pubertad.

Para la obtención de los sujetos experimentales, se emplearon 2 grupos de ratas de la cepa *Sprague-Dawley* hembras. Un grupo de hembras fue sometido a una dieta de 6% de caseína (malnutridas), y otro grupo a una dieta de 25% de caseína (controles) durante las 5 semanas previas al apareamiento y durante toda la gestación. Después del nacimiento se formaron dos grupos: el grupo malnutrido prenatalmente (GMP_r) constituido por las crías de las madres malnutridas (6%) las cuales fueron transferidas a una madre nodriza bien nutrida y alimentadas con la dieta normal hasta el destete. El grupo control (GCo) 25% fue obtenido de madres normales que mantuvieron a sus crías hasta el destete y fueron alimentadas con la dieta normal. A partir del día 21 postnatal los crios fueron destetados, sexados y hospedados en cajas de acrílico en grupos de 5 sujetos por caja.

Los registros conductuales de Acicalamiento Genital (AG) y Erecciones Peneanas Espontáneas (EPE) se efectuaron cada tercer día, desde las 16:00 hrs a las 18:00 hrs, comenzando desde el día 25 hasta los 47 días de edad. Se registró la frecuencia y duración de AG, y EPE. La separación del prepucio (SP) se

revisó diariamente desde el día 30 postnatal. Los registros de conducta sexual se realizaron del día 42 hasta los 88 días de edad cada tercer día, a partir de las 16:00 hrs.

Los sujetos del grupo GMPr mostraron un inicio temprano de AG y EPE con respecto al GCo. Se encontró además que los sujetos del GMPr presentaron una mayor frecuencia de AG durante los intervalos de edad 25-27, 29-31 y 45-47, así como una mayor duración de AG en el intervalo de edad 25-27 con respecto al GCo. En el intervalo 37-39 de edad los sujetos del grupo GMPr mostraron una mayor frecuencia de EPE con respecto al GCo, así como una mayor duración.

En cuanto a la edad de ocurrencia de la separación prepucial no hubo diferencias significativas entre los dos grupos. El análisis detallado de la ejecución copulatoria mostró que entre los 58-64 días de edad, el GMPr mostró una disminución significativa del número de intromisiones (No.I) con respecto al GCo. La latencia de intromisión (LI) entre los 70-76 días de edad y 82-88 días de edad, el GMPr mostró un incremento significativo respecto al GCo, mientras que el intervalo posteyaculatorio (IPE) entre los 82-88 días de edad presentó un incremento con respecto al GCo.

Estos resultados muestran efectos diferenciales de la malnutrición prenatal sobre la conducta sexual, facilitando los índices conductuales de maduración sexual pero alterando o afectando de forma negativa algunos parámetros de la ejecución sexual.

INTRODUCCION.

La malnutrición constituye un importante factor de riesgo en la población humana. Numerosos estudios han reportado los diversos efectos que produce la malnutrición hipoproteínica tanto en el periodo prenatal como postnatal, periodos críticos durante los cuales ocurre un rápido proceso de maduración y desarrollo del sistema nervioso. De tal forma que las alteraciones que resultan de la mala nutrición pueden constatarse más tarde en el comportamiento del individuo, manifestadas como síntomas de estrés, miedo, ansiedad, agresión y trastornos alimenticios, entre otros.

Durante el desarrollo de la rata, diferentes eventos hormonales, morfológicos e histológicos asociados a la pubertad se han utilizado como índices de maduración sexual, así como la ocurrencia de conductas asociadas a la pubertad tales como el acicalamiento genital (AG), las erecciones peneanas (EP), y la separación prepucial (SP).

Por otro lado, el comportamiento sexual resulta de la interacción de numerosos factores tanto internos como externos. Al igual que otras manifestaciones conductuales representa la actividad del sistema nervioso central (SNC); su expresión es propiciada por la acción de hormonas gonadales en el SNC; se desencadena en respuesta a un estímulo sexual adecuado; varía a través de la vida del individuo en función de su edad y experiencia y es modulado por factores sociales, ambientales y nutrimentales.

Se sabe que la malnutrición retrasa el comienzo de la pubertad, aunque se ha mostrado que si se restablece una nutrición adecuada tal alteración es compensada.

Si bien son pocos los estudios relacionados con la malnutrición y sus efectos sobre la conducta sexual, a la fecha no se ha realizado ningún estudio que evalúe los efectos de la malnutrición prenatal en los índices de maduración sexual en la rata.

Ya que la malnutrición prenatal (MP_r) afecta al sistema nervioso central (SNC) particularmente durante periodos críticos de su desarrollo provocando cambios permanentes en el SNC, como también existen alteraciones en algunas conductas sociales como son el cuidado materno, socialización, juego, etc, que son conductas importantes para interacción de conductas futuras como en de la copulación, y considerando que la manifestación de la conducta sexual de la rata adulta también es altamente afectada, es probable que la mala nutrición durante la gestación se asocie con alteraciones en el desarrollo de los diferentes índices de pubertad que a la fecha se han venido usando como indicadores de la maduración sexual, tal es el caso del Acicalamiento Genital (AG), las Erecciones Peneanas Espontáneas (EPE) y la Separación Prepucial (SP), así como la ejecución de la conducta sexual.

ANTECEDENTES.

Nutrición Inadecuada.

La malnutrición y la desnutrición en las poblaciones humanas de países subdesarrollados y desarrollados, constituyen un importante problema de salud, en virtud de que las condiciones económicas, políticas y sociales prevalecientes han incrementado su complejidad y hacen difícil su solución (Cintra y cols., 2002).

Una nutrición adecuada provee la energía y los nutrientes necesarios para el desarrollo de estructuras celulares y sistemas metabólicos esenciales, necesarios para el buen funcionamiento del organismo. De manera que la malnutrición, conlleva a una serie de alteraciones de diferente naturaleza que afectan directamente al individuo en su comportamiento, desarrollo, salud, etc., (Morgane y cols., 1993; Suskind y cols., 1990).

Durante los periodos críticos del desarrollo gestacional y perinatal es de gran importancia el contar con un aporte adecuado de nutrientes que le permitan al organismo adaptarse a su entorno en la vida postnatal y adulta. La restricción de alimento o de nutrientes en la dieta altera no solo el metabolismo sino la respuesta conductual del organismo ante estímulos variados (Suskind y cols., 1990; Tonkiss y cols., 1991; 1994; 1998 a,b).

Si los suministros y disponibilidad de los aminoácidos se cambian durante el tiempo del crecimiento neural y la maduración; es decir en los periodos pre y/o post-natal, los disturbios en el desarrollo pueden tener consecuencias a largo plazo impactando en las funciones bioquímicas, fisiológicas, morfológicas, conductuales y cognitivas (Suskind, 1990; Tonkiss y cols., 1993).

Existen diferentes tipos de nutrición inadecuada los que se presentan con mayor frecuencia: 1) Malnutrición, en donde la alimentación es deficiente por la inexistencia de algún nutrimento específico, así alterando la calidad del alimento que se consume. 2) Desnutrición y Subnutrición, es cuando existe una nutrición insuficiente en donde se manifiesta una reducción en calorías, en proteínas, carbohidratos, vitaminas y/o varios elementos traça. 3) Sobrenutrición, cuando hay

presencia de exceso en alguno de los nutrimentos (Durán-Hernández, 1995; Durán-Hernández y cols., 2005).

El grado específico de alteración de cada uno de estos procedimientos de nutrición inadecuada depende del tiempo que dure la deficiencia nutricional y del periodo en que se produzca (Cintra y cols., 2001; Durán-Hernández y cols., 2005).

Cuando hay una restricción específica de proteína, existe una reducción en los aminoácidos que son necesarios para la síntesis de proteínas, con esto se afecta el crecimiento celular y desarrollo (Tonkiss y cols., 1993) A este tipo de restricción alimenticia se le denomina malnutrición proteico-energética (MPE).

A pesar de los grandes avances que se han logrado en la prevención y tratamiento de la (MPE), ésta sigue constituyendo un problema de salud en el mundo y en particular en América. La Organización Panamericana para la Salud estima que entre el 10 y el 20 % de los niños sufren MPE moderada o severa, según el peso para la edad (Sánchez 1999).

Modelos y efectos de la nutrición inadecuada.

La malnutrición afecta adversamente muchos aspectos del desarrollo y función del cerebro (Durán-Hernández, 2005; Morgane y cols. 1993; Tonkiss, 1993). Los niños malnutridos presentan reducción en el peso cerebral, actividad electroencefalográfica patológica y respuestas anormales a potenciales evocados auditivos, los menores son apáticos, poco activos y presentan retraso en todas las escalas de desarrollo (Greene, 1997; Shultz y cols. 1999). Sufren pérdida de sus capacidades mentales, e inclusive en los casos más dramáticos, pueden crecer con retraso mental o discapacidades físicas (Cintra y cols., 2001; Durán-Hernández, 1995). La MPE causa una atrofia generalizada de los tejidos linfoides, fundamentalmente en niños. El timo, el bazo, las amígdalas, las placas de Peyer y los nódulos linfáticos se ven seriamente afectados con evidencias histológicas de atrofia significativa en las áreas de producción de linfocitos T de estos tejidos (Sánchez, 1999).

Es importante mencionar que los niños que están malnutridos, por deficiencias en la toma de proteínas, minerales y vitaminas, sufren además

recurrentes infecciones. Entre los desordenes nutricionales se encuentra el marasmo y kwashiorkor. El marasmo resulta de la privación drástica de proteínas, ocasionado por la ausencia del amamantamiento. El marasmo predomina en la infancia, y se caracteriza por una severa reducción de talla, una destrucción del tejido muscular, y del tejido subcutáneo y una marcada atrofia en el crecimiento (Greene, 1977; Shultz y cols., 1999). Los niños son psicológicamente irritables y apáticos. Por otro lado en los niños con kwashiorkor la piel y cabello se torna más delgado y presenta un color más opaco, presentan un hígado gigante, que se debe a la infiltración de grasa al hígado. El kwashiorkor es predominante en viejos, infantes y jóvenes. Esta patología resulta usualmente de una deficiencia de proteínas y un aumento en la toma de carbohidratos (Greene, 1977; Shultz y cols., 1999).

Aunque teniendo una recuperación física en la adolescencia, el daño en las funciones cerebrales y conductuales persiste durante esta etapa y hasta la edad adulta al menos en la mitad de los individuos expuestos a malnutrición infantil (Durán-Hernández, 1995).

Los modelos animales han probado ser de particular utilidad para comprender las consecuencias funcionales que produce la malnutrición sobre el Sistema Nervioso Central (SNC) de los mamíferos, proporcionando información sobre cómo afecta la malnutrición el desarrollo físico, cognitivo y cerebral. Como modelo animal apropiado, se ha empleado a la rata, porque se conocen completamente los factores sociales y las condiciones ambientales en el desarrollo temprano de las crías malnutridas, el desarrollo de su SNC es muy similar al del humano (Cintra y cols., 2002; Durán-Hernández, 1995; Morgane y cols., 1993; Tonkiss y cols., 1993).

Existen métodos experimentales que inducen una mala nutrición en la rata, los cuales son: 1) cuando una madre es sometida a una dieta baja en proteínas, 2) disminución de la cantidad de la dieta, 3) reducción del número de glándulas mamarias en la madre para la succión de leche por parte de las crías, 4) incremento del número de crías en la camada, 5) rotación de las crías entre las

madres y una incubadora, 6) alimentación artificial de las crías (Cintra y cols., 2002; Durán-Hernández, 1995).

Desde 1979, Cintra y cols., han empleado el modelo de malnutrición hipoproteínica, reduciendo la cantidad de caseína (importante nutrimento de la leche materna) al 8% o al 6% en la dieta de animales durante la gestación hasta el nacimiento, con este modelo, han mostrado que la malnutrición crónica produce alteraciones severas en la manifestación homeostática y circádica de los estados de vigilancia y la actividad eléctrica cerebral, así como en el desarrollo del organismo en general. Aunque el establecimiento de una dieta adecuada al nacimiento permite a la rata prenatalmente malnutrida alcanzar el peso y la talla de los animales controles (Durán-Hernández y cols., 1995; 2005; Tonkiss, 1991; 1993; 1998a).

En las especies altriciales como en la rata que muestran una gran inmadurez sensorial y motora al nacimiento, y que por lo tanto requieren de un intenso cuidado materno, la reducción en el aporte de alimento durante el periodo postnatal y perinatal, provoca alteraciones morfológicas y funcionales permanentes en un gran número de estructuras cerebrales involucradas en la regulación del movimiento (Almeida y cols., 1996; Loranca y Salas, 1999). Por ejemplo, se ha mostrado que la reducción temprana de alimento y la pobre estimulación sensorial asociada a ésta, trastorna la maduración de los mecanismos neurales centrales y periféricos que regulan la expresión de la conducta social de juego y posiblemente el de conductas similares durante la etapa adulta (Almeida y cols., 1996; Loranca y Salas, 1995).

Otros estudios indican que las dietas hipoproteínicas producen alteraciones en la síntesis de proteínas. Dichas alteraciones se han relacionado con retrasos o avances de la fase circádica del ciclo sueño-vigilia. Asimismo se han reportado daños anatómicos provocados por estos modelos de malnutrición en áreas cerebrales específicas, como la formación hipocámpica, estructura que forma parte de los procesos de atención, memoria y aprendizaje (Cintra y cols., 2002; Durán-Hernández, 1995).

