



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta

Maestría en Ciencias Biológicas

**“CONDUCTA PATERNA Y TESTOSTERONA EN EL
GERBO DE MONGOLIA (*Meriones unguiculatus*)”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

Ana Lilia Martínez Bravo

Co-directores de Tesis

Dra. Juana Alba Luis Díaz

Dra. Leticia Nicolás Toledo

Tutores

Dra. Margarita Martínez Gómez

Dr. René Cárdenas Vázquez

Agradecimientos

Agradezco primero al posgrado CTBC, UAT por darme la oportunidad de realizar la maestría en sus instalaciones.

Así mismo, agradezco a CONACYT (290649) y a PAPIIT (in212113) porque gracias a sus becas pude concluir este trabajo.

Agradezco profundamente a la Dra. Juana A. Luis Díaz y a la Dra. Leticia Nicolás Toledo, por brindarme la oportunidad de realizar el presente trabajo bajo su dirección, por su apoyo, esfuerzo y constructivo interés en el desarrollo de este estudio, por su infinita paciencia y calidad humana, que fueron elementos determinantes para concluir esta tesis, y por despertar mi interés en la investigación. Muchas gracias por todo.

Les doy las gracias a mis tutores la Dra. Margarita Martínez, al Dr. René Cárdenas, Dra. Isabel López, Dra. María de Lourdes Arteaga y al Dr. Amando Bautista, por el tiempo dedicado a la revisión de este trabajo y por sus acertadas sugerencias y aportaciones, que sin duda, mejoraron y enriquecieron este proyecto de tesis.

También manifiesto mi gratitud al Dr. Mario Cárdenas, por su apoyo en la realización de la técnica de RIA.

A mis compañeros de laboratorio de Biología de la Reproducción de la Unidad de Morfología y Función de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, sobre todo a Guillermo Ramos Blancas, por su ayuda y consejos brindados.

Dedicatoria

Les dedico con todo mi amor este trabajo a esas dos personas que siempre me han alentado a luchar por mis sueños hasta volverlos realidad, sin importar que tan difícil parezca conseguirlos, por haberme dado la vida, porque gracias a ustedes he llegado a concluir una ilusión, por su gran apoyo cariño y comprensión que me han brindado en todo momento, por ser un ejemplo a seguir, por creer siempre en mí, porque son y serán parte de mi vida siempre. Gracias papás.

A mis hermanos Daniel y Enrique, por soportarme, apoyarme, tolerarme y por ser mi ejemplo a seguir. Una forma de decirles cuanto los quiero y admiro es dedicándoles este trabajo.

También le dedico este trabajo a mi novio Daniel, quien ha estado apoyándome incondicionalmente, por motivarme a seguir adelante, por su comprensión, por soportarme y estar siempre conmigo en las buenas y en las malas, por brindarme su amor y compartir conmigo todos esos momentos maravillosos. Te agradezco enormemente todo lo que has hecho por mí. Te amo.

A mis mascotas, quienes fueron mi inspiración para estudiar esta carrera, en especial a Mina mi gatita, quien fue mi compañera, durante todas esas desveladas.

A todos mis amigos, por todos esos momentos de locuras, tristezas y enojos que pasamos, gracias por permitirme ser parte de su vida, Los quiero mucho.

Resumen

En el ratón California, la testosterona (T) promueve el comportamiento paterno; este efecto es mediado por la conversión de T a estradiol (E2) por la aromatasa en el área preóptica medial (MPOA). En el gerbo de Mongolia, aunque estudios señalaron que los niveles periféricos de T disminuyen después del nacimiento de las crías, cuando los machos exhiben cuidados paternos. Estudios subsecuentes han indicado que los niveles de esta hormona no disminuyen, cuando los machos de este roedor proporcionan cuidados paternos. El objetivo de este estudio fue determinar si la T participa en la regulación de la conducta paterna del gerbo de Mongolia, así como investigar si esta hormona actúa a través de la conversión a E2 o dihidrotestosterona (DHT). A través de pruebas de selección de conducta paterna se eligieron 70 gerbos vírgenes, agresivos o indiferentes hacia las crías, de los cuales 40 machos fueron castrados bilateralmente, de estos 10 fueron implantados con T, 10 con E2, 10 con DHT. Otros 30 fueron utilizados para simulación del procedimiento. Después de estos tratamientos se realizaron nuevamente pruebas de conducta paterna, al término de estas pruebas se extrajeron muestras sanguíneas para cuantificar los niveles de T en plasma por RIA. El 100% de animales tratados con T o E2 exhibieron conducta paterna, a pesar de que en la primera exposición a las crías la mayoría fueron agresivos. La administración de DHT aunque no indujo actividades centrales de la conducta paterna, como el abrigo, fue capaz de inhibir la conducta agresiva o de indiferencia hacia las crías. Estos resultados sugieren que la T, probablemente a través de su conversión a E2 está involucrada en el inicio de la conducta paterna del gerbo de Mongolia.

Abstract

In the California mouse testosterone (T) promotes paternal behavior; this effect is mediated by the conversion of T to oestradiol (E2), by aromatase in the medial preoptic area (MPOA). In the Mongolia gerbil some studies reported that peripheral T levels decrease after birth of the offspring, when males exhibit paternal care. However, subsequent studies have indicated that T levels do not decrease when the males provide parental care. The aim of this study was to determine whether testosterone is involved in the regulation of paternal behavior, as well as to investigate, whether this hormone acts via conversion to E2 or dihydrotestosterone (DHT) in the Mongolian gerbil. After a screen test of paternal behaviour we choose 70 virgin gerbils that showed aggression or indifference toward pups. 40 gerbils were castrated bilaterally, of these, 10 received testosterone implants, 10 E2 implants, 10 DHT implants, the other 30 were sham operated. After treatment, the animals were tested for paternal behavior. A 100% of animal treated with T or E2 exhibited paternal behavior despite the fact that in the first exposure to pups most of them were aggressive. DHT, though it did not induce parental activities, like huddling, it do inhibited aggressive or indifference behavior toward pups. These results suggest that T is involved in the regulation of paternal behavior in the Mongolian gerbil probably trough its conversion to oestradiol.