Si existe malnutrición intrauterina por consecuencia el aporte nutrimental que es suministrado a la placenta del feto es deficiente y esto restringe los nutrientes necesarios para su desarrollo (Morgane y cols., 1993).

Las reservas nutricionales de la madre al comienzo del embarazo es un factor importante para determinar las consecuencias ocasionadas por la malnutrición en el embarazo (Morgane y cols., 1993).

Rosso (1990) enfatizó que durante el embarazo las consecuencias fetales por una inadecuada ingesta de proteínas son fuertemente influenciadas por el estatus nutricional de la madre previa a la concepción. Es decir que si la malnutrición crónica se combina antes del embarazo hasta la gestación afecta el crecimiento del cerebro (Morgane y cols., 1993). Sin embargo, aún cuando el neonato reciba rehabilitación en su dieta hay daños en el desarrollo del cerebro y conducta por una malnutrición prenatal (Rossen y cols., 2004). Por lo tanto, el funcionamiento integral del sistema reproductivo depende de una adecuada nutrición. Por otro lado en la rata la malnutrición retarda las capacidades sensoriales y motoras, particularmente como consecuencia de este retraso, estos pequeños presentan actividad depresiva (Hall y cols., 1979). Además la malnutrición en periodos de la lactancia y en el útero afecta fundamentalmente en parámetros de desarrollo y funciones reproductivas del hijo (Menendez-Patterson y cols., 1982; 1985).

PUBERTAD EN LA RATA.

Desde el punto de vista etimológico la palabra pubertad viene del latín *pubere*, que significa "cubrirse de pelo", el término de pubertad se ha definido también como una "crisis pluriglandular", que afecta a todo el organismo y que marca el comienzo de la vida sexual, también se añadiría a lo anterior, que la pubertad es el momento en que empiezan a desarrollarse los caracteres sexuales secundarios. En conjunto, podemos decir que la pubertad es aquel período de la vida en que la sexualidad activa comienza, se desarrollan los caracteres sexuales somáticos o secundarios y se produce una crisis endocrina pluriglandular, destinada a crear un nuevo equilibrio entre las glándulas de secreción interna. En

el momento de la pubertad comienza la actividad hormonal cíclica femenina que es propia de la fase de la madurez sexual (Botella, 1982; Fox y Lair, 1970).

Se ha reportado que en la rata, la pubertad se presenta aproximadamente a los 40 – 42 días de edad, es decir, dentro del periodo peripubertal (Clegg, 1960).

En la rata, se toman en cuenta diversos parámetros morfológicos y fisiológicos para determinar el inicio de la pubertad; de acuerdo con esta clasificación, el desarrollo sexual de la rata macho puede ser dividida en cuatro fases: 1) el periodo neonatal que comprende a partir del nacimiento hasta el día 7 postnatal, 2) el periodo infantil, que es a partir del día 8 postnatal hasta el día 21 postnatal, 3) el periodo juvenil, dura aproximadamente hasta el día 35 postnatal, 4) el periodo peripuberal, se extiende hasta el día 55 al 60 postnatal (Clegg, 1960; Hernández-González y Juárez, 2000; Ojeda y cols., 1980; Ojeda y Urbanski, 1994; Stoker y cols., 2000) .

En las ratas hembras, hay indicadores morfológicos y conductuales del comienzo de la pubertad claramente distinguibles tales como la apertura vaginal, el estro vaginal y el estro conductual, sin embargo, en machos ha sido mucho más difícil evaluar la maduración sexual debido a la falta de indicadores anatómicos y/o conductuales que permitan monitorear fácilmente el comienzo de la pubertad (Hernández-González y Juárez, 2000; Hernández-González, 2000; Moore, 1986; Ojeda y Urbanski, 1994; Ramirez, 1973) .

Es difícil definir como se da el comienzo de la pubertad en las ratas macho porque el desarrollo morfológico, endocrino y los factores conductuales que determinan las características reproductivas en los sujetos adultos ocurren a diferentes edades (Hernández-González, 2000). Los testículos descienden después de los 15 días (Ojeda y Urbanski, 1994; Stoker y cols., 2000). Los primeros espermatozoides son vistos en el lumen de los tubulos seminíferos alrededor de los 45 días y se observan ya en los tubulos deferentes después de 13 a 14 días (Clegg 1960; Hernández-González, 2000; Ojeda y Urbanski, 1994; Stoker y cols., 2000). Durante el desarrollo de la rata macho, diferentes eventos hormonales, morfológicos, histológicos y conductuales asociados a la pubertad se han utilizado como índices de maduración sexual, entre ellos, el crecimiento de los

testículos, y el retraimiento del prepucio del glande del pene, conocido como separación balanoprepucial o separación prepucial. Otros eventos conductuales asociados a la pubertad han sido descritos tales como la disminución drástica de la conducta de juego, y de la ocurrencia del acicalamiento genital y las erecciones peneanas espontáneas (Hernández-González y Juárez, 2000; Hernández-González, 2000; Korenbrot, 1977, Ojeda y Urbanski, 1994).

ACICALAMIENTO

El auto-acicalamiento es un complejo acto motor. En ratas su ejecución inicia durante la infancia y continua hasta la vida adulta. Durante el curso del desarrollo antes del destete, la extensión de cobertura del acicalamiento de la superficie del cuerpo aumenta en progresión cefalocaudal (Hernández-González, 2000; Hernández-González y Juárez, 2000; Moore, 1986a; Sachs y cols., 1988 a,b). Entre los numerosos patrones conductuales de roedores, el auto-acicalamiento es un importante componente del repertorio conductual que puede jugar un rol central en la reducción de ectoparasitismo (Hernández-González, 2000; Moore, 1986a; Sachs y cols., 1988 a,b). Sobre todo en contextos de cópula, el acicalamiento genital previene la transmisión de infecciones genitales, ya que la saliva de las ratas actúa como un antibacterial (Hart y cols., 1987).

El auto-acicalamiento también está implicado en el refrescamiento, limpieza, mantenimiento y cuidado del pelaje (Hernández-González y Juárez, 2000). El auto-acicalamiento se incrementa con la edad y en la edad adulta se asocia con la reproducción (Hernández-González, 2000; Hernández-González y Juárez, 2000; Sachs y cols., 1976; 1979, 1983). El acicalamiento genital es tardío en la ontogenia, y este ocurre relativamente de forma infrecuente en animales adultos, a excepción de la interacción copulatoria (Hernández-González, 2000; Hernández-González y Juárez 2000; Sachs y cols., 1988a,b).

Moore y Rogers (1984) reportan que el auto-acicalamiento genital se incrementa sustancialmente entre el destete y la post-pubertad inicial, alcanzando su manifestación máxima entre los 45 a 48 días de edad (Hernández-González,

2000; Hernández-González y Juárez, 2000; Sachs y cols., 1988a,b; Salas y cols.,1991).

Sin embargo, este incremento no es equivalente en machos y hembras. Los machos se acicalan los genitales significativamente más que las hembras. (Moore 1986a) Por lo tanto hay mayor acicalamiento genital en los machos. El acicalamiento genital es una fuente de autoestimulación que aparentemente contribuye al crecimiento de los órganos sexuales asociados con la pubertad (Hernández-González, 2000; Hernández-González y Juárez, 2000; Moore, 1986b).

Además, se ha reportado que el AG depende de los niveles hormonales y del contexto ambiental de la rata (Hernández-González y Juárez, 2000; Moore, 1986 a,b).

Las ratas que reciben menos lamido anogenital por sus madres desarrollan menor peso de vesículas seminales y una deficiencia en la copulación por la inadecuada estimulación del macho (Hernández-González 2000). Además se ha descrito que el grado de estimulación anogenital que estos animales recibieron durante su periodo de desarrollo juega un papel importante para la conducta copulatoria de la rata macho adulta (Hernández-González, 2000).

El autoacicalamiento en ratas tiene una relación con la erección peneana, movimientos pélvicos y la emisión seminal fuera del contexto de copulación. La ocurrencia de erección peneana en aislamiento de la rata, es decir, sin la hembra presente, son llamadas **erecciones peneanas espontáneas**, éstas son caracterizadas por la extensión del glande del pene, que coincide con los trenes de acicalamiento genital (Hernández-González y Juárez, 2000; Meisel y Sachs, 1994; Sachs y cols.,1988b).

En la rata el acicalamiento es un evento frecuente en las actividades diarias, pero cuando la rata se encuentra sola y en sitios nuevos se manifiesta con mayor frecuencia el autoacicalamiento (Komorowska y Pellis, 2004; Meisel y Sachs, 1994; Sprujit y cols., 1992).

También en contextos de copula el acicalamiento se manifiesta después de las montas, intromisiones y eyaculaciones de la rata (Hernández-González, 2000).

Evidencia previa demostró un incremento en la actividad del auto-acicalamiento en las ratas malnutridas lactantes, y en lactantes con desnutrición, esto sugiere que en la rata la privación temprana de alimento y/o social, entre otros factores, pueden interferir con la ontogenia de los mecanismos relacionados con la actividad del auto-acicalamiento (Sach y cols., 1988b).

SEPARACIÓN PREPUCIAL.

En la etapa peripuberal de la rata, el prepucio del pene comienza a retraerse gradualmente hasta que se separa totalmente del glande del pene, a lo que se le conoce como separación prepucial (Korenbrodt, 1977).

Este evento ocurre aproximadamente a los 44 días de edad postnatal y se ha sugerido que una de sus principales funciones es permitir la formación de la copa (ensanchamiento de la punta del glande), evento asociado a la expulsión seminal durante la eyaculación (Hernández-González, 2000; McIntosh, 1984; Sachs y Meisel, 1979).

Kohernbrodt y cols (1977) observaron que la separación prepucial puede ser retrasada o suprimida por la castración. Por otro lado, se ha descrito que los niveles sanguíneos de testosterona y dihidrotestosterona se encuentran elevados alrededor del periodo de la separación prepucial (día 51 a 65 postnatal), con base a lo anterior, se ha sugerido que la separación prepucial es un evento dependiente de andrógenos.

Sachs y Meisel (1979) describieron que algunos machos pueden presentar patrones de monta e intromisión previa a la separación prepucial, aunque ningún macho presenta patrones de eyaculación antes de la separación prepucial.

ERECCIONES PENEANAS.

Las erecciones peneanas (EP) se definen como la extensión del glande por fuera del prepucio como resultado de la rigidez o tumescencia del pene. Estas tienen una estrecha relación con el acicalamiento genital que ocurre independientemente de la cópula (Meisel y Sachs, 1994).

Las erecciones peneanas (EP) que ocurren en ratas aisladas o en grupo, pero en ausencia de cualquier estímulo sexual procedente de una hembra (visual, olfativo o auditivo) se denominan “erecciones peneanas espontáneas” (EPE), las cuales coinciden o son rápidamente seguidas por acicalamiento genital AG (Hernández-González, 2000; 2005; Kondo, 1999; Meisel y Sachs, 1994).

La edad de ocurrencia de las erecciones peneanas (40 postnatal), los flips (44 postnatal) y la copa (47 postnatal); coinciden con la edad de aparición de las respuestas de monta, intromisión y de eyaculación respectivamente (Hernández-González, 2000; Sachs y Meisel, 1979). El desarrollo de los reflejos peneanos ex-cópula en ratas Long-Evans coincide con el tiempo de aparición de las respuestas copulatorias (Sachs y Meisel, 1979).

Las erecciones y los flips son también observados durante la copulación antes de las intromisiones y eyaculaciones (Benjamín, 1986).

CONDUCTA SEXUAL.

La conducta sexual en la rata macho consiste de actos motores estereotipados que aparecen después de la pubertad y depende de los niveles hormonales circulantes en los periodos pre-natal y peri-pubertal (Baum, 1972; Beach y Holz, 1946; Hernández-González y Juárez, 2000; Larsson, 1967; 1979; Meisel y Sachs, 1994).

La conducta sexual es un indicador inequívoco de la activación hormonal. La completa secuencia copulatoria sexual ocurre días o semanas después de la pubertad (Hernández-González y Juárez, 2000).

El comportamiento sexual resulta de la interacción de numerosos factores

tanto internos como externos; al igual que otras manifestaciones conductuales representa la actividad del sistema nervioso central (SNC); su expresión es propiciada por la acción de hormonas gonadales en el SNC; es desencadenada en respuesta a un estímulo sexual adecuado; ésta varía a través de la vida del individuo en función de la edad y la experiencia y es modulado por factores sociales y ambientales (Morali, 1985).

La conducta sexual en su conjunto incluye una secuencia de conductas precopulatorias, respuestas copulatorias y conductas posteyaculatorias. Estos eventos comprenden una serie de componentes motores, viscerales, autónomos, etc., de cuya coordinación depende el éxito reproductor por parte del macho (Morali, 1985).

El contacto genital que caracteriza a la cópula generalmente es precedido por una variedad de conductas precopulatorias o de cortejo. A través de ellas, el macho puede reconocer que la hembra es el sujeto adecuado con el cual puede iniciar la cópula. El cortejo principia y mantiene el interés sexual de la pareja al recibir los estímulos adecuados y permite la interacción consumatoria del macho y la hembra de una misma especie para que resulte exitoso el apareamiento (Dewsbury, 1979; McIntosh y cols., 1984; Sachs y Barfield, 1976).