INDICE	Pág.
1.0 INTRODUCCIÓN	1
1.1 Evolución de la conducta paterna	2
1.2 Factores que regulan la conducta paterna	4
1.2.1 Organización social y experiencia	4
1.2.2 Factores Hormonales	5
1.2.2.1 Prolactina	6
1.2.2.2 Progesterona	7
1.2.2.3 Vasopresina y Oxitocina	7
1.2.2.4 Glucocorticoides	8
1.2.2.5 Testosterona	8
1.2.3 Factores neurales	11
1.2.3.1 Área Preóptica Media (MPOA)	12
1.2.3.2 Amígdala y Sentido del Olfato	13
1.4 Diferencias Entre Sexos	16
2.0 ANTECEDENTES	17
3.0 JUSTIFICACIÓN	19
4.0 HIPÓTESIS	19
5.0 OBJETIVOS	19

5.1 Objetivos generales	19
5.2 Objetivos particulares	19
6.0METODOLOGÍA	20
6.1 Animales	20
6.2 Primer experimento: Efecto de la Testosterona	20
6.3 Segundo experimento: Efecto de la Dihidrotestosterona	20
6.4 Tercer experimento: Efecto del Estradiol	20
6.5 Cirugías	21
6.6 Implantes	21
6.7 Pruebas de conducta paterna	21
6.8 Extracción de muestras sanguíneas	22
7.0 RESULTADOS	22
7.1 Resultados primer experimento Testosterona	22
7.2 Resultados segundo experimento Estradiol	25
7.3 Resultados tercer experimento DHT	28
7.4 Comparación entre los grupos	30

8.0 DISCUSIÓN	33
9.0 CONCLUSIÓN	36
10.0 PERSPECTIVAS	36
11.0 REFERENCIAS	37
12.0 PUBLICACIONES	45

1.0 Introducción

En algunas especies de vertebrados el macho participa en el cuidado de las crías; en algunos peces como los hipocampos (especies *Hippocampus*), el macho tiene una bolsa ventral para proteger y llevar a sus crías y en varias especies exudan de la piel una mucosa nutritiva, de la cual se alimentan los jóvenes hasta que se vuelven independientes (Blumer 1982). Otro ejemplo de vertebrados con cuidados paternos lo constituyen las aves, en las que más del 90% son biparentales, es decir, el macho y la hembra comparten una serie de responsabilidades incluyendo, además de la alimentación, la construcción del nido y el mantenimiento de la temperatura de las crías (Ellen y cols. 1994).

En los mamíferos, en los que la hembra ha desarrollado estrategias reproductivas que les permiten cuidar solas a sus hijos, los cuidados paternos son poco comunes. Sin embargo, en algunas especies de estos vertebrados los machos participan en el cuidado de las crías (Clutton-Brock 1991, Dewsbury 1985).

En los roedores, la participación del macho en el cuidado de las crías ha sido descrita en varias especies como, *Peromyscus californicus* (ratón de California), *Microtus ochrogaster* (ratón de las praderas), *Phodopus campbelli* (hámster enano), *Meriones unguiculatus* (gerbo de Mongolia), entre otros (Elwood 1983).

La conducta paterna se define como cualquier actividad que realice el padre en beneficio de las crías, que aumenta la probabilidad de vida de éstas. En los roedores, los cuidados paternos pueden clasificarse en directos e indirectos (Clutton-Brock 1991). Los cuidados paternos directos son todas aquellas actividades que benefician directamente a las crías como son: el abrigo (el macho reduce la pérdida de calor colocándose encima de las crías en forma de carpa), acicalamiento de las crías (el macho lame a las crías colaborando con la limpieza del cuerpo y estimulando el área urogenital para eliminar los desechos de las mismas), recuperación de las crías (el macho regresa a las crías al nido), olfateo de las crías (el macho olfatea a las crías para su reconocimiento), juego y sociabilización de las crías (el macho asiste a las crías en la exploración de su ambiente físico y social). Mientras que los cuidados

indirectos los constituyen aquellas actividades que no implican interacciones padre-hijo como son: obtención del alimento (el macho almacena alimento que es consumido por la hembra durante la lactancia, así mismo este alimento también puede ser consumido por las crías después del destete), construcción del nido (el macho construye o asiste en la construcción de la madriguera, zona de anidación y nido, así como el mantenimiento, ya que esto incrementa la sobrevivencia de la progenie), provisión de cuidados a la madre (el macho evita que se acerquen otros machos) y defensa ante depredadores (el macho alerta a la hembra y a las crías de la presencia de depredadores) (Dewsbury 1985).

1.1 Evolución de la conducta paterna

Varios estudios han examinado la importancia del cuidado paterno en las aves, más que en los mamíferos (Bart y Tornes 1989; Mock y Fujioka 1990). Los machos tienen la misma capacidad que las hembras para incubar las crías y alimentar a los jóvenes, y por lo tanto una alternativa viable reproductiva a la deserción de los machos es permanecer e invertir en los jóvenes en lugar de buscar compañeras adicionales. En algunos casos, la presencia del macho es importante para la supervivencia de las crías en las aves, mientras que en otros casos, la presencia del macho tiene poco o ningún efecto en la supervivencia de las crías (Bart y Tornes 1989).

Considerando que el éxito reproductivo de las hembras depende principalmente de la inversión de tiempo y energía dedicada a la crianza, beneficiándose directamente al asegurar la supervivencia de su descendencia (Trivers 1972). Se podría esperar que el éxito reproductivo de los machos mamíferos se viera maximizado al aparearse con varias hembras, dejando a la hembra después del apareamiento. De hecho, ésta parece ser la estrategia en la mayoría de las especies de mamíferos. No obstante, un 6% de las especies de estos vertebrados, los machos cambian su comportamiento reproductivo por cuidados paternos, invirtiendo sólo en una hembra y en su descendencia (Kleiman y Malcolm 1981). Por ejemplo, en el hámster enano (*Phodopus cambelli*), especie monógama, el macho participa en el cuidado de las crías, mientras que en el *Phodopus sungorus*, que es un roedor polígamo, el macho no exhibe conducta paterna (Kleiman y Malcolm, 1981).

Se ha sugerido que la conducta paterna evolucionó como una respuesta a condiciones ecológicas locales, por lo cual la presencia de cuidados paternos en los mamíferos ha sido registrada en una variedad de especies que no tienen una relación filogenética, por lo cual no existe ninguna hipótesis del origen evolutivo de esta conducta. No obstante, la presencia de cuidados paternos en los mamíferos es una estrategia reproductiva secundaria (Elwood 1983). La presencia del macho durante la lactancia incrementa la posibilidad de sobrevivencia y el crecimiento de las crías (Clutton-Brock 1991; Cantoni y Brown 1997; Wynne-Edwards y Timonin 2007)

En 1981 Kleinman y Malcom definieron la inversión paterna, como cualquier inversión del macho que incrementa la supervivencia de la progenie, con el costo biológico de que el macho no tendrá inversión en otra camada. Entre los factores que se ha propuesto que influyeron para que el macho permaneciera con la hembra después del apareamiento y proporcionara cuidados paternos, se encuentran: la disponibilidad de las hembras, la adquisición del alimento, defensa de los recursos, la evasión de depredadores y las condiciones ambientales extremas (Elwood 1983).

La vida en un grupo social permanente pudo fomentar la evolución del cuidado paterno; por ejemplo, la inversión indirecta del macho, particularmente las llamadas de alarma y aviso de la presencia de los depredadores, son comunes en especies que viven en grupos grandes. Pero los cuidados paternos, una inversión directa, se presentan en grupos más pequeños que casi siempre están compuestos de individuos genéticamente relacionados (Kleinman y Malcom 1981).

Algunos estudios han sugerido que el cuidado paterno surgió para reducir la agresividad de la hembra (Maestripieri y Alleva 1991). Curiosamente, un estudio comparativo de los primates no humanos ha reportado una mayor longevidad en los machos de las especies biparentales en comparación con los machos de las especies uniparentales (Allman y cols.1998).