En la conducta sexual masculina de la rata se pueden reconocer varios patrones motores estereotipados: montas, patrones de intromisión y patrones de eyacuación (Dewsbury, 1979; Morali, 1985). **Las montas** consisten en acercamientos del sujeto al animal estímulo por la parte de atrás, sujeción y palpaciones de los flancos traseros de la hembra con las patas delanteras, ejecución de movimientos pélvicos repetitivos hacia delante y hacia atrás sobre la grupa de la pareja, seguido esto por la desmonta lenta. La hembra responde a cada monta con una lordosis, que es una dorso-flexión con elevación de la zona perineal y deflexión de la cola hacia un lado, permitiendo al macho acceso a la vagina. Las montas se caracterizan porque no hay inserción del pene en la vagina. Los patrones de **intromisión** se inician como las montas pero la serie de movimientos pélvicos termina con un movimiento rápido y profundo hacia delante; Éste movimiento rápido y profundo hacia delante, se ha asociado con la inserción

peneana y es seguido por la desmonta rápida con dos o tres pasos bruscos hacia atrás; comúnmente el macho alcanza penetración vaginal en el 50-80% de las montas (Hernández-González, 2000). (Fig.1) Los patrones eyaculatorios se caracterizan por ser montas terminadas en un movimiento pélvico profundo que se mantiene en su punto más rostral por uno o dos segundos, durante los cuales el individuo eleva las patas delanteras y realiza flexiones repetidas de los cuartos traseros, seguidos por un desmonta lenta. La eyaculación ocurre después de seis a doce intromisiones y es seguida por un periodo de cuatro a ocho minutos que se conoce como periodo posteyaculatorio, durante el cual el macho es refractario a toda actividad copulatoria. Este patrón se repite por cinco o diez series copulatorias, después de las cuales el macho alcanza la saciedad sexual (Beyer y cols., 1981; McIntosh y cols., 1984; Meisel y Sachs, 1994).

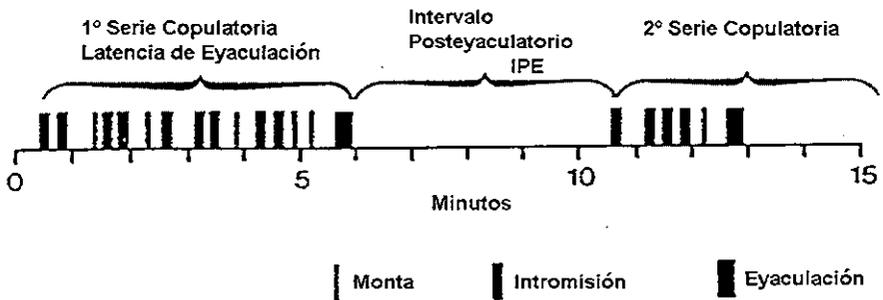


Fig. 1. Patrón de serie copulatoria de la rata macho.(Larsson)

Una serie copulatoria incluye varias montas y patrones de intromisión que culminan en un patrón eyaculatorio. Este es seguido de un período de cuatro a diez minutos durante los cuales el macho permanece refractario a la estimulación sexual. El número y curso temporal de estas respuestas permite reconocer y cuantificar los siguientes parámetros: **número de montas**, montas con

movimientos pélvicos pero sin penetración vaginal; **latencia de monta**, tiempo que transcurre desde la entrada de la hembra a la jaula del macho hasta la primera monta; **número de intromisiones**, montas con las características conductuales correspondientes a la penetración vaginal; **latencia de intromisión**, tiempo transcurrido desde la entrada de la hembra, hasta la presentación del primer patrón de intromisión, **latencia de eyacuación**, tiempo transcurrido desde el primer patrón de intromisión hasta el patrón eyaculatorio; **intervalo posteyaculatorio**, tiempo transcurrido desde el patrón de eyacuación hasta el siguiente patrón de intromisión de una nueva serie copulatoria. (Fig. 2) Durante la fase inicial del intervalo posteyaculatorio, el macho emite vocalizaciones ultrasónicas (22 KHz). Al cabo de este periodo, el individuo puede reasumir la actividad copulatoria ante un estímulo adecuado y realizar una segunda serie copulatoria. (Morali, 1985). (Fig. 3.)

Otro parámetro que se ha utilizado como un índice de la eficacia sexual, es la tasa de intromisión **Hit Rate (HR)**, que se obtiene dividiendo el número de intromisiones entre el número de montas y número de intromisiones, esto nos da evidencia de cuantas montas fueron asociadas con las intromisiones. Cuando los valores del hit rate son mayores de 6 reflejan una buena eficacia o ejecución sexual.

Sachs y Barfield (1970) han descrito el agrupamiento de montas e intromisiones dentro de una serie copulatoria en lo que han llamado "conjunto de montas" (mount bouts). Estas consisten en grupos de una o más montas o intromisiones que se suceden sin ser interrumpidas por conductas no copulatorias a excepción del acicalamiento genital o movimientos de orientación del macho hacia la hembra.

Todos estos parámetros varían de acuerdo con diferentes factores: genéticos, hormonales, edad, experiencia, ambientales, sociales, de acoplamiento hembra- macho, fisiológicos, etc.

MONTA



INTROMISION



EYACULACION



Fig 2. Diagrama donde se me representa el patrón copulatorio de la rata.



Fig. 3. Fotografía de una rata hembra y un macho que muestran una típica conducta copulatoria, donde el macho se encuentra sobre la grupa de la hembra y esta presenta una lordosis ante la estimulación del macho.

EFFECTO DE LA MALNUTRICIÓN SOBRE LA CONDUCTA SEXUAL.

Entre los muy diversos efectos asociados a la malnutrición, se ha descrito que ésta actúa como un factor inhibitor de la pubertad. (Botella, 1982; Kirkwood, y cols., 1987 Cumming y cols., 1994 Merry y Holehan, 1979). Es bien conocido cómo en la especie humana la carencia alimentaria en la época de la infancia y de la prepubertad determina una insuficiencia hipofisiaria, que se asocia con un retardo de la maduración sexual, de la pubertad y a veces también de esterilidad. También se han reportado problemas reproductivos por nutrición inadecuada acompañada de ejercicio extenuante. (Botella 1982).

En un estudio realizado con ovejas por Alejandros y cols (2002), sometieron a madres a una desnutrición (madres sometidas a una dieta restringida al 50% de los requerimientos de energía metabolizada de lo normal), los resultados mostraron que los machos no presentaron efectos sobre el peso corporal al nacimiento ni en el tamaño testicular, sin embargo mostraron altas concentraciones de la hormona foliculo-estimulante y niveles normales de hormona luteinizante. La calidad de semen a los 20 meses de edad no fue afectada, aunque en hembras la tasa de ovulación fue significativamente reducida en el grupo malnutrido. En corderos se ha descrito que la desnutrición gestacional puede reducir el desarrollo testicular del recién nacido y disminuir la proliferación de células de Sertoli, lo cual limita la futura capacidad de producción de espermias y la fertilidad masculina.

En la rata, Kennedy y Mitra (1963) han evaluado el efecto de la malnutrición sobre la maduración sexual, comprobando que ratas sometidas a una dieta pobre de aminoácidos, niacina y biotina permanecían impúberes hasta que fueran alimentadas con una dieta normal (Botella 1982).

La inanición aguda o crónica, así como la restricción en calorías, vitaminas, minerales u otras deficiencias nutricionales alteran adversamente los órganos reproductivos y sus ciclos asociados. Los niveles y el tipo de dieta proteínica afectan la reproducción. Leathem (1959) reportó las consecuencias de la privación de proteínas en ratas inmaduras y maduras. En las ratas inmaduras (30 días) la

deficiencia de proteínas resultó en una disminución del peso testicular; disminución en la gametogénesis, disminución de RNA tubular y aumento en los niveles lipídicos. Sin embargo, la restitución de una dieta semipurificada al 20% de caseína permitió una rápida recuperación en el peso de los testículos de los animales y una reanudación de la espermatogénesis. El efecto de tal dieta en animales adultos no provoca efectos adversos como en los animales jóvenes, ya que hay reservas proteínicas en el adulto. En contraste, una dieta alta en proteína en la rata causa un incremento en las gonadotropinas hipofisarias, así como un retraso del crecimiento ovárico y del inicio del ciclo estral (Glass y cols., 1984; Hall y cols., 1982). El tipo de proteína así como la cantidad de la misma es importante para la rata, por ejemplo, el peso del cuerpo, de las gónadas y de las glándulas pueden ser afectadas por la ausencia y/o exceso de proteína (Duran-Hernández y cols., 2005).

La malnutrición retrasa la maduración sexual en ratas macho y hembras y suprime la conducta sexual en la rata macho adulta. En ratas hembras hay un retraso en la apertura vaginal y la duración del ciclo estral es acortado. (Menendez-Patterson y cols., 1982). Esto sugiere que la malnutrición in útero y durante el periodo de lactancia afecta parámetros fundamentales tanto en el desarrollo como en la función reproductiva de las crías. Ondera y cols (1978), reportaron que ratas macho Wistar adultas con una dieta deficiente en tiamina durante 33 días, mostraron inhibición de crecimiento y menor peso corporal, que se asoció con un evento de erección peneana persistente; el 7% de las ratas mostraron la erección persistente a los 20 días de la dieta, el 63% de las ratas a los 30 días y el 100% de los animales a los 33 días de dieta. Este efecto fué suprimido por la inyección de una sola dosis (1g/kg) de hidrocloreuro de tiamina. Un efecto similar de erección peneana persistente fué reportado también por Gruhn y Elmadafa (1980). En este estudio, ratas macho *Sprague-Dawley* fueron alimentadas con dietas semi-sintéticas que contenían 9% de caseína y el 67% de las ratas mostraron erección persistente, efecto que fue revertido por la instalación de una dieta normal. Se ha reportado también que la desnutrición perinatal disminuye la actividad neuromotora y prolonga el periodo refractario en la conducta sexual, es

decir, que la rata tarda más en reiniciar la conducta sexual después de la eyaculación. Además, las ratas presentaron una reducción en el peso de testículos y vesículas seminales y también se afectó la captura de oxígeno. Por otro lado, ratas sometidas a malnutrición proteínica presentan anomalías en los niveles de testosterona. En ratas con malnutrición proteínica con 120 días de edad los testículos y las vesículas seminales son más grandes con respecto a ratas desnutridas (Duran-Hernández y cols., 2005). Por otro lado Glass y cols (1984), reportaron que ratas con una malnutrición proteínica al 9% durante el destete hasta los 80 días de edad, estos animales no presentaron diferencia en los pesos de los órganos reproductivos (próstata, vesículas seminales, testículos) ni en los niveles hormonales de hormona luteinizante, hormona foliculo estimulante y testosterona, con respecto a los animales con dieta normal. Esto indica que el crecimiento y las funciones reproductivas en las ratas macho pueden adaptarse a una alimentación baja en proteínas.

No obstante en estos datos, existen reportes contradictorios en los cuales se ha mostrado que ratas expuestas a malnutrición baja en proteínas no muestra alteración en la conducta copulatoria (Hall y cols., 1982). Lo contrario pasa con animales sometidos a una dieta alta en proteínas, ya que éstos son menos vigorosos y muestran menos eficacia copulatoria, especialmente en ratas de 215 días de edad o más grandes.

Hall y colaboradores (1982) compararon el efecto de la malnutrición proteica (8% caseína) durante toda la gestación y lactancia en ratas macho *Sprague-Dawley*. Encontraron que las ratas malnutridas en ambos periodos fueron mejores copuladoras que las ratas alimentadas con una dieta normal (25% caseína), aún a la edad de 215 y hasta 305 días de edad. Las ratas malnutridas siguieron mostrando una eficiente conducta sexual, representada por un mayor número de intromisiones y eyaculaciones, mayor tasa de intromisión, mayor proporción de sujetos que alcanzaron la eyaculación (8/10) y mayor número de eyaculaciones por sujeto. Por otro lado, ratas de 95 días con malnutrición proteica; son más vigorosos copuladores que los animales desnutridos. Esto contradice lo encontrado por Hlišák y Fraňkova (1977), que la restricción

proteínica durante la gestación, lactancia y parte del periodo postdestete reduce la frecuencia de copulación en animales de 125 días de edad.

Larsson (1974) reportó que sujetos expuestos a desnutrición presentan un retraso de la maduración sexual; se ha descrito en ratas macho desnutridos de 95 días de edad que muestran una diferencia en las respuestas de la conducta copulatoria; manifestada por un mayor número de intromisiones que preceden a la eyaculación (Hall y cols., 1982).

Estudios previos realizado por Reuben y Donovan (1981), han comparado los efectos de la malnutrición y el estrés prenatal en ratas gestantes a partir de los 14 a los 21 días de gestación, reportaron que ambos procedimientos provocaron efectos drásticos sobre la conducta sexual de los críos, demostrado que fueron ambos grupos mucho menos activos sexualmente con respecto a los animales controles. Los animales sometidos a estrés y a malnutrición durante la gestación y lactancia mostraron una reducción significativa en el porcentaje de eyaculaciones y un incremento en el número de intromisiones previas a la primera eyaculación en comparación de los animales del grupo control.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La malnutrición constituye un importante problema de salud en la población humana, y numerosos estudios han reportado los diversos efectos de la malnutrición hipoproteínica antes y después del nacimiento sobre la funcionalidad y conducta del individuo. Se ha descrito en el humano que la carencia alimentaria en la época de la infancia y la prepubertad determinan una insuficiencia hipofisiaria, donde hay un retardo de la maduración sexual de la pubertad y a veces también existe esterilidad. Otros estudios en ratas macho han evaluado los efectos de la malnutrición hipoproteínica, demostrando una disminución del peso testicular, disminución en la gametogénesis, disminución en el RNA tubular y un aumento en los niveles lipídicos.

En ratas hembra se ha reportado un retraso en la apertura vaginal y un acortamiento en el estró, en tanto que en ratas macho se han encontrado niveles de Testosterona más elevados de lo normal, y un mayor número de intromisiones previas a la primera eyaculación. Si bien existen varios reportes del efecto adverso de la malnutrición sobre la conducta sexual, existen también reportes contradictorios, en los cuales se ha mostrado que la malnutrición pareciera ejercer un efecto facilitador sobre la conducta sexual. Por otro lado, durante el desarrollo de la rata macho se presentan conductas asociadas a la pubertad que se ha considerado, funcionan como índices de maduración sexual cuya manifestación es importante para la exitosa ejecución sexual de la rata en la etapa adulta. A la fecha no se sabe si la malnutrición prenatal altera el patrón de desarrollo de índices conductuales de maduración sexual. Por lo anterior, el interés del presente estudio fue determinar si la malnutrición prenatal hipoproteica (6% caseína) en ratas macho altera el inicio y la ocurrencia de parámetros relacionados con la pubertad, tales como el acicalamiento genital (AG), las erecciones penéneas espontáneas (EPE), la separación prepucial (SP) y la ejecución de la conducta sexual.

OBJETIVO GENERAL.

Determinar el efecto de la malnutrición prenatal sobre los índices conductuales de maduración sexual y copula en la rata macho.

OBJETIVOS PARTICULARES.

1. Determinar si la malnutrición prenatal en ratas machos prepúberes, facilita la ocurrencia de acicalamiento genital, erecciones peneanas espontáneas y la separación prepucial.
2. Determinar si la malnutrición prenatal afecta la ejecución de la conducta sexual en la rata macho adulta.

HIPÓTESIS.

Las ratas macho sometidas a malnutrición hipoproteínica prenatal presentarán cambios en el patrón de desarrollo de ciertos índices de maduración sexual, como son el acicalamiento genital, las erecciones peneanas espontáneas y la separación prepucial así como un déficit en la ejecución sexual.

METODOLOGIA:

Se utilizaron ratas macho *Sprague-Dawley*, nacidas en el bioterio del Instituto de Neurobiología de la UNAM, Campus UNAM-UAQ Juriquilla, Querétaro, mantenidas en condiciones controladas de bioterio con agua y alimento "*ad libitum*". Todos los animales fueron mantenidos en un cuarto de registro, en el cual permanecieron bajo un ciclo normal de luz oscuridad (12hrs luz, 12 hrs. oscuridad).

Método de Malnutrición.

Para la obtención de los sujetos experimentales, se emplearon 2 grupos de ratas hembras de la cepa *Sprague-Dawley* (250-300 grs.) que fueron mantenidas *ad libitum*, uno en dieta de 6 % de caseína (malnutridas), el otro en una dieta de 25% de caseína (controles) durante 5 semanas previas al apareamiento y durante toda la gestación. Pasado este periodo de 5 semanas las hembras se aparearon, colocando 1 macho por 2 hembras en la caja durante 10 días o hasta la obtención positiva de embarazo por vía frotis vaginal. Los machos *Sprague-Dawley* utilizados para el apareamiento (con las hembras malnutridas) también fueron sometidos a la dieta hipoproteínica al 6% sólo durante el periodo de apareamiento. Después del nacimiento, se formaron dos grupos: las crías de las madres malnutridas (6%) fueron transferidas a madres nodrizas que fueron alimentadas con la dieta normal. El grupo control (25%) fue obtenido de madres normales que mantuvieron a sus crías hasta el destete y fueron alimentadas con la dieta normal. (Fig 4) Este procedimiento se llevó a cabo con el fin de instalar la malnutrición prenatal en un grupo de animales y su rehabilitación nutricional postnatal.

Protocolo de Malnutrición

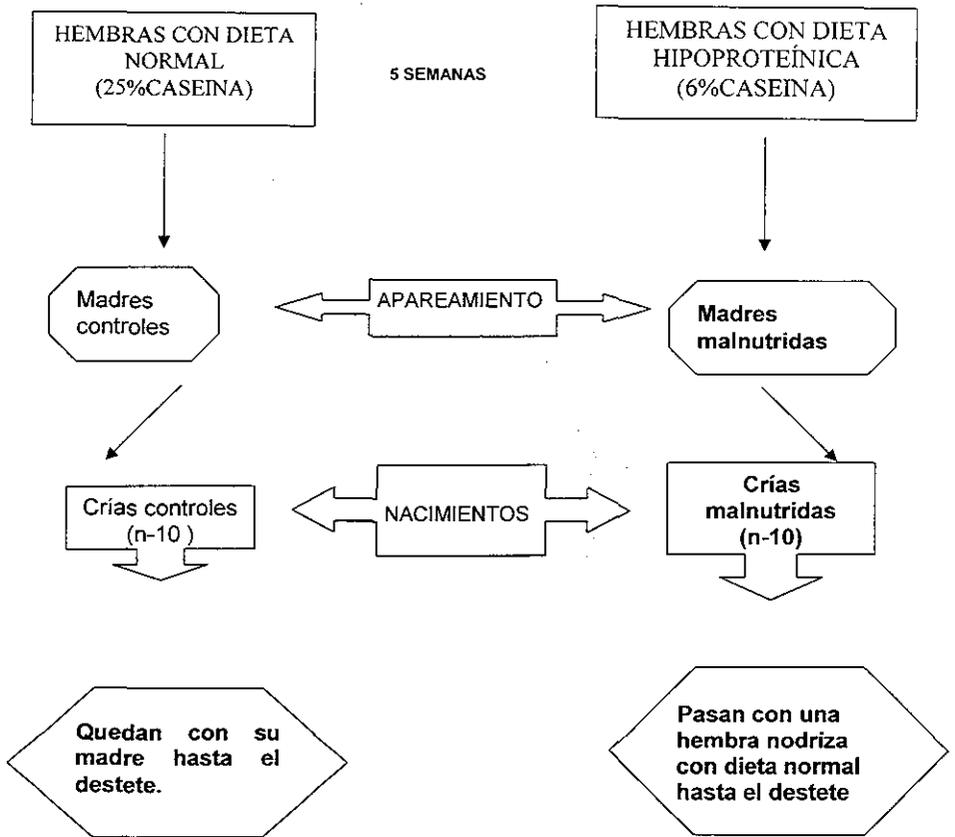


Figura 4. Protocolo de malnutrición. Se aprecia el tiempo de malnutrición, al que fueron sometidas las hembras, cinco semanas previas a la preñez y durante toda la gestación. Las crías de estas hembras constituyeron los grupos control (GCo) y malnutrido (GMP_r).

Dietas.

La malnutrición se realizó de acuerdo al modelo empleado previamente por Morgane y cols (1978) el cual consiste en dietas con contenido proteínico variable, dieta control 25% de caseína y dieta experimental 6% de caseína (ver Tabla 1). Las dietas de caseína son adicionadas con l-metionina (4%) debido a que carecen de este aminoácido esencial. Tanto el fosfato de calcio monobásico (0.6%) como el carbonato de zinc (0.001) fueron adicionados a la mezcla de sales de esta dieta para mantener estos minerales en los niveles encontrados en otras dietas. Los grupos Co y MPr empleados en este experimento fueron alimentados con una dieta básica comercial de caseína (LaDiet R Purina Mills, Inc) (PMI).

TABLA 1. COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DE LA DIETA BASICA.

COMPONENTES	DIETAS	
	6% caseína *	comercial PMI
Proteína %	5.3	23.4
Grasa %	15.0	10
Carbohidratos %	68.9	52.4
Mezcla de sales %	4.0	6.9
Mezcla de vitaminas %	1.0	2
Agua %	1.2	
Elemento no nutritivo %	4.2	5.3
Colorante %	0.33	—
Energía (kcal/g)	4.3	4.0

* Teklad WI, USA

A partir del día 21 postnatal los críos fueron destetados y sexados. Los animales macho fueron distribuidos en dos grupos de animales; 10 controles 25% (Co) y 10 experimentales con malnutrición al 6% (MPr), y fueron hospedados en cajas de acrílico, en grupos de 5 animales por caja habitación. Estos animales permanecieron en un cuarto de observación alejado del bioterio, con ciclo de luz-obscuridad normal, agua y comida ad-libitum.

Grupo control (Co), 25/25. Durante toda la gestación, lactancia y a partir del destete, se alimentaron con dieta normal.

Grupo malnutrido (MPr), malnutrición durante la gestación 6/25. Al nacimiento se pasaron a una madre nodriza normal y al destete, alimentadas con dieta normal.

Registros conductuales:

➤ Acicalamiento Genital (AG) y Erecciones Peneanas Espontáneas (EPE).

Los registros conductuales de Acicalamiento Genital (AG) y Erecciones Peneanas Espontáneas (EPE) se efectuaron cada tercer día, de las 16:00 hrs a las 18:00 hrs, comenzando desde el día 25 hasta los 47 días de edad. Los registros de AG y EPE se efectuaron en ausencia total de estímulos olfatorios, visuales o auditivos provenientes de ratas hembras. Los sujetos fueron observados en sus respectivas cajas. Se registró la frecuencia y duración del AG (lamido de testículos y pene) de las EPE (el macho adopta una posición sentada, sujeta su pene erecto con las patas delanteras y realiza el lameteo del pene).

➤ **Separación Prepucial (SP).**

La separación del prepucio se revisó diariamente desde el día 30 postnatal. Esta revisión es colocando a la rata en posición supina, haciendo una retracción del prepucio con los dedos sin forzar ni ejercer presión. Este procedimiento es realizado diario hasta que se detecte la separación completa del prepucio, se considera tal separación cuando se logra observar la totalidad de la superficie dorsal y aproximadamente la mitad de la superficie ventral del glande del pene.

➤ **Conducta Sexual.**

Los registros de conducta sexual comenzaron a partir del día 42 hasta los 88 días de edad, de cada tercer día de las 16:00 hrs hasta 18:00 hrs. En un caja de acrílico se colocó primeramente al macho por un período de 5 minutos para que se adaptara al nuevo lugar, y enseguida se introdujo en la misma caja una hembra receptiva. Las hembras estímulo fueron tratadas con 500 µg de benzonato de estadiol (BE) 36 hrs antes del registro de conducta sexual o progesterona 3 hrs antes del registro. Se estimaron las siguientes variables conductuales: número de montas (M), latencia de montas (LM), número de intromisiones (I), latencia de intromisiones (LI), latencia de eyacuación (LE), e intervalo posteyaculatorio (IPE). Los registros se dieron por terminados si no ocurrió intromisión después de un tiempo máximo de 15 minutos, si no ocurrió eyacuación en un tiempo máximo de 30 minutos posteriores a la primera o cuando la rata realizó la primera intromisión de una segunda serie copulatoria.

Una vez a la semana desde el destete hasta el final del último registro conductual se efectuó el registro del peso corporal de todos los sujetos.

Análisis Estadístico.

Para el análisis de la frecuencia y duración del AG, los datos correspondientes a cada dos días de registro se sumaron, de modo que se tuvieron seis intervalos de edad de los 12 días de registro (25-27, 29-31, 33-35, 37-39, 41-43, 45-47). En el caso de las EPE, se realizó una sumatoria de los datos correspondientes a cada dos días de registro (frecuencia y duración) de modo que se obtuvieron cinco intervalos de edad (29-31, 33-35, 37- 39, 41- 43, 45- 47 días de edad). Para determinar si la malnutrición afectó la frecuencia y la duración de estos parámetros conductuales a lo largo del desarrollo, a estos datos se aplicó la prueba t de Student en cada intervalo de edad para (AG y EPE). Para determinar si hubo diferencias en la ocurrencia de la separación prepupal, se aplicó una ANOVA de una vía (análisis intra grupos). Cuando este análisis indicó diferencia se aplicó una prueba *posteriori* de Duncan y un valor de $p < 0.05$ se consideró como estadísticamente significativo.

Para el análisis de conducta sexual, se hizo una sumatoria por cada intervalo de edad : el intervalo inicial, que corresponderían a los días 58 al 64 de edad, el intervalo intermedio que corresponderían a los días 70 al 76 de edad y el intervalo final que corresponderían a los días 82 al 88 de edad, estos intervalos se aplicaron para los siguientes parámetros conductuales: número de montas, número de intromisiones, latencia de montas, latencia de intromisiones, latencia de eyaculaciones, intervalo posteyaculatorio y la tasa de eficiencia o hit rate. Para determinar si hubo diferencias significativas intra grupos se aplicó un ANOVA. Cuando este análisis indicó diferencia se aplicó una prueba *posteriori* de Duncan y un valor de $p < 0.05$ se consideró como estadísticamente significativo.

RESULTADOS.

Pesos Corporales.

No se encontró un efecto importante de la malnutrición prenatal, sobre el peso corporal de los animales controles y malnutridos. Los sujetos de ambos grupos mostraron un incremento gradual de su peso conforme avanzaba la edad.

Tabla. Media ± 2 ES de los pesos corporales (en gramos) por semana en ambos grupos.