En la rata (*Rattus norvegicus*) y ratón (*Mus musculus*), especies en las que no existen cuidados paternos naturales y en roedores con cuidados bipaternos como el ratón de pradera, el hámster enano y el gerbo de Mongolia, los machos muestran prácticamente todos los comportamientos

típicos maternos de la especie, salvo la lactancia. Por ejemplo, en el ratón de las praderas, el macho abriga a las crías poniéndose en postura como si fuera una carpa (Lonstein y De Vries 1999), en el hámster enano se han reportado que los machos ayudan a la hembra durante el parto, limpiando a las crías justo después del nacimiento (Jones y Wynne-Edwards 2000).

1.2 Factores que regulan la conducta paterna

Dewsbury (1985) y Brown (1993) han propuesto varios factores que pueden influir en la presencia de los cuidados paternos: la organización social, la experiencia (con cachorros, hembras y su medio) y los factores neuroendocrinos (hormonas gonadales y neuropéptidos)

La conducta paterna como la materna puede estar regulada por factores neurales, endocrinos y sensoriales. En diversos estudios se menciona que en los mamíferos ocurren cambios hormonales que están asociados con el encendido de la conducta paterna; hormonas como la testosterona y la prolactina, entre otras, podrían estar implicadas en la regulación de esta conducta (Brown y cols. 1995; Reburn y Wynne-Edwards 1999; Ziegler y Snowdon 2000; Nunes y cols. 2001).

1.2.1 Organización social y experiencia

La presencia de cuidados paternos en los roedores depende de la organización social de la especie, por ejemplo, en los roedores monógamos es más probable que el macho participe en el cuidado de las crías que en las especies polígamas (Roberts y cols. 1998).

El efecto que la experiencia tiene en la conducta materna ha sido ya establecido; las ratas hembras se benefician de la exposición a los cachorros o experiencias anteriores desplegando conducta materna más rápidamente que las hembras vírgenes cuando son sometidas a pruebas de sensibilización. Sin embargo, parece que en los machos la experiencia no tiene ningún efecto; los ratones de la pradera tienen conducta paterna aun sin tener experiencia. Aunque la relación alopaterna juvenil se ha informado que aumenta el número de ratones de las praderas con cuidados paternos, por lo menos dos terceras partes muestran este comportamiento, sin experiencia previa (Roberts y cols. 1998).

Ratones machos de California, gerbos y hámsteres, se vuelven menos infanticidas después de la cópula o después del nacimiento de las crías. En este último caso, el inicio de la conducta paterna puede depender de las señales procedentes de las crías (Roberts y cols. 1998).

1.2.2 Factores Hormonales

El inicio de la conducta materna en la rata de laboratorio depende de los cambios hormonales que ocurren al final de la preñez y su mantenimiento de los estímulos sensoriales emitidos por las crías. Sin embargo, los experimentos de sensibilización han demostrado que las hembras vírgenes pueden exhibir cuidados maternos (excepto amamantamiento) cuando son expuestas de manera repetida a crías recién nacidas de la misma especie (Bridges 1990; Rosenblatt y cols. 1988; Stern 1989). Hormonas como los estrógenos, la progesterona, la prolactina, la oxitocina, así como algunos péptidos endógenos, han sido implicados en el inicio de la conducta en la rata de laboratorio (Rosenblatt y cols. 1988).

Por otra parte, debido a que la rata de laboratorio ha sido objeto de un sin número de estudios sobre la conducta materna, el macho de este roedor fue utilizado como modelo en el estudio de la conducta paterna, la cual fue originalmente descrita como “conducta materna del macho” (McQueen y Williams 1935).

El macho de la rata de laboratorio fue el primer roedor utilizado en el estudio de bases hormonales de la conducta paterna, no obstante, de que en esta especie los cuidados paternos no se presentan de manera natural. El macho de este roedor fue inducido a presentar conducta paterna administrándole las hormonas que regulan la conducta materna (estrógenos y prolactina), aunque éstas no siempre desencadenaban la exhibición de cuidados paternos con la misma frecuencia y latencia que en las hembras vírgenes (Lubin y cols. 1972). Posteriormente, los machos de este roedor fueron desmaculinizados y feminizados a través de la castración perinatal, y en estas condiciones les fueron administrados nuevamente las hormonas femeninas implicadas en la regulación de la conducta materna, observándose que los machos tratados de esta forma exhibían “altos niveles” de conducta materna (Rosenberg y Herrenkohl 1986). Otros experimentos demostraron que la inhibición de la secreción de

testosterona en la etapa perinatal permite el desarrollo de la conducta “materna” en machos (Rosenberg 1974).

1.2.2.1 Prolactina

La prolactina (PRL) es una hormona proteica sintetizada en la adenohipófisis, cuya función más conocida es estimular la secreción láctea, aunque también participa en la regulación de otros eventos como la conducta materna, el estrés y los cambios del fotoperiodo (Bridges, y cols. 1997).

En la rata de laboratorio esta hormona participa en el inicio de la conducta materna, pero no es necesaria para su mantenimiento (Bridges y cols. 1997).

Para determinar si la PRL participaba en la regulación de la conducta paterna, a machos del ratón de la pradera se les administró bromocriptina, un agonista de la dopamina, para disminuir los niveles de PRL. Este tratamiento no tuvo efecto sobre la conducta paterna, lo que sugiere que la PRL no es esencial en el cuidado paterno de este roedor (Lonstein y De Vries 2000a).

En otro estudio, machos y hembras adultos vírgenes del ratón de la pradera, que fueron expuestos a crías de la especie diariamente, se encontró que los niveles de PRL en plasma y la expresión del RNAm del receptor a esta hormona fueron más altos en los machos, después de la exposición a las crías, comparados con los de las hembras vírgenes. Sin embargo, tanto en machos como en hembras después de la exposición a las crías se observó un incremento tanto en los niveles de prolactina como en la expresión del RNAm de su receptor (Khatib y cols. 2001).

En el ratón de california Gubernicky Nelson (1989) observaron que hay un aumento del 35% de la PRL en el día 2 después del parto, pero los niveles de referencia en este estudio fueron aproximadamente 50 veces mayor que en otros roedores, por lo tanto el concluye que estos resultados no son confiables.

1.2.2.2 Progesterona

La progesterona es una hormona esteroide, que en los roedores machos se sintetiza en las glándulas adrenales. Estudios recientes demuestran que en el ratón de laboratorio, la progesterona facilita la agresión directa hacia las crías y suprime la conducta paterna (Schneider y cols. 2003). En el ratón de California los niveles de esta hormona son más bajos en los machos que cohabitan con sus hijos que en los castos, lo cual no se había reportado previamente en ningún mamífero bipaterno. Además las concentraciones de progesterona se correlacionaron negativamente con la actividad de la aromatasa en el área preóptica media (MPOA). El descenso en los niveles de progesterona y el incremento en la actividad de la aromatasa pueden contribuir en la conducta paterna en este roedor (Trainor y cols. 2003). Sin embargo, en el hámster enano no se encontraron variaciones en los niveles de progesterona entre los machos que siempre recuperan a sus crías y los que nunca exhibieron esta conducta. Además, en ambos grupos los niveles de esta hormona se incrementaron desde el día 17 del periodo de gestación hasta el día 1 de la lactancia. Estos resultados no apoyan la hipótesis de que los machos que exhiben cuidados paternos tienen concentraciones de progesterona más bajas que los no paternos (Schum y Wynne-Edwards 2005).