EDAD	CONTROL	MALNUTRIDO
21	46 \pm 2.8 grs	50 \pm 3.1 grs
28	73 \pm 3.6 grs	81 \pm 4.1 grs
35	126 \pm 13.7grs	138 \pm 5.3 grs
42	168 \pm 6.3 grs	171 \pm 5.9 grs
49	208 \pm 6.5 grs	214 \pm 7.1 grs
56	256 \pm 6.1 grs	250 \pm 8.0 grs
63	288 \pm 7.1 grs	283 \pm 8.4 grs
70	321 \pm 8.6 grs	315 \pm 9.8 grs
77	332 \pm 12.7grs	331 \pm 10.4grs
84	333 \pm 13.2grs	333 \pm 9.5grs

ACICALAMIENTO GENITAL.

- **Frecuencia AG.**

En la figura 5 se muestra el patrón de desarrollo de la frecuencia del AG que los sujetos de los diferentes grupos mostraron en los seis intervalos de edad. En términos generales, ambos grupos GCo y GMPr mostraron un incremento gradual de la frecuencia de AG a través de los días alcanzando valores máximos a los 45-47 días de edad. El análisis estadístico mostró diferencias significativas entre grupos sólo en tres intervalos de edad, en el primer intervalo 25-27 días de edad ($t = -1.577$; $p < 0.05$), en el segundo intervalo 29-31 días de edad ($t = -1.625$; $p < 0.05$), y en el tercer intervalo 45-47 días de edad ($t = -3.057$; $p < 0.05$) en los cuales los sujetos del GMPr mostraron una mayor frecuencia de AG con respecto al GCo. En los demás intervalos de edad, solo se muestra una tendencia.

FRECUENCIA AG

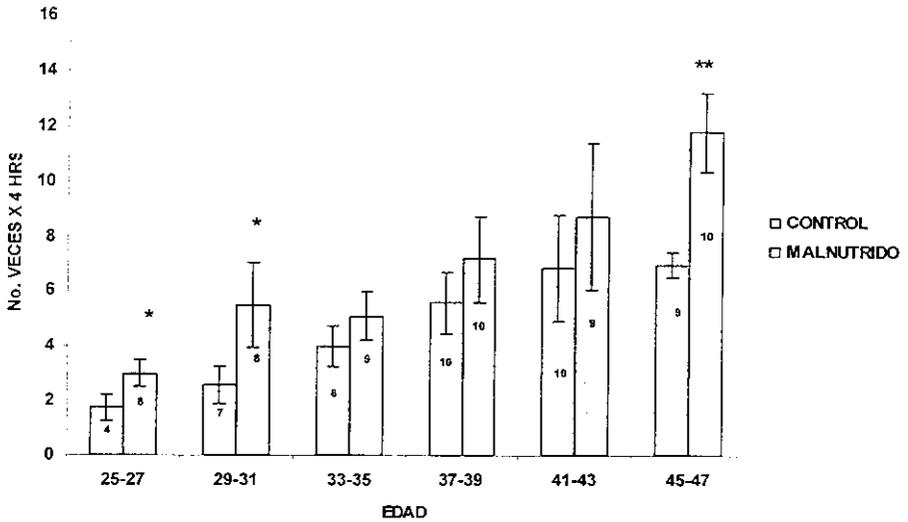


Figura. 5. Patrón de desarrollo de la frecuencia de AG a través de los días de registro en ambos grupos. Los datos obtenidos por los seis intervalos de edad fueron obtenidos al sumar la frecuencia de AG de todos los sujetos por cada intervalo correspondiente. Los resultados son medias $\pm 2ES$. Los números dentro de cada barra representan el número de sujetos a partir del cual se calculó la media.

* $p < 0.05$ significativamente mayor con respecto al GCo.

** $p < 0.01$, significativamente mayor con respecto al GCo.

- **Duración AG.**

En la figura 6 se muestra el patrón de desarrollo de la duración del AG que los sujetos de los diferentes grupos mostraron en los seis intervalos de edad. En terminos generales, ambos grupos GCo y GMPr mostraron un incremento gradual de la duración de AG a través de los días alcanzando valores máximos a los 41-43 días de edad.. El análisis estadístico mostró diferencias significativas entre grupos sólo en un intervalo de edad, en el cual los sujetos del GMPr mostraron un pico de mayor duración de AG a los 29-31 días de edad ($t = -2.537$ $p < 0.05$). Aunque a los 37-39 y 41-43 días de edad se observa una tendencia a mostrar una mayor duración de AG el GCo, está diferencia no alcanzó a ser estadísticamente significativa.

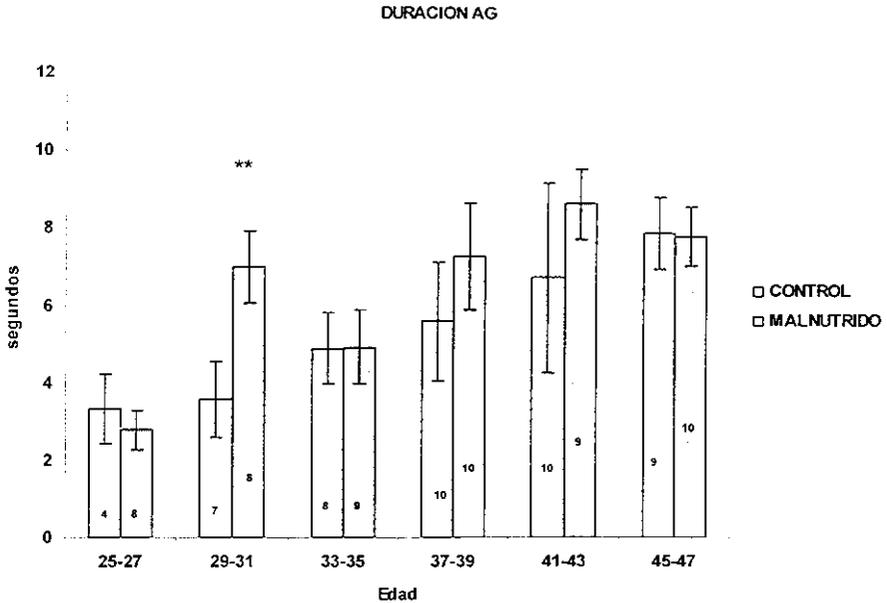


Figura 6. Patrón de desarrollo de la duración de AG a través de los días de registro en ambos grupos. Los datos obtenidos por los seis intervalos de edad fueron obtenidos al sumar la frecuencia de AG de todos los sujetos por cada intervalo correspondiente. Los resultados son medias $\pm 2ES$. Los números dentro de cada barra representan el número de sujetos a partir del cual se calculó la media.

** $p < 0.05$. significativamente mayor con respecto al GCo.

ERECIONES PENEANAS ESPONTANEAS

- **Frecuencia EPE.**

En la Figura 7 se muestra el patrón de desarrollo de la frecuencia de EPE que los sujetos de ambos grupos mostraron en los diferentes días de registro. Ambos grupos GCo y GMPr mostraron un incremento gradual de la frecuencia de EPE a través de los días alcanzando valores máximos a los 45-47 días de edad. El análisis estadístico mostró diferencias significativas entre grupos sólo en un intervalo de edad, en el cual los sujetos del GMPr mostraron un pico de mayor frecuencia de EPE a los 37-39 días de edad ($t = -1.940$ $p < 0.05$) con respecto al GCo.

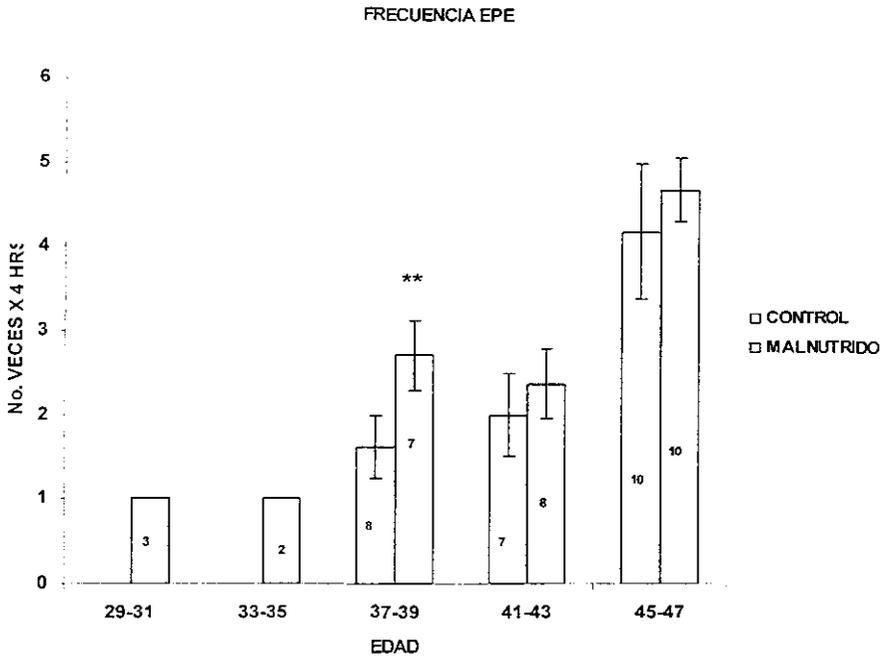


Figura 7. Patrón de desarrollo de la frecuencia de EPE a través de los días de registro en ambos grupos. Los datos obtenidos por los cinco intervalos de edad fueron obtenidos al sumar la frecuencia de EPE de todos los sujetos por cada intervalo correspondiente. Nótese que el GMPr manifestó EPE desde los primeros intervalos de edad. Los resultados son medias $\pm 2ES$. Los números dentro de cada barra representan el número de sujetos a partir del cual se calculó la media.

** $p < 0.05$. significativamente mayor con respecto al GCo.

- **Duración EPE.**

En la Figura 8 se muestra el patrón de desarrollo de la duración de EPE que los sujetos de ambos grupos mostraron en los días de registro. Ambos grupos GCo y GMPr mostraron un incremento gradual de la duración de EPE a través de los días alcanzando valores máximos a los 45-47 días de edad. El análisis estadístico mostró diferencias significativas entre grupos solo en un intervalo de edad, en el cual los sujetos del GMPr mostraron un pico de mayor duración de EPE a los 45-47 días de edad ($t = -2.375$ $p < 0.05$) con respecto al GCo.

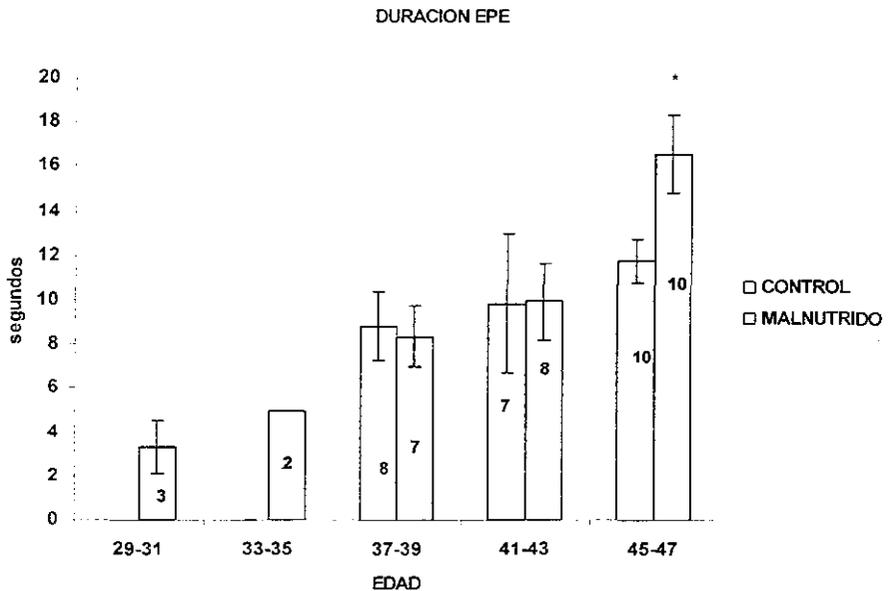


Figura 8. Patrón de desarrollo de la duración de EPE a través de los días de registro en ambos grupos. Los datos obtenidos en los cinco intervalos de edad fueron obtenidos al sumar la duración de EPE de todos los sujetos por cada intervalo correspondiente. Nótese que el GMPr manifestó EPE desde primeros intervalos de edad con respecto al GCo. Los resultados son medias $\pm 2ES$. Los números dentro de cada barra representan el número de sujetos a partir del cual se calculó la media.

* $p < 0.05$. significativamente mayor con respecto al GCo.

Edad de Inicio del Acicalamiento Genital (AG) y de las Erecciones Peneanas Espontaneas (EPE).

En la tabla 3, se muestra la media \pm ES de la edad de inicio de la conducta de AG y EPE en ambos grupos. El análisis estadístico mostró una diferencia significativa en la ocurrencia de AG, los sujetos del GMPr mostraron una ocurrencia temprana de AG ($t = 1.697$ $p < 0.05$) con respecto al GCo.

En cuanto al análisis estadístico de EPE se encontró que los sujetos del GMPr mostraron una ocurrencia temprana de EPE ($t = 1.926$ $p < 0.05$) con respecto al GCo.

Tabla 3. Media \pm ES de la edad de inicio de la ocurrencia de la conducta de AG y EPE en ambos grupos. Los datos están expresados como días de edad.

	CONTROL	MALNUTRIDO
AG	28.8 \pm 1.05 (n-10)	26.4 \pm 0.94 (n-10) *
EPE	39.4 \pm 0.93 (n-10)	36 \pm 1.49 (n-10) *

* $p < 0.05$ respecto al GCo.

En la tabla 4, se muestra la media \pm 2ES de la frecuencia y duración total de AG y EPE en ambos grupos. El análisis estadístico mostró una diferencia significativa en la frecuencia total de AG ($t = -1.983$ $p < 0.05$) y duración total de AG ($t = -2.252$ $p < 0.05$) con respecto al GCo.

En cuanto al análisis de varianza de EPE se encontró que los sujetos del GMPr mostraron una mayor frecuencia total de EPE ($t = -1.489$ $p < 0.05$) y duración total de EPE ($t = -2.285$ $p < 0.05$) con respecto al GCo.

Tabla 4. Media \pm 2ES de la frecuencia y duración (segundos) total de AG y EPE que mostraron los sujetos de cada grupo durante las dos horas de registro efectuadas en los siguientes días de edad (25,27,29,31,33,35,37,39,41,43,45,47).

	CONTROL	MALNUTRIDO
AG		
Frecuencia	24.9 \pm 2.7	38.1 \pm 6.0 **
Duración	15.2 \pm 25.4	280.6 \pm 49.0 **
EPE		
Frecuencia	6.9 \pm 1.2	9.0 \pm 0.6 *
Duración	74.0 \pm 16.9	119.7 \pm 10.6 **

* $p < 0.05$ significativamente mayor con respecto al GCo.

** $p < 0.01$. significativamente mayor con respecto al GCo.

SEPARACIÓN PREPUCIAL

La edad de ocurrencia de la SP en ambos grupos, no mostró diferencias significativas. En promedio, los sujetos del GCo presentaron la separación prepucial completa a los 48 días de edad mientras que los sujetos del GMPr la presentaron a los 47 días de edad.

CONDUCTA SEXUAL

En la tabla 5, se muestra la media y error estándar de la edad de inicio de los parámetros copulatorios (monta, intromisión y eyaculación) en ambos grupos. El análisis estadístico no mostró diferencias significativas.

Tabla 5. Media \pm 2error estándar de la edad de inicio de los parámetros copulatorios en ambos grupos.

	CONTROL	MALNUTRIDO
Monta	62 \pm 2.45 (n-10)	61.8 \pm 1.34 (n-10)
Intromisión	62.28 \pm 4.30 (n-7)	65.11 \pm 3.83 (n-9)
Eyaculación	59.33 \pm 0.98 (n-6)	66.22 \pm 4.18 (n-9)

Para hacer un análisis más detallado de la ejecución sexual, se procedió a analizar cada uno de los parámetros copulatorios a diferentes intervalos de edad, considerando que el desarrollo y la experiencia sexual son factores que repercuten sobre la ejecución sexual.

Los registros de conducta sexual iniciaron desde los 42 días de edad se establecieron los siguientes intervalos de edad: 58-64, 70-76 y 82-88 días de edad.

Los sujetos del grupo malnutrido mostraron una edad de inicio similar de las respuestas de M (montas) e I (intromisiones), estos presentaron un menor número de intromisiones para llegar a la eyaculación a la edad de 58-64 días de edad, pero a edades mayores (70-76 y 82-88 días de edad), se mostró un incremento en la latencia de intromisión y un mayor IPE. (Tabla. 7)

Uno de los resultados más interesantes de este trabajo es que la eficacia sexual determinada por el cálculo del Hit Rate fue muy baja en ambos grupos. No obstante, esta baja eficacia sexual ya ha sido reportado en otros trabajos efectuados en la cepa *Sprague-Dawley* (Hall y cols 1982).

Tabla 7. Media \pm 2ES de los diferentes parámetros copulatorios en tres intervalos de edad de los diferentes grupos.

	GRUPO CONTROL			GRUPO MALNUTRIDO		
	58-64	70-76	82-88	58-64	70-76	82-88
No M	17.2 \pm 4.6	11.5 \pm 3.4	9.5 \pm 3.4	13.3 \pm 3.9	9.4 \pm 2.0	10.7 \pm 2.1
No. I	20.7 \pm 4.5	13.9 \pm 2.1	10.4 \pm 2.4	11.3 \pm 2.7 *	11.5 \pm 2.2	11.5 \pm 2.2
Lat. M	343.8 \pm 88.4	292.1 \pm 85.7	298.0 \pm 92.7	327.4 \pm 62.7	314.9 \pm 45.5	272.3 \pm 34.7
Lat. I	387.4 \pm 68.4	319.6 \pm 117.2	320.0 \pm 64.6	558.4 \pm 85.4	545.9 \pm 79.9 [¶]	502.2 \pm 70.7 [¶]
Lat. E	1085.5 \pm 155.9 (n-5)	592.3 \pm 131.1 (n-5)	561.3 \pm 109.1 (n-6)	987.0 \pm 163.4 (n-7)	571.4 \pm 50.6 (n-8)	547.8 \pm 151.7 (n-9)
IPE	583.5 \pm 49.0	332.4 \pm 56.5	338.2 \pm 87.5	530.8 \pm 41.2	408.1 \pm 20.3	593.8 \pm 84.3 **
HR	0.3 \pm 0.07	0.3 \pm 0.06	0.2 \pm 0.04	0.2 \pm 0.44	0.3 \pm 0.04	0.3 \pm 0.04

* p < 0.05 significativamente menor respecto al intervalo 58-64 del GCo .

[¶] p<0.05 significativamente mayor respecto a los intervalos 70-76 y 82-88 del GCo.

** p < 0.05. significativamente mayor respecto al intervalo 82-88 del GCo.

DISCUSIÓN.

La malnutrición prenatal no afectó el peso corporal de los sujetos ni la edad de ocurrencia de la separación prepucial, sin embargo, provocó un inicio temprano así como una mayor frecuencia y duración de AG y EPE, disminuyó el número de intromisiones necesarias para lograr la eyaculación a edades tempranas y a edades mayores incrementó la latencia de intromisión así como la duración del intervalo posteyaculatorio, aunque un mayor número de sujetos malnutridos presentaron eyaculación.

Así, los presentes resultados muestran que la malnutrición prenatal ejerce efectos diferenciales sobre los índices conductuales de maduración sexual relacionados con la pubertad, facilitándolos, y sobre la conducta sexual per sé, donde sólo afecta algunos parámetros copulatorios de la rata macho.

La gran mayoría de trabajos que se han efectuado para estudiar la ocurrencia de la pubertad en la rata macho, se han basado en la ocurrencia de la separación prepucial como un indicador morfológico de tal proceso (Stoker y cols 2000). Este parámetro morfológico ha sido considerado como un verdadero indicador no invasivo de la pubertad y del estado hormonal de la rata (Gaytan y cols, 1988) y se ha sugerido que es un requisito para que la rata macho pueda realizar la eyaculación (Sachs y Meisel, 1979; Sachs, 1983). La separación prepucial completa ocurre normalmente a una edad promedio de 44-45 días en ratas *Long Evans* y *Sprague-Dawley* (Korenbrodt y cols, 1977). Hernández-González (2000) reportó una edad similar de la ocurrencia de separación prepucial en ratas *Wistar*. En este estudio, encontramos que los sujetos *Sprague-Dawley* presentaron una edad promedio de separación prepucial similar a las anteriores dos cepas de ratas (entre los 47 y 48 días de edad), y que la malnutrición prenatal no afectó este índice de la pubertad de la rata. Esta carencia de efecto de la malnutrición prenatal sobre la separación prepucial pudiera deberse a que inmediatamente después del nacimiento, los sujetos fueron alimentados por una madre con dieta normal, de tal manera que ellos recibieron una dieta adecuada así como los cuidados y estimulación por parte de la madre que son tan

necesarios en esa etapa crítica del desarrollo. Se ha descrito que la estimulación genital (lamido de pene y región anogenital) que prodiga la rata madre a los críos durante la lactancia, así como el autoacicalamiento genital que los machos muestran durante la infancia (Moore, 1984) juega un papel crítico en el buen desarrollo de los órganos genitales, así como en la eficacia sexual que muestran los sujetos cuando adultos (Moore, 1984; Hdez-Glez, 2000). Así, ya que los sujetos malnutridos presentaron mayor acicalamiento genital, es probable que esta autoestimulación, junto con la instalación de una dieta normal, compensara los posibles efectos deletéreos que pudiera haber ocasionado la malnutrición prenatal sobre los procesos fisiológicos que modulan la separación prepuberal.

La frecuencia y duración del AG que mostraron los sujetos de ambos grupos se incrementó gradualmente hasta alcanzar los valores máximos a los 47 días de edad. Un patrón de desarrollo similar fue observado en la frecuencia y duración de las EPE, aunque en términos generales el inicio de esta conducta apareció más tarde que el AG. Estos resultados coinciden con los reportados por Sachs y Meisel (1979) así como los de Hernández-González (2000) efectuados en ratas de la cepa *Wistar*, y confirman que ambas cepas de ratas muestran un patrón de desarrollo similar de tales índices de maduración sexual.

No obstante, si bien se encontró en este estudio que el patrón de desarrollo del AG y de las EPE fue similar en ambos grupos, fue evidente que las ratas *Sprague-Dawley* tanto control (39 días de edad) como malnutridas (36 día de edad) mostraron una edad de inicio de EPE mucho más temprana que la reportada en ratas *Wistar* (44 días de edad) (Hernández-González, 2000).

Existen reportes de que la exposición a ambientes novedosos y estrés ((Moore, 1986; Colbern y cols., 1978), la ingesta de alcohol (Hernández-González, 2000, Hernández-González y cols., 2004) así como la desnutrición postnatal incrementan la ocurrencia de acicalamiento corporal y genital (Salas y cols, 1991).

En este sentido, nuestros resultados coinciden con los anteriores estudios que han mostrado un aumento del autoacicalamiento, sugiriendo que en la rata la malnutrición, al igual que otro tipo de manipulaciones farmacológicas (incremento en niveles hormonales) (Moore, 1984,1986), sociales (aislamiento, agresividad,

etc) (Almeida y cols., 1996; Franková, 1973) y/o ambientales (Reuben, 1981), pueden interferir con la ontogenia de los mecanismos neurales que modulan la conducta de acicalamiento (Larsson, 1956; Leathem, 1966; Loranca y Salas, 1999; McIntosh, 1984). Asimismo, estos resultados muestran que la malnutrición prenatal provoca cambios conductuales que prevalecen hasta la edad adulta, lo cual probablemente se deba al efecto de la malnutrición sobre los mecanismos centrales y/o periféricos implicados en las conductas de acicalamiento genital y erecciones peneanas espontáneas.

Se ha reportado que la malnutrición afecta no solo la ejecución de conductas voluntarias, sino también la citología y conexiones sinápticas de estructuras neurales como el hipocampo, el rafé dorsal, el locus coeruleus y la corteza visual (Díaz-Cintra y cols., 1981; 1984; 1990; 1991). Así, es probable que el incremento del AG y de las EPE en los animales con malnutrición prenatal, quizá resulte de la interferencia en el proceso de desarrollo y maduración normal de estructuras neurales tales como el núcleo accumbens y la amígdala, estructuras neurales que como ha sido demostrado en otros estudios, han sido involucradas en la modulación del auto-acicalamiento y de las erecciones sin contacto, respectivamente (Cooke et al 2000; Berridge and Fentress, 1987).

Se ha mostrado que las crías macho que reciben más acicalamiento genital durante la lactancia presentan mayor tamaño y peso de la próstata y vesículas seminales así como muestran un inicio más temprano y mejor ejecución sexual cuando adultos. Similarmente, aquellos machos que presentan mayor autoacicalamiento genital y erecciones peneanas espontáneas durante su desarrollo son los sujetos que tienen mejor eficacia sexual en la edad adulta (Hernández-González, 2000).

En base a los anteriores antecedentes, nosotros esperaríamos que los sujetos malnutridos, al presentar una mayor frecuencia y duración de AG y EPE mostrarían por tanto una mejor ejecución sexual cuando adultos. No obstante, los diferentes análisis estadísticos de los parámetros de conducta sexual pusieron en evidencia que los distintos componentes de ejecución sexual de la rata macho mostraron efectos diferenciales.

En este estudio, observamos que la malnutrición prenatal no afectó la edad de inicio de la actividad copulatoria, sin embargo, ejerció un efecto dual sobre la conducta sexual: por un lado ejerció un efecto negativo al incrementar la latencia de intromisión (entre los 70 y 88 días de edad) y la duración del intervalo posteyaculatorio (a los 82-88 días de edad), pero por el otro lado, ejerció un efecto facilitador sobre el número de intromisiones (a los 58-64 días de edad, los sujetos malnutridos requirieron menos intromisiones para lograr la primera eyaculación) y sobre la capacidad de eyaculación de los sujetos, ya que un mayor número de ellos lograron eyacular (9/10), a diferencia de los sujetos controles (6/10). (Tabla. 7)

Explicar el por qué de estos resultados diferenciales de la malnutrición prenatal sobre la conducta sexual es difícil, no obstante, es importante mencionar que se ha descrito que el efecto de la malnutrición o nutrición inadecuada depende de diversos factores: 1) del tipo de desnutrición o malnutrición que fue utilizado; 2) del periodo de desarrollo del organismo en que se produce tal alteración nutricional; 3) de la duración de la alteración nutricional y 4) del grado o severidad del insulto nutricional. (Morgane y cols, 1993)

Así pues, como fue descrito en los antecedentes, la mayoría de trabajos en los cuales se ha evaluado el efecto de la desnutrición o malnutrición sobre la conducta sexual, mencionan que la nutrición inadecuada altera en mayor o en menor grado la ejecución sexual de diversas especies (ovejas, ratas, humanos) (Alejandro y cols, 2002; Benjamín y cols, 1983; Botella, 1982; Kirkwood y cols.1987; Hernandez- González y cols, 2005 Merry y Holehan, 1979). En un trabajo realizado por Larsson (1974) se reportó que sujetos expuestos a desnutrición presentan un retraso de la maduración sexual; asimismo, se ha descrito que ratas macho desnutridos de 95 días de edad muestran una deficiencia en las respuestas de la conducta copulatoria; manifestada por un mayor número de intromisiones que preceden a la eyaculación así como por una mayor duración del intervalo posteyaculatorio (Hall y cols., 1982).