En el ratón de la pradera la administración del glucocorticoide/antagonista de los receptores de progesterona RU486 (1 mg /día por vía subcutánea durante 4 días) no redujo el cuidado paterno (Lonstein y De Vries 2000b).

1.2.2.3 Vasopresina y Oxitocina

La oxitocina es un neuropéptido sintetizado por células nerviosas en el núcleo paraventricular del hipotálamo, de donde es transportada por los axones de neuronas hipotálamicas hasta sus terminaciones en la porción posterior de la hipófisis (neurohipófisis), esta hormona ha sido relacionada con el establecimiento de la pareja en los roedores monógamos (Young 1999).

La vasopresina es una hormona peptídica sintetizada en los núcleos hipotalámicos supraóptico y paraventricular y se almacena en la neurohipófisis. Esta hormona desempeña un papel muy importante en el establecimiento de la pareja en aquellas especies naturalmente bipaternas. Por

otra parte, se señala que también intervienen en el desarrollo de la conducta paterna (Young 1999).

En roedores monógamos se ha observado un plexo de fibras inmunoreactivas a vasopresina en el septo lateral que presenta cambios de acuerdo al status del animal; cuando se compara la densidad de las fibras inmunoreactivas a vasopresina entre machos apareados y machos vírgenes se observa una reducción en la densidad en machos apareados. Después de que la densidad de fibras inmunoreactivas de estos machos retorna a niveles similares a los de los machos vírgenes, se observa nuevamente otro descenso después del nacimiento de las crías. Estos cambios en la densidad de las fibras inmunoreactivas a vasopresina en el ratón de la pradera pueden estar relacionados con cambios en la respuesta paternal. Inyecciones de vasopresina en el septo lateral incrementan las actividades paternas en machos sexualmente inexpertos, mientras que la administración de antagonistas inhibe la conducta paterna. Estos experimentos señalan que la vasopresina participa en la regulación de la conducta paterna (Bamshad y cols. 1994).

1.2.2.4 Glucocorticoides

Los glucocorticoides son producidos en la corteza de las glándulas suprarrenales y aunque han sido poco estudiados en relación con la conducta paterna, se sabe que responden a cambios sociales; la formación de parejas en el primate cabeza de algodón, en el ratón de la pradera y en el hámster enano produce en los machos una reducción en la concentración de esta hormona (Ziegler y cols. 1996; Castro y Matt 1997; Wynne-Edwards y Reburn 2000).

El cortisol es un glucocorticoide que está involucrado en la formación de la pareja, así como en la relación madre-hijo; en el hámster enano que exhibe naturalmente conducta paterna, los niveles de cortisol se elevan inmediatamente antes del parto y decrecen después del nacimiento de las crías (Reburn y Wynne-Edwards 1999).

1.2.2.5 Testosterona

La testosterona (T) es una hormona esteroide producida por el testículo principalmente, y las glándulas suprarrenales en pequeñas cantidades. Esta hormona regula una variedad de fenómenos reproductivos en el macho, por ejemplo, la producción de espermatozoides, la

competencia en los machos, la conducta de cortejo, la conducta de apareamiento y recientemente ha sido implicada en la conducta paterna (Monaghan y Glickman 1992). Es el principal esteroide que lleva a cabo el proceso de diferenciación sexual del Sistema Nervioso Central. Aunque los esteroides no siempre actúan en el cerebro en su forma nativa, sino que son metabolizados a otra forma que es la verdaderamente “activa” (Callard 1984).

Las principales enzimas que transforman los esteroides en el cerebro son la aromatasa y la 5 alfa-reductasa. La T al ser aromatizada se transforma en estradiol (E2), mientras que al ser reducida por la 5 alfa-reductasa, se convierte en dihidrotestosterona (DHT) (Torres y Ortega 2003).

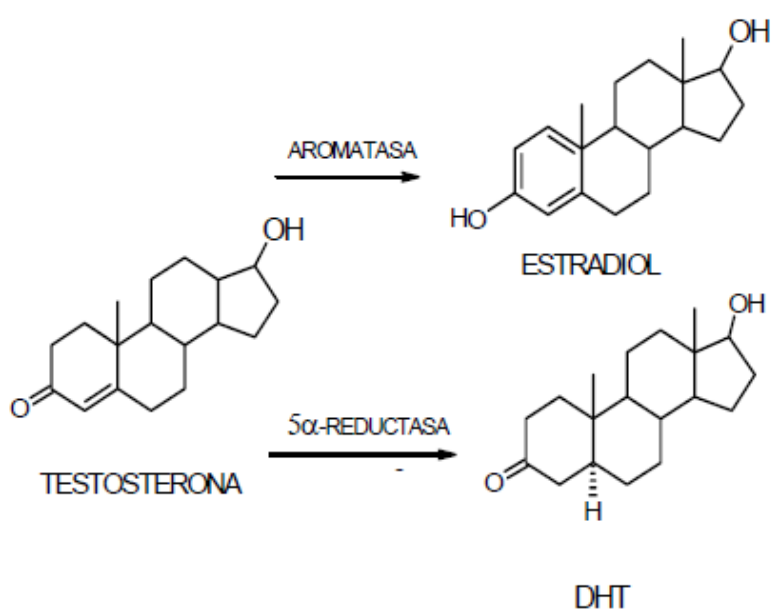


Fig1. Vías enzimáticas de la 5alfa-reductasa y aromatasa (Torres y Ortega 2003).

Los primeros estudios consideraban a la T como la hormona andrónica por excelencia, mientras que la DHT era considerada un metabolito inactivo. Sin embargo, en la actualidad se sabe que la DHT es uno de los andrógenos más potentes y tiene gran importancia en la fisiología de los mamíferos (Torres y Ortega 2003).

En el ratón de la pradera, estudios que relacionan la conducta paterna y T señalan, una disminución de los cuidados paternos un mes después de la castración (Wang y De Vries 1993). Estudios posteriores no han encontrado evidencia de que la castración, a la edad de destete o en la edad adulta, no influye en el cuidado paterno (Lonstein y De Vries 1999). Sin embargo, el tratamiento prenatal o postnatal, con un antiandrógeno (flutamida) o con un inhibidor de la aromatasas, no tuvo ningún efecto en la conducta paterna (Lonstein y De Vries 2000a). Estos investigadores concluyen que si la conducta paterna, dependiera de la regulación de andrógenos o estrógenos se podría esperar que estos tratamientos disminuyeran el interés en los cachorros e inclusive promover el infanticidio (Lonstein y De Vries 2000b).

En el ratón de california se cuantificaron los niveles periféricos de T en machos que se encontraban proporcionando cuidado a sus crías y machos mantenidos en aislamiento, observándose que los niveles de esta hormona fueron más bajos en los machos que exhibían cuidados (Gubernick y Nelson 1989). Sin embargo, en este estudio se utilizaron dos grupos de ratones; en el primero se realizaron las observaciones conductuales, mientras que de un segundo grupo se obtuvieron las muestras sanguíneas para el análisis hormonal, lo cual no permite comparar el nivel de comportamiento paterno con los cambios en las concentraciones de T, en los mismos individuos (Fivizzani y Oring 1986). Sin embargo, en otro estudio se observó que la castración reduce la conducta paterna y el tratamiento con andrógenos aumenta la exhibición de cuidados paternos, sin alterar el comportamiento agresivo (Trainor y Marler 2001).

En el hámster enano la exhibición de conducta paterna coincide con bajas concentraciones plasmáticas de T; en el macho de este roedor los niveles plasmáticos de esta hormona se incrementan con la defensa y protección de la hembra preñada y disminuyen después del parto. Se cree que esta disminución en la concentración de T reduce la agresión hacia las crías y facilita el despliegue de la conducta paterna (Reburn y Wynne-Edwards 1999). En un estudio posterior, se encontró que los machos del hámster enano que siempre recuperaron a sus crías, en las pruebas de paternidad, tuvieron concentraciones más bajas de T que los machos que nunca recuperaron a sus hijos. Sin embargo, no se observó ningún descenso en los

niveles de T, ni antes ni después del nacimiento de las crías, lo cual resulta inconsistente con lo reportado anteriormente (Schum y Wynne-Edwards 2005).

1.2.3 Factores neurales

Newman, en 1999 destacó la complejidad de las superposiciones en los circuitos neurales que regulan los comportamientos sociales en los mamíferos. Estos comportamientos sociales incluyen la conducta sexual masculina y femenina, la agresión ofensiva y el comportamiento de los padres. Las regiones neurales, que posiblemente estén implicadas en la regulación de las conductas sociales son: la MPOA/BST (área preóptica media/ cama del núcleo de la estría terminalis), MEA (amígdala media) y LS (septo lateral). Se ha planteado que hay una red central común que regula una variedad de comportamientos sociales, y que cuando un comportamiento se produce puede estar regulado por los estímulos que tienen acceso a ese circuito social (Newman 1999).

En cualquier conducta existen dos componentes los apetitivos y los consumatorios. El componente apetitivo se integra de aquellos comportamientos que llevan a un organismo al contacto con un estímulo deseado o atractivo, mientras que el componente de consumación está conformado por aquellas conductas que se realizan una vez que se alcanza el contacto con el estímulo deseado (Ikemoto y Panksepp, 1999). Por lo tanto, si el componente apetitivo tiene éxito (el estímulo deseado se obtiene), permite que se realice el componente consumatorio. Generalmente, el comportamiento apetitivo es variable y puede estar influido por el aprendizaje y procesos cognitivos superiores (que el organismo necesita para realizar la búsqueda y manipular su entorno para acceder al estímulo deseado), mientras que las respuestas consumatorias o terminales son más reflexivas y dependen de la estimulación proximal del estímulo relevante (Ikemoto y Panksepp 1999).

La ocurrencia de la conducta consumatoria también podría considerarse como evidencia del aumento de la motivación, si se pudiera demostrar que un estímulo proximal, es capaz de provocar una determinada respuesta consumatoria, cuando un organismo se encuentra bajo un estado interno (por ejemplo, inducido por las hormonas) pero no cuando está en otro estado (Lee y Brown 2007).

1.2.3.1 Área Preóptica Media (MPOA)

Aunque a la fecha son muy pocos los estudios realizados sobre la regulación neural de la conducta paterna, los resultados de estos estudios señalan que el área preóptica media, tiene un papel central en la regulación de esta conducta, como ocurre en la materna. Tomando en cuenta la hipótesis que señala que los mecanismos neuroendocrinos que regulan la conducta materna son homólogos a la paterna, se hará una breve revisión de la regulación neural de la conducta materna y finalmente se revisarán los estudios realizados en conducta paterna.

Fisher (1956) observó que lesionando el área MPOA e hipotálamo anterior, químicamente o con radiofrecuencia, se afecta el inicio y el mantenimiento de la conducta materna, en ratas primíparas y múltiparas.

El MPOA recibe aferencias de una amplia variedad de sistemas neuronales, así como del sistema vomeronasal. Respecto a las proyecciones eferentes de esta área, la evidencia experimental ha puesto de manifiesto que las proyecciones laterales que van de esta área al área preóptica lateral y al área tegmental ventral, parecen ser las más directamente implicadas en el control neural de la conducta materna, tanto en ratas (Numan 1974; Numan y Callahan 1980; Miceli y cols. 1983; Numan y Corodimas 1985), como en hámster (Marques y cols. 1979; Miceli y Malsbury 1982).

Numan y Callahan (1980), interrumpieron las conexiones anteriores, dorsales, posteriores y laterales del MPOA, y observaron que sólo las lesiones laterales afectan la conducta materna, alterando los patrones de construcción del nido y recuperación de las crías. Esta última conducta desapareció permanentemente, y no se puede atribuir a que se afectaron funciones motoras, puesto que las ratas lograban recoger dulces u objetos del peso y tamaño aproximado al que tendría una cría. Recientemente, estos autores han manifestado que la lesión química del MPOA con N-metil-DL-ácido aspártico (NMA), un aminoácido excitotóxico, suprime el inicio de la conducta materna en la rata (Numan y cols. 1985). Puesto que NMA destruye selectivamente los cuerpos neuronales dejando intactas las fibras de paso (Olney 1979 y 1987), estos resultados indican que además de las conexiones eferentes también las neuronas

del área preóptica media son importantes para que la conducta materna se manifieste (Numan y cols. 1988).

En el ratón de California el MPOA es de mayor volumen en los machos vírgenes que en las hembras vírgenes (Gubernick y cols. 1993). Después del parto, esta diferencia no es evidente debido a un aumento en el tamaño del MPOA, en las hembras (Gubernick y cols. 1993). Cuando el macho del ratón de California es sometido a lesiones en el MPOA, un área que se sabe es crítica para la expresión de la conducta materna en las ratas, éstos muestran significativamente una latencia mayor en la exhibición de la conducta paterna e invierten menos tiempo en el olfateo y acicalamiento de las crías, con respecto a los ratones controles. Sin embargo, estas lesiones no producen una reducción en el tiempo que los machos y las hembras invierten en el abrigo de las crías. Estos resultados sugieren que los mecanismos neurales que controlan la conducta paterna son similares a los de la conducta materna en esta especie (Gubernick y Alberts 1987).

Por otra parte, cuando los machos de la rata de laboratorio se les colocan implantes de estrógeno y progesterona, en MPOA muestran comportamiento paterno, aún cuando estos roedores no exhiben cuidados paternos de manera natural (Rosenblatt y Ceus 1998).

1.2.3.2 Amígdala y Sentido del Olfato

El género *Microtus* está integrado por ratones promiscuos y monógamos, que difieren en la localización neuronal de los receptores a la arginina-vasopresina (AVP) y a la oxitocina (OT); en las especies monógamas estos receptores se distribuyen en la amígdala, un órgano neural asociado con la conducta bipaterna. Mediante la autoradiografía se ha examinado si la distribución de los receptores a AVP y oxitocina está asociada con la conducta paterna facultativa en los machos de *Microtus pennsylvanicus*, con o sin experiencia sexual y paterna. Los ratones con experiencia sexual y paterna en contraste con los inexpertos tienen menos receptores a AVP en el septo lateral (LS) y más en el núcleo olfativo anterior (AON). Contrariamente la cantidad de receptores a la oxitocina es mayor en el AON, en el núcleo terminal estriado, en el LS y en la amígdala lateral. Sin embargo, este patrón de receptores a vasopresina que se presenta en los ratones machos con cuidados paternos naturales, cuando

están participando en el cuidado de sus crías, también puede ser observado en los machos que no presentan cuidados paternos de manera natural, cuando se les induce a exhibir conducta paterna (Bamshad, y cols. 1994).