En este estudio, los sujetos malnutridos presentaron un menor número de intromisiones para alcanzar la primera eyaculación pero sólo en los primeros días posteriores al inicio de la cópula (intervalo 58-64 días de edad), para posteriormente comportarse de forma similar a los controles. En general, los principales parámetros afectados adversamente por la malnutrición fueron la latencia de I y la duración del IPE, lo cual en conjunto podría indicar un efecto adverso de la malnutrición sobre la conducta sexual. Sin embargo, a pesar de que los sujetos malnutridos tardaron más para lograr la primera incursión peneana y para reanudar una segunda serie copulatoria (lograr la inserción peneana de una segunda serie), fue mayor el número de sujetos malnutridos que lograron eyacular (90%) respecto a los sujetos control (60%).

Estos resultados contradictorios coinciden con los reportados por Hall y cols. (1982), quien mostró que un mayor número de ratas macho Sprague-Dawley malnutridas durante toda la gestación y lactancia lograron eyacular y mostraron una mayor tasa de intromisión (IR) respecto a los sujetos control, pero requirieron un mayor número de intromisiones para eyacular.

Así pues, uno de los resultados más interesantes de este trabajo es que la malnutrición prenatal indujo un parcial efecto facilitador sobre el AG y las EPE, así como una mayor incidencia y ocurrencia de eyaculaciones en los sujetos. La ocurrencia de los índices conductuales de maduración sexual, es decir, del AG y de las EPE es dependiente de hormonas, (Sachs y Meisel, 1979; Sachs, 1983) y se ha mostrado que el incremento de la ocurrencia de estas conductas es directamente proporcional al incremento de los niveles de testosterona, la cual alcanza su pico de mayor concentración plasmática alrededor de los 50-52 días de edad. La castración lleva a una disminución de la ocurrencia de AG, de EPE así como de la conducta sexual. (Sachs y Meisel 1979; Sachs 1983).

Por otro lado, existen reportes de que la malnutrición provoca deficiencias en la función gonadal (Grewal y cols., 1971), sin embargo, otros estudios han mostrado que en ratas malnutridas pre y postnatalmente se presentan niveles anormalmente elevados de testosterona, elevación que es mantenida hasta edades adultas (Svare y Forbes, citado en Hall y cols., 1982; , Merry y Holehan,

1981). En base a lo anterior, es probable pensar que estos efectos diferenciales observados por la malnutrición prenatal sobre los parámetros copulatorios pudieran deberse a alteraciones de los niveles de andrógenos, alteraciones que pudieran haber repercutido de forma diferente sobre los parámetros copulatorios. Aunque en el presente trabajo no se realizó una medición de los niveles hormonales, es probable pensar que en las ratas malnutridas se presentó una mayor ocurrencia de AG, EPE y eyaculaciones como resultado de una mayor concentración de testosterona en estos animales, pero que a ciertas edades aún a pesar de estas elevadas concentraciones de andrógenos, los sujetos mostraron deficiencias en su habilidad para lograr la inserción peneana o bien, que los niveles de andrógenos cambiaron a lo largo del desarrollo como consecuencia de la disfunción gonadal y por tanto, la ejecución de los parámetros sexuales también cambió.

Otra posible explicación a estos efectos diferenciales es que la malnutrición prenatal esté afectando los mecanismos neurales periféricos encargados de la erección peneana (tales como la inervación simpática y parasimpática, que regulan el flujo sanguíneo así como la contracción de músculos liso y estriado del pene) (Meisel y Sachs, 1994). Otra posibilidad sería que como consecuencia de la malnutrición, la actividad motora gruesa presentara alteraciones a ciertas edades, de tal forma que aunque el sujeto lograra montar a la hembra y presentara erección penenana, una probable incoordinación motora evitara que el macho lograra la inserción vaginal y por tanto, se incrementara la latencia de intromisión y el intervalo posteyaculatorio a edades mayores. Algunos estudios han reportado datos de incoordinación motora (Morgane, 1993), sin embargo, otros investigadores no han encontrado evidencia de disfunción motora por malnutrición (Morgane, 1993) pag 119 de Neurosc. Biobehav, Rev.

Se ha reportado que la malnutrición hipoproteínica crónica, es decir, desde antes de la gestación y durante toda la gestación y lactancia, provoca efectos citológicos y conductuales mucho más graves que los provocados por la malnutrición prenatal. De tal forma que las alteraciones morfológicas, hormonales

y conductuales no son tan severas como los inducidos por malnutrición pre o postnatal. (Morgane, 1993)

En este estudio se utilizó un método de malnutrición hipoproteínica que se instaló en las ratas desde cinco semanas previas a la preñez, ya que es importante mantener este periodo previo de malnutrición con el propósito de restablecer el equilibrio metabólico impuesto a las hembras por la dieta hipoproteínica antes de la gestación, además de asegurar que el daño que está sufriendo el feto sea específico por la malnutrición sin involucrar componentes de estrés nutricional de la madre (Tonkiss 1990; 1991; 1993; 1998). Así pues, es probable que las alteraciones observadas en la conducta sexual de la rata macho malnutridas resulten de las alteraciones hormonales y/o neurales, que ya han sido reportadas en otros estudios, (Morgane, 1993) alteraciones que probablemente fueron parcialmente subsanadas por la rehabilitación nutricional postnatal.

Esta sugerencia puede ser apoyada por varios reportes en los cuales se ha mostrado que una restitución nutricional adecuada así como un medio sensorial enriquecido pueden, en algunos casos, aliviar parcial o totalmente los daños inducidos por la malnutrición, siempre y cuando el daño no haya sido tan severo que haya provocado efectos inexorables sobre la neurogenesis, gliogénesis y procesos de migración y diferenciación. (Morgane, 1993)

Como ejemplo de estos trabajos de recuperación posterior a malnutrición, podemos mencionar el trabajo realizado por Onodera y Kisara (1978), donde el proceso de erección peneana persistente inducido por una dieta deficiente en tiamina fue revertido por la instalación de una dieta rica en tiamina; resultados similares fueron reportados por Gruhn y Elmadfa en 1980, utilizando una dieta hipoproteínica.

Varios reportes han mostrado que la malnutrición hipoproteínica pre y postnatal produce una reducción en el peso y tamaño corporal de la rata (Durán, 1995; Greene, 1977; Morgane y cols., 1993; Tonkiss, 1990; 1991;1993; 1998). En los animales empleados en este estudio que tuvieron rehabilitación nutricional postnatal se observó una recuperación completa de peso y tamaño corporal con respecto con los animales controles. Al comienzo del presente estudio era notable

a simple vista la diferencia en peso y tamaño de los animales malnutridos con respecto a los controles, pero desde una edad de 45 días, ya no fueron evidentes las diferencias.

Así pues, los presentes resultados parecen indicar que la malnutrición hipoproteínica instalada específicamente durante la gestación ejerce un efecto facilitador sobre los índices conductuales de maduración sexual y sutiles efectos diferenciales sobre los parámetros copulatorios de la rata macho malnutrida prenatalmente.

El hecho de que una mayor proporción de sujetos malnutridos mostrara eyaculación y que presentaran, a ciertas edades, un menor número de intromisiones para lograr la eyaculación, indicarían un posible efecto de recuperación a los daños ejercidos por la malnutrición prenatal, no obstante, el hecho de que presenten una mayor latencia de intromisión y una mayor duración del IPE, podría indicar que esta recuperación nutricional postnatal no fue suficiente para subsanar por completo las alteraciones que a largo término fueron inducidas por la malnutrición prenatal sobre la ejecución copulatoria.

Quedan pues muchas dudas por aclarar en este trabajo, dudas que podrán ser resueltas investigando en estudios posteriores, el efecto de la malnutrición prenatal sobre la función gonadal y niveles hormonales en relación a la edad, sobre los componentes motores gruesos del acicalamiento genital y de las respuestas copulatorias (movimientos pélvicos de las respuestas de M, I y E), así como sobre las respuestas reflejas peneanas.

En resumen, los resultados de este trabajo muestran que la malnutrición hipoproteínica prenatal ejerce un efecto facilitador sobre los índices conductuales de maduración sexual, y confirma estudios previos en los cuales se ha mostrado que los efectos de la malnutrición prenatal sobre los distintos parámetros copulatorios son distintos, lo cual sugeriría que los mecanismos fisiológicos que fundamentan tales conductas relacionadas con el desarrollo y manifestación sexual son distintos y tienen, por tanto, diferente sensibilidad a los efectos de la malnutrición hipoproteínica prenatal.

Nuestros datos reflejan que los efectos de la malnutrición hipoproteínica prenatal sobre los índices conductuales de maduración sexual y de ejecución sexual per se son distintos, y enfatizan además, la importancia de estudiar interdisciplinariamente los efectos de la malnutrición en las diferentes etapas críticas del desarrollo de la rata macho.

CONCLUSIONES.

El análisis detallado de los índices de maduración sexual así como de la ejecución copulatoria en la rata macho permitió determinar que la malnutrición hipoproteínica prenatal provoca efectos diferenciales sobre ellos.

La malnutrición hipoproteínica prenatal provocó un efecto facilitador sobre los índices conductuales de maduración sexual, manifestándose en un incremento de la frecuencia y la duración del acicalamiento genital y de las erecciones peneanas.

En la ejecución copulatoria, la malnutrición hipoproteínica prenatal provocó efectos diferenciales: por un lado un efecto facilitador manifestado por la reducción en el número de intromisiones necesarias para lograr la eyaculación y por el mayor número de sujetos que lograron eyacular, mientras que por otro lado también provocó efectos adversos, manifestados por una mayor latencia de intromisión y un mayor intervalo posteyaculatorio, sin afectar la edad de inicio de la conducta sexual ni otros parámetros copulatorios, como la latencia de montas, latencia de intromisión y intervalo posteyaculatorio.

Es probable que los mecanismos fisiológicos tales como la regulación hormonal y maduración de estructuras nerviosas que fundamentan tales conductas relacionadas con el desarrollo y manifestación sexual sean distintos y tienen, por tanto, diferente sensibilidad a los efectos de la malnutrición hipoproteínica prenatal.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

Agmo A. (1997). Male rat sexual behavior. *Brain Research Protocols*. 1:203-209.

Alejandro B, Perez R, Pedrana G, Milton JT, Lopez A, Blackberry M.A, Duncombe G, Rodriguez-Martinez H, Martin G.B.(2002). Low maternal nutrition during pregnancy reduces the number of Sertoli cells in the newborn lamb. *Reproduction, Fertility and Development*. 14 :333-337.

Almeida S.S, Tonkiss J, Galler J.R. (1996). Prenatal protein malnutrition affects the social interactions of juvenile rats. *Physiology and Behavior*. 60 :197-201.

Baum M.J. (1972). Precocious mating in male rat following treatment with androgen or estrogen. *Journal Comparison Physiology Psychology* 78 :356-367.

Beach F.A, Holz A.M. (1946). Mating behavior in male rats castrated at various ages and injected with androgen. *Journal Experiments Zoology* 101: 91-142

Benjamin L, Hart, Patrick, Melese D Hospital (1983). Penile mechanisms and the role of the striated penile muscles in penile reflexes. *Physiology Behavior*. 31:807-813.

Berridge, K.C.; Fentress, J. C. (1987) Disruption of natural grooming chains after striatopallidal lesions. *Psychobiology*. 15: 336-342.

Beyer C, Contreras J,L, Larsson J, Olmedo M, Morali G. (1981). Patterns of Motor and Seminal Vesicle Activities During Copulation in the Male Rat. *Physiology & Behavior*. 29: 459-500.

Botella L. J. (1982) *Endocrinología de la mujer*. Tomo I. 6ta Edición española, Editorial científico-técnica. 61-63.

Bindra, D.; Spinner, N. (1958) Responses to different degree of novelty. The incidence of various activities. *Journal Experimental Anal. Behavior*. 1: 341-350.

Cintra L., Durán P., Guevara M. (2001) Relaciones funcionales hipocampo-corteza en la rata malnutrida. *Temas selectos de Neurociencias II, casa abierta al tiempo, programa Universitario de Investigación en salud*. 119-138.

Cintra L. Durán P., Guevara M.A., Aguilar A., Castañon Cervantes O. (2002). Pre and Post-natal Protein Malnutrition Alters the Effect of Rapid Eye Movements Sleep deprivation by the Platform technique upon the Electroencephalogram of the Circadian Sleep wake Cycle and its Frequency Bands in the Rat. *Nutritional Neuroscience*. 5:91-101.

Clegg E.J. (1960). The age at which male rat become fertile. *Reproduction Fertil.* 1:119-120.

Colbern, D. L.; Isaacson, R. L.; Green, E. J.; Gispen, W. H. (1978) Repeated intraventricular injections of ACTH 1-24: The effects of home or novel environments on excessive grooming. *Behavior Biology.* 23: 381-387.

Cooke, B.M.; Chowanadisai, W.; Breedlove, S. M. (2000) Post-weaning social isolation of male rats reduces the volume of the medial amygdala and leads to deficits in adult sexual behavior. *Behavior Brain Res.* 117:107-113.

Cumming, D.C. Wheeler, G.D. Harber, V.J. (1994) Physical activity, nutrition and reproduction, *En Annals of the New York Academy of Sciences.* Nueva York. 709:5576.

Díaz-Cintra. S, Cintra, L Kemper T, Resnick O, Morgane PJ. (1981) The effects of protein deprivation on the nucleus raphé dorsalis: A mophometric Golgi study in rats of three age groups. *Brain Research.* 221:245-255.

Díaz-Cintra. S, Cintra, L Kemper T, Resnick O, Morgane PJ. (1984) The effects of protein deprivation on the nucleus locus coeruleus.: A mophometric Golgi study in rats of three age groups. *Brain Research.* 304:243-253.

Díaz-Cintra. S, Cintra, L Kemper T, Resnick O, Morgane PJ. (1990) Effects of protein deprivation on pyramidal cells of the visual cortex in rats of: three age groups. *Journal Comparative Neurology.* 292:117-126.

Díaz-Cintra. S, Cintra, L Kemper T, Resnick O, Morgane PJ. (1991) Effects of protein deprivation on the postnatal development of granule cells in the fascia dentate. *Journal Comparative Neurology.* 310:356-364.

Durán-Hernández P. (1995). Análisis de la actividad eléctrica cortical antes y después de la privación selectiva de SMOR en ratas normales y malnutridas. Tesis Maestría. Proyecto de Maestría en Ciencias Fisiológicas, UACP y P-CCH, UNAM.

Durán-Hernández P, Pretelín R.J, Cintra-McGlone L. (2005). La condición nutrimental y sus repercusiones sobre conductas motivadas. En: Guevara M.A, Hernández-González H, Chacón L, Barradas J.A. Eds. Aproximaciones al estudio de la motivación y ejecución sexual. Universidad de Guanajuato. Cap. IV:96-108.

Dewsbury D. A. (1979). Description of sexual behavior in research on hormone behavior interactions. In: Beyer c. Ed. *Endocrine control of sexual behavior.* Raven Press. New York . 3-33.

Fleming A.S (1976): Control of food intake in the lactating rat: Role suckling and hormones. *Physiology and Behavior*. 17 : 841-848.

Fox R, Lair W. (1970). *Sexual Cycles*. Cap. 5 Reproduction and Breeding techniques for Laboratory Animal, Hafez E.S.E. Ed. Lea and Feiberg. New Brunswick. 107-122.

Franková, S. (1973). Effects of protein-calorie malnutrition on the development of social behavior in rats. *Development Psychobiology*. 6:33-43.

Glass AR, Anderson J, Herbert D, Vigersky RA.(1984). Growth and reproductive adaptation in male rats with chronic protein deficiency. *Journal Andrology*. 5:99-102.

Greene S L (1977). *Malnutrition, Behavior, and Social Organization*. Ed Academic Press. New York.

Hall R, Leahy P, Robertson W. (1979). The effects of Protein Malnutrition on the Behavior of Rats During the Suckling Period. *Development Psychobiology*. 12:445-466.

Hall R, Feldman B, Flemming J. (1982). The Effect of Protein Malnutrition on the Copulatory Behavior of the Male Rat. *Behavior and Neural Biology*. 35:327-343.

Hart B, Korinek E, Brennan P. (1987). Postcopulatory Genital Grooming in Male Rats: Prevention of Sexually Transmitted Infections. *Physiology and Behavior*. 41:321-325.

Hernández-Gonzalez M (2000) Prepubertal genital grooming and penile erection in relation to sexual behavior of rats. *Physiology Behavior* 71:51-56.

Hernández-González M, Juarez J (2000b) Alcohol before puberty produces an advance in the onset of sexual behavior in male rats. *Alcohol* 21:133-144.

Hernández-González M, Guevara M.A, Durán P. (2004). Aproximaciones al estudio de la corteza prefrontal. Ed. Universidad de Guadalajara. Guadalajara.

Hernández-González M, Rivera K, Oropeza M, Orozco-Suarez S, Arteaga M, Guevara M.A. (2004). Effects of alcohol on behavioral and morphologic indices of sexual maturation in male rats. *Alcohol*. 33: 117-126

Holmgren B. Urbá- Holmgren R. Trucios N. Zermeño M, Eguilbar J.R. (1985). Association of spontaneous and dopaminergic induced yawning and penile erections in the rat. *Physiology Behavior*. 22:31-35.

Kirkwood R.F, Cumming DC, Aherce FX. (1987). Nutrition and puberty in the female. *Proceedings of Nutrition Society*. 46:177-192.

Komorowska J, Pellis M.S. (2004). Regulatory mechanisms underlying novelty-induced grooming in the laboratory rat. *Behavioural Processes*. 1-17.

Kondo Y, Sakuma Y, Tomihara K (1999). Sensory requirements for noncontact penile erection in the rat. *Behavior Neuroscience*. 113. (5): 1062-1070.

Korenbrodt C.C, Huntaniemi I. T, Weiner R.I. (1977). Prepubertal separation as an external sign of pubertal. Development in the male rat. *Biology Reproduction*. 17 :298-303.

Larsson K (1956). Conditioning and sexual behavior in the male albino rat. *Acta Psychologica Gothoburg*. 1:1-269.

Larsson K (1967). Testicular hormone and developmental changes in mating behavior of male rat. *Journal Comparison Physiology Psychology* 63:223-230.

Larsson K (1979). Features of the neuroendocrine regulation of masculine sexual behavior. In C. Beyer Ed. *Endocrine Control of Sexual Behavior*. New York: Raven Press. 77-163.

Leatham. (1966). Nutritional effects on hormone production. *Journal Animal Science*. 25:68-79.

Loranca A, Salas M. (1999). Efectos de la Desnutrición Neonatal y de la Privación Sensorial sobre el Desarrollo del Juego Social en la Rata (*Rattus norvegicus*). *Revista Mexicana de Psicología*. 16(1) : 65-75.

McIntosh T.K. Barfield R.J. Thomas D. (1984). Electrophysiological and ultrasonic correlates of reproductive behavior in the male rat. *Behavior Neuroscience*. 98:110-1103.

Meisel R.I. Sachs B. (1994) The physiology of male sexual behavior. En: Knobil E.M. y Nelly J.D. Eds. *The physiology of reproduction* Raven Press. Ltd . New York 2da. Edición. 3-105.

Menendez-Patterson A, Fernandez S, Flores-Lozano J, Marin B. (1982). Effect of early pre-and postnatal acquired malnutrition on development and sexual behavior in the rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 17:659-664.

Menendez-Patterson A, Fernandez S, Fernández M, Marin B. (1985). Influence of undernutrition during gestation and suckling on development and sexual maturity in the rat. *Journal Nutriology*. 115:1025-1032.

Merry B.J, Holehan A.N. (1979). Onset of puberty an duration of fertility in rats fer restriced diet. *Journal of Reproduction and Fertility*. 57:253-259.

Moore C.L. (1984) Maternal contributions to the development of masculine sexual behavior in laboratory rats. *Development Psychobiology* 17:243- 253.

Moore C.L, Rogers S.A.(1984) Contribution of self-grooming to onset the puberty in male rats. *Development Psychobiology* 17:243-253.

Moore L. C. (1986a) A Hormonal basis for sex differences in the self-grooming of rats. *Hormones and Behavior* 20:155-165.

Moore C. L. (1986b). Sex differences in self-grooming of rats: Effects of gonadal hormones and context. *Physiology Behavior* . 36:451-455.

Morali G (1985). Aspectos sobre la regulación Neuroendocrina de algunos componentes viscerales y motores del comportamiento sexual masculino en la rata. Tesis de Posgrado. UNAM

Morgane J.P, Austin-Lafrance R, Bronzino J, Tonkiss J, Diaz-Cintra S, Cintra L, Kemper T, Galler J. R, (1993). Prenatal Malnutrition and Development of the Brain. *Neuroscience and Biobehavioral Review*. 17:91-128.

Ojeda S.R. Urbanski H.F. (1994). Puberty in the rat. En: Knobil E.M. Y Nelly J. Eds *The Physiology of reproduction*. Raven Press, Ltd. New York. 2da edición. 363-397.

Ojeda S.R, Smith S.S, Urbanski H.F, Aguado L.I. (1980). The onset of female puberty. *Endocrinology Review* 1:228-257.

Ramirez V.D. (1973). Endocrinology of puberty. In R.O. Greep and E.B. Astwood Eds. *Handbook of Physiology*. Washington, American Physiological Society 1-28.

Reuben W. R, Donovan E. F. (1981). Effects of Malnutrition, Maternal Stress, or ACTH Injections During Pregnancy on Sexual Behavior of Male Offspring. *Physiology and Behavior*. 27:879-882.

Roseen LD, Lister PJ, Schwagerl LA, Tonkiss J, McCormick MC, Galler RJ. (2004). Prenatal Protein Malnutrition in Rats Alters the c-Fos Response of Neurons in the Anterior Cingulate and Medial Prefrontal Region to Behavioral Stress. *Nutritional Neuroscience*. 7:281-289.

Sachs B.D. Barfield R.J. (1976). Functional analysis of masculine copulatory behavior in the rat. *Study Behavior*. 7:91-154.

Sachs B.D. Meisel Robert L (1979). Pubertal development of penile reflexes and copulation in male rats. *Psychoneuroendocrinology* 4:287-296.

Sach B.D. (1983). Potency and fertility: hormonal and mechanical causes and effects of penile actions in rats. In J. Balthazart, E. Pröve, & R. Giller. Eds, *Hormones and Behavior in Higher Vertebrates*. 86-110.

Sach B.D. (1988a). The development of grooming and its expression in adult animals. *Ann New York Academic Science* 525 p.p. 1-17.

Sach B.D, Clark J.T, Molloy A.G, Bitran D, Holmes G.M. (1988b). Relation of Autogrooming to Sexual Behavior in Male Rats. *Physiology and Behavior*. 43:637-643.

Salas M, Pulido S, Torrero C, Escobar C. (1991). Neonatal Undernutrition and Self-Grooming Development in the Rat: Long Term Effects. *Physiology and Behavior*. 50:567-572.

Sánchez V M (1999). Inmunocompetencia en la malnutrición proteico-energética. *Alimentación Nutricional Revista Científica Cubana*. 13(2):129-136.

Sprujit B, Van Hoff, Gispen W. (1992). The ethology and neurobiology of grooming behavior. *Physiology Review*. 72:825-852.

Stoker T.E, Parks G.L, Gray E.L. Cooper L.R. (2000). Endocrine- Disrupting Chemical: Prepubertal Exposures and Effects on Sexual Maturation and Thyroid Function in the Male Rat. A Focus on the EDSTAS Recommendations. *Critical Reviews in Toxicology*. 30 :197-252.

Shultz P.L, Galler J.R, Tonkiss J. (1999). Prenatal protein restriction increases sensitization to cocaine-induced stereotypy. *Behavioural Pharmacology*. 10:379-387.

Suskind D, Murthy K K, Suskind M R (1990). The malnourished Child: An Overview. Ed Robert M. Suskind and Leslie Lewinter S. *Nestle Nutrition Workshop Series Raven Press. Ltd . New York*. 19.

Taylor T.G.(1980). Fighting in juvenile rats ant the ontogeny of agonistic behavior. *Journal of Comparative and Physiology Psychology*. 94:953-961.

Taylor T,G, Weiss J, Komitowski, (1983). Reproductive physiology and penile papillae morphology of rats after sexual experience. *Journal Endocrinology*. 98: 155-163.

Tonkiss J, Shukitt-Hale B, Formica R.N, Rocco F.J, Galler R.J. (1990). Prenatal protein malnutrition alters responses to reward in adult rats. *Physiology and Behavior*. 48:675-680.

Tonkiss J, Foster G.A, Galler R.J. (1991). Prenatal protein malnutrition and hippocampal function: partial reinforcement extinction effect. *Brain Research Bulletin*. 27:809-813.

Tonkiss J, Galler J, Morgane J. P, Bronzino J. D, Austin-Lafrance J. (1993). Prenatal Protein Malnutrition and Postnatal Brain Function. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 678:215-227.

Tonkiss J, Shultz P.L, Galler R.J. (1994). An analysis of spatial navigation in prenatally protein malnourished rats. *Physiology and Behavior*. 55:217-224.

Tonkiss J, Almeida S.S, Galler R.J. (1998a). Prenatally malnourished female but not male rats shows increased sensitivity to MK-801 in a differential reinforcement of low rates task. *Behavioural Pharmacology* . 9:49-60.

Tonkiss J, Trzcinska M, Galler R.J. Ruiz-Opazco N, Herrera V.L. (1998b). Prenatal malnutrition-induced changes in blood pressure: dissociation of stress and no stress responses using radiotelemetry. *Hypertension*. 32 :108-114.

Tonkiss J, Bonnie K.E, Hudson J.L, Shultz P.L, Duran P, Galler R.J. (2003). Ultrasonic call characteristics of rat pups are altered following prenatal malnutrition. *Developmental Psychobiology*. 43:90-101.

Young W.C. (1961). The hormones and mating behavior. *Sex and Internal Secretions*. 2:1173-1239.