Por otra parte, los ratones machos de la pradera (*Microtus ochrogaster*), con experiencia sexual, que exhiben conducta paterna, presentan una densidad de fibras de arginina vasopresina inmunoreactiva (AVP-ir), en el septo lateral y en el núcleo habenular lateral, más baja que los machos sin experiencia sexual. Para observar si estos cambios ocurren antes o después del nacimiento de las crías y, si están asociados con los cambios de la conducta paterna, se probó esta conducta y se midió la densidad de las fibras AVP-ir en el septo lateral, en el núcleo habenular lateral, en el MPOA y en el núcleo paraventricular del hipotálamo, en los machos y hembras vírgenes. Cuando se analiza la expresión de fibras AVP-ir en ratones apareados, que fueron sacrificados a los 3DP, 13DP y 21DP (días después del apareamiento) o 6DN (días después del nacimiento de las crías). La respuesta paterna se incrementó en los machos 3DP y tendió a mantenerse constante a los 13DP. La densidad de las fibras de AVP-ir no se modificó en MPOA, ni en el núcleo paraventricular del hipotálamo. Sin embargo, la densidad de estas fibras en el septo lateral y en el núcleo habenular lateral fue afectada de diferentes formas en los machos y en las hembras. Los machos 3DP tuvieron pocas fibras, mientras que los machos 13DP y 6DN presentaron densidades intermedias, mientras que los ratones 0DP y 21DP se observaron las densidades de fibras más altas. Por el contrario, en las hembras no se encontraron diferencias en las densidades de las fibras. Un segundo experimento demostró que el decremento en la densidad de las fibras en los machos 3DP, puede inducirse a través de la cohabitación con una hembra desconocida, pero no con un macho extraño. Los pequeños cambios en la densidad de las fibras de AVP-ir después del apareamiento sugieren que éstas pueden estar implicadas en la respuesta paterna, así como también en otras conductas sociales que se modifican después del apareamiento (Bamshad, y cols. 1994).

También se han realizado comparaciones de la densidad y distribución de receptores de AVP-ir en ratones polígamos (*Microtus pennsylvanicus*) y monógamos (*Microtus ochrogaster*), observándose que los machos polígamos sin experiencia sexual tienen una mayor densidad de

AVP-ir en el núcleo de la estría *terminalis* (BNST) y en la amígdala media (MA) que los monógamos (Insel y cols. 1994; Young y cols. 1997).

Estudios realizados en machos con experiencia sexual también validan la correlación entre el incremento entre los niveles de AVP y la conducta paterna. Los machos con experiencia sexual de especies monógamas y polígamas del género *Microtus* no presentan diferencias en la concentración de AVP del LS, mientras que los machos monógamos, sí presentan cambios en los niveles AVP después del nacimiento de sus crías. Cuando a los machos del ratón de la pradera se les administran AVP en el LS, éstos tienden a pasar más tiempo en contacto físico con sus crías. Por el contrario, inyecciones de un antagonista de la AVP en el mismo sitio producen un efecto opuesto (Wang y cols. 1994). Todas estas observaciones sugieren que la conducta paterna está asociada con altas concentraciones de AVP en el BNST y en la MA. Sin embargo, recientemente en dos especies del género *Peromyscus*, en las que se comparó la distribución de las neuronas vasopresinérgicas y sus receptores, se encontró que los machos monógamos muestran más AVP-ir en el núcleo de la estría terminalis, que los machos de especies polígamas, así como también tienen mas receptores AVP en el septo lateral. Por lo tanto la conducta paterna no parece ser la responsable de los diferentes patrones de distribución de la AVP y sus receptores en el cerebro de estos roedores (Bester-Meredith y cols. 1999).

En el ratón de las praderas también se ha investigado las vías neuronales que se activan por estímulos del cachorro, Kirkpatrick y cols. (1994a) hizo una comparación de la tinción de la proteína c-Fos, en machos y hembras del ratón de la pradera, los cuales fueron expuestos durante 3 horas a crías de su especie (solo recibieron estimulación olfativa no de contacto). Los estímulos olfativos provenientes de los cachorros activaron a c-Fos en el bulbo olfativo accesorio, núcleo medio de la amígdala y el área preóptica medial, entre varias otras regiones. Las hembras mostraron un patrón similar de activación frente a este estímulo, aunque la activación en el área preóptica media fue mayor en machos que en hembras (Kirkpatrick y cols. 1994b). Cuando se destruyen las neuronas del núcleo de la amígdala media con n-metil-DL- ácido aspártico se observa una pérdida selectiva de la conducta paterna sin que se vea afectada ningún otro aspecto de la interacción social (Kirkpatrick, y cols. 1994a).

1.3 Diferencias Entre Sexos

Machos y hembras no solamente difieren en la estructura corporal sino que ambos manifiestan patrones de conducta que varían en forma y frecuencia. A estos comportamientos diferenciales que exhiben machos y hembras durante su ciclo vital se les ha denominado conductas sexodimórficas (Kelley 1988). En 1979, Mayer y cols. realizaron una investigación en la que trataron de aclarar algunos aspectos relacionados con la ontogenia y el dimorfismo sexual en la conducta maternal de la rata. Estos autores usaron el modelo de inducción y estudiaron las respuestas paternas mostradas por machos y hembras vírgenes de diferentes edades. Los animales realizaron los test de conducta materna a los 30 días de edad (etapa prepuberal), a los 45 días (pubertad), a los 60 días (adultos jóvenes) y a los 90 días (sujetos adultos). Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Hasta los 30 días de edad no se observaron diferencias significativas entre machos y hembras en la cantidad de días que necesitaron para adquirir el criterio de conducta materna. A partir de los 45 días y hasta los 90 los patrones de conducta manifestados por uno y otro sexo fueron bastante diferentes. Mientras que las latencias de inducción empezaron a disminuir paulatinamente en las hembras, en los machos ocurrió todo lo contrario, es decir, las latencias de inducción aumentaban progresivamente en función de la edad, siendo máximas en el periodo adulto (Mayer y Rosenblatt 1979)

Basándose en estos resultados, se concluyó que la conducta paternal en machos y hembras va diferenciándose progresivamente en función de la edad, de manera que en la rata adulta este comportamiento es sexo dimórfico. Incluso después de realizar diversas manipulaciones experimentales, tales como el amansamiento de los animales o la administración intranasal con Sulfato de Zinc, con el fin de reducir las latencias de inducción, las diferencias conductuales entre machos y hembras siguieron manteniéndose (Mayer y cols. 1979)

2.0 Antecedentes

Los Gerbos son originarios del Medio Oriente y regiones áridas de Asia Central, también se les puede ubicar en África y Europa Oriental. Este roedor llega a medir de 18 a 24 cm se desplaza por medio de sus extremidades posteriores dando saltos erguidos y tiene una vida promedio de 3 años. Es un roedor monógamo con cuidados biparentales. Los gerbos alcanzan la madurez sexual alrededor de los tres meses de edad, a partir de entonces la hembra presentará celo cada 4 o 6 días (Elwood 1983). La gestación dura de 21 a 25 días en condiciones normales, pero si la hembra está preñada y cuida a otra camada, el parto se retrasará hasta que la primera camada sea independiente. El número promedio de crías por camada es de 4 o 5, pero pueden nacer hasta diez. La hembra entra en estro inmediatamente después del parto, este celo es fértil (la hembra puede quedar gestante sin ningún problema). Las crías no tienen pelo al nacer, son sordas y ciegas y no miden más de 3cm y pesan alrededor de 2,5 gramos. A partir de los diez días de vida las crías comenzarán a salir del nido. A las tres semanas de vida ingieren alimentos sólidos y a las 4 son independientes (Elwood 1983).

En el gerbo de Mongolia machos y hembras vírgenes suelen ser infanticidas en la edad adulta. Los machos son menos infanticida 2 semanas antes del parto, pero este cambio requiere de la exposición directa a la hembra. En condiciones en las que el macho tiene la libertad de abandonar el nido, cuando nace su primera camada se aleja de la hembra y las crías, pero retornan a los tres días y les proporcionan cuidados a sus hijos. Se ha demostrado que esta ausencia no se debe al comportamiento de la hembra, sino a una evitación activa de las crías (Clark y Galef 2000).

El gerbo de Mongolia fue el primer roedor en el que se documentó que los niveles de T plasmática disminuían después del nacimiento de los hijos; los niveles plasmáticos de esta hormona son elevados en los machos que cohabitan con la hembra hasta el día 20 de la preñez, pero descienden significativamente 3 días después del nacimiento de sus crías, permaneciendo bajos durante el resto de la lactancia (Brown y cols. 1995). Estos resultados se han interpretado como evidencia de que la T tiene un efecto negativo en el comportamiento

paterno. En un estudio realizado con este roedor se señala que la castración aumenta los cuidados paternos y el reemplazamiento con T reduce la interacción con los jóvenes (Clark y Galef 1999). No obstante, en este experimento los machos tenían edades entre 50 y 90 días, etapa en la que la mayoría exhiben conducta paterna de manera espontánea. Clark y Galef (2001) describieron un aumento natural en la T circulante a los 75 días de edad, etapa en la que los machos son menos paternos.

Sin embargo, subsecuentes estudios en este roedor han indicado que los niveles de T no disminuyen cuando los machos de estos roedores proporcionan cuidados paternos (Luis y cols. 2010). En otros mamíferos como el primate cabeza de algodón (*Saguinusoedipus*), los niveles de T en orina permanecen elevados después del parto, cuando los machos despliegan conducta paterna (Ziegler y Snowdon 2000).

En el ratón de California la castración reduce la cantidad de cuidados paternos, mientras que los machos castrados que recibieron terapia con T, exhibieron altos niveles de conducta paterna (Trainor y Marler 2001). Posteriormente, fue señalado que en este roedor la T promueve los cuidados paternos a través de su conversión a E2 (Trainor y Marler 2002).

3.0 Justificación

Como se puede observar los resultados de estos estudios son incongruentes en cuanto al papel que tiene la T en la regulación de la conducta paterna en los mamíferos y específicamente en los roedores, de aquí la importancia de realizar más estudios en otras especies de roedores con cuidados paternos, para establecer si la T tiene una función generalizada en la regulación de la conducta paterna en los mamíferos.

4.0 Hipótesis

- Si la T participa en la regulación de la conducta paterna del gerbo de Mongolia (*Meriones unguiculatus*), entonces se espera que la administración de T (en machos agresivos o indiferentes hacia las crías de su misma especie) induzca la exhibición de cuidados paternos.
- Si la T participa en la regulación de la conducta paterna a través de su conversión a E2, se espera que los gerbos implantados con esta hormona exhiban conducta paterna, mientras que los implantados con DHT no desplegarán esta conducta.

5.0 Objetivos

5.1 Objetivos generales

- Determinar si la T participa en la regulación de la conducta paterna en el gerbo de Mongolia (*Meriones unguiculatus*).

5.2 Objetivos particulares

Determinar el efecto de la castración y el reemplazamiento con T en la conducta paterna del gerbo de Mongolia.

Determinar si la T ejerce sus efectos en esta conducta a través de su conversión a estrógenos

6.0 Metodología

6.1 Animales

En este estudio se utilizaron 70 gerbos machos, sin experiencia sexual, con una edad de 180-210 días. Estos roedores fueron seleccionados por su indiferencia o agresividad hacia las crías, para lo cual fueron sometidos a *screen test* de conducta paterna. Durante las pruebas, cada macho fue puesto en una jaula de policarbonato (32 x 23 x15 cm), con cama de aserrín limpio, diez minutos después fueron introducidas tres crías de la misma especie (de 1 a 3 días de edad). Los gerbos que mostraron conducta paterna no fueron incluidos en el estudio. Los animales seleccionados se mantuvieron bajo un fotoperiodo invertido de 12:12 h luz-oscuridad, a una temperatura y humedad ambiental. Se alojaron individualmente en jaulas de policarbonato (25 x 30 x 8 cm), con cama de aserrín. Se les proporcionó como alimento pellets para roedores (Harlan) y agua corriente *ad libitum*.

6.2 Primera experimento: Efecto de la Testosterona

Los machos seleccionados se organizaron en tres grupos, de 10 animales cada uno; Grupo I, machos con castración simulada y con implantes vacíos (sham); Grupo 2, machos castrados y Grupo 3, machos castrados e implantados con T.

6.3 Segunda experimento: Efecto de la Dihidrotestosterona

Los machos seleccionados se organizaron en dos grupos, de 10 animales cada uno; Grupo 1, machos castrados con implantes de dihidrotestosterona; Grupo 2, Machos con castración simulada y con implantes vacíos (sham).

6.4 Tercer experimento: Efecto del Estradiol

Los machos seleccionados se organizaron en dos grupos, de 10 animales cada uno; Grupo 1, machos castrados con implantes de E2; Grupo 2, Machos con castración simulada y con implantes vacíos (sham).

6.5 Cirugías

Los gerbos fueron anestesiados con una dosis de pentobarbital 80mg/kg vía intramuscular, una vez anestesiados se depiló el área escrotal. Con un bisturí se realizó una incisión en las bolsas escrotales, exponiendo los testículos. Se ligaron las arterias que corren paralelamente a los conductos deferentes y se cortaron los testículos para extraerlos. Se suturó con CatGut (tejidos internos) y seda 000 (piel). En el caso de los gerbos con castración simulada, sólo se expusieron los testículos durante 2 minutos y enseguida se colocaron de nuevo en la cavidad escrotal y se suturó la herida.

6.6 Implantes

Los implantes se elaboraron con tubo Silastic® de 15 mm (1.47mm I.D. x 1.96mm O.D. Down Corning®), que fueron llenados con 1mg de propionato de T [4-androsten-17 β -ol-3-one 17 propionate)]; E2 o dihidrotestosterona (Sigma Aldrich) y sellados con adhesivo de silicón. Los implantes se colocaron subcutáneamente una semana después de la castración, en la región dorsal, durante este procedimiento los animales fueron anestesiados con 40mg/kg de pentobarbital.

6.7 Pruebas de conducta paterna

A los 12 días siguientes a la colocación del implante se realizaron las pruebas de conducta paterna. Este día fue establecido con fundamento en los resultados obtenidos de ensayos preliminares, que mostraron que la óptima liberación de las hormonas ocurría entre los días 10 y 12.

Cada macho fue colocado en una jaula (policarbonato de 25 x 30 x 8 cm), con cama de aserrín limpio, después de 10 minutos de adecuación se introdujeron tres crías ajenas de la misma especie, de uno a 3 días de edad. Las observaciones se realizaron de forma directa, por un sólo observador, bajo luz roja. El periodo de observación fue de 30 minutos (si son agresivos la prueba es detenida en el momento de la agresión), durante el cual se registraron las siguientes actividades paternas: abrigo, acicalamiento y olfateo, aunque el abrigo es la una de las actividades centrales de la conducta paterna. El olfateo es una conducta social que se observa

entre machos y hembras de la especie, así mismo el acicalamiento también es un componente de todas las conductas sociales, aunque los patrones de acicalamiento desplegados de los padres hacia las crías difieren notoriamente en las zonas del cuerpo que son acicaladas, respecto al acicalamiento que se da entre machos o entre hembra y macho. Por ejemplo, el acicalamiento entre parejas se centra en la región dorsal, mientras que los padres acicalan la región perianal, manos y patas de las crías. El abrigo es una actividad exclusiva de la conducta paterna y materna, por lo cual se considera una de las actividades paternas más importante (Elwood 1983).

6.8 Extracción de muestras sanguíneas

A cada uno de los machos, inmediatamente después de las pruebas de conducta paterna, se les extrajeron muestras sanguíneas por vía retro-orbital, con capilares heparinizados. Durante este procedimiento los animales se anestesiaron ligeramente con éter. La sangre obtenida se centrifugó a 1000 G, durante 5 minutos y el plasma colectado se almacenó a -70 °C, hasta la cuantificación de T, E2 o dihidrotestosterona por la técnica de radioinmunoensayo RIA. El RIA fue realizado por duplicado con un kit Siemens para T (Siemens 06615588 Testosterone Coat-A-Count® Kit), DHT (9600 DSL/BECKMAN) ambos con una sensibilidad de 4 pg/ml o E2 (Siemens 06615308 Estradiol Coat-A-Count® Kit) con una sensibilidad de 8pg/ml dependiendo el caso. La radioactividad fue medida con un contador gamma modelo 1282 Compugamma (LKB-Wallac, Turku, Finland).

7.0 Resultados

7.1 Resultados primer experimento: Testosterona

Los resultados obtenidos mostraron que el 100% de los gerbos castrados con los implantes de T fueron paternales, a pesar de que antes de la administración de esta hormona fueron agresivos hacia las crías. La castración y la simulación de esta cirugía no causó ningún cambio en la conducta. Solo los gerbos machos castrados con implante de T exhibieron conducta paterna, puesto que el tiempo de abrigo, acicalamiento y olfateo que exhibieron fue significativamente mayor comparado con los machos castrados y en los que se simuló la castración (Fíg. 1, 2 y 3).

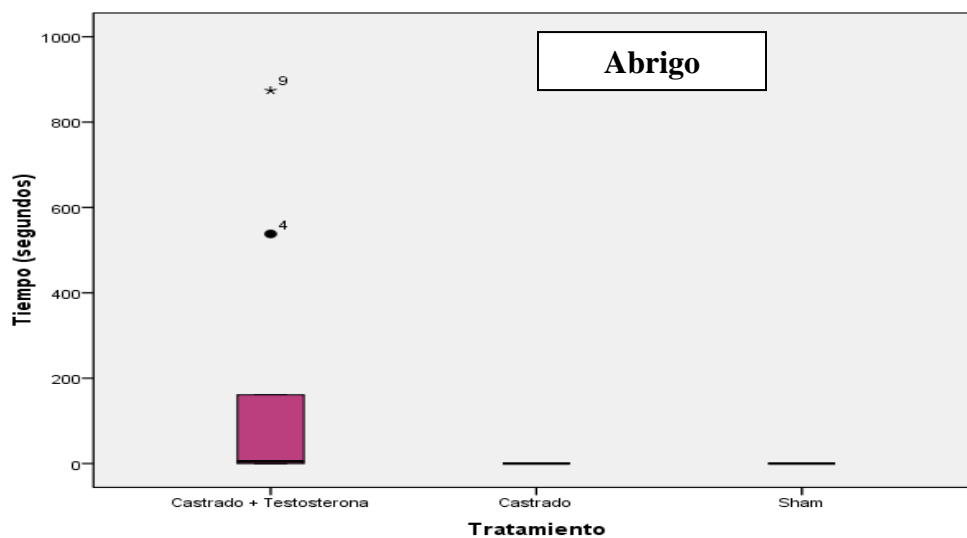


Fig. 1 Los machos castrados con implantes de T invirtieron más tiempo en el abrigo que los machos castrados o con castración simulada ($H=11.5$, $P=0.003$, $N=10$).

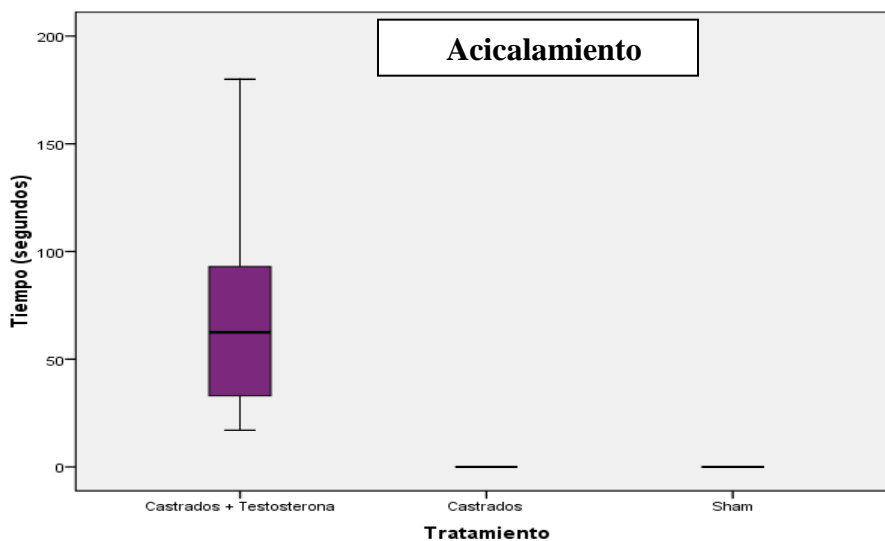


Fig. 2 Los machos castrados con implante de T invirtieron significativamente más tiempo en el acicalamiento que los machos castrados y simulados ($H=27.5$, $P=0.001$, $N=10$).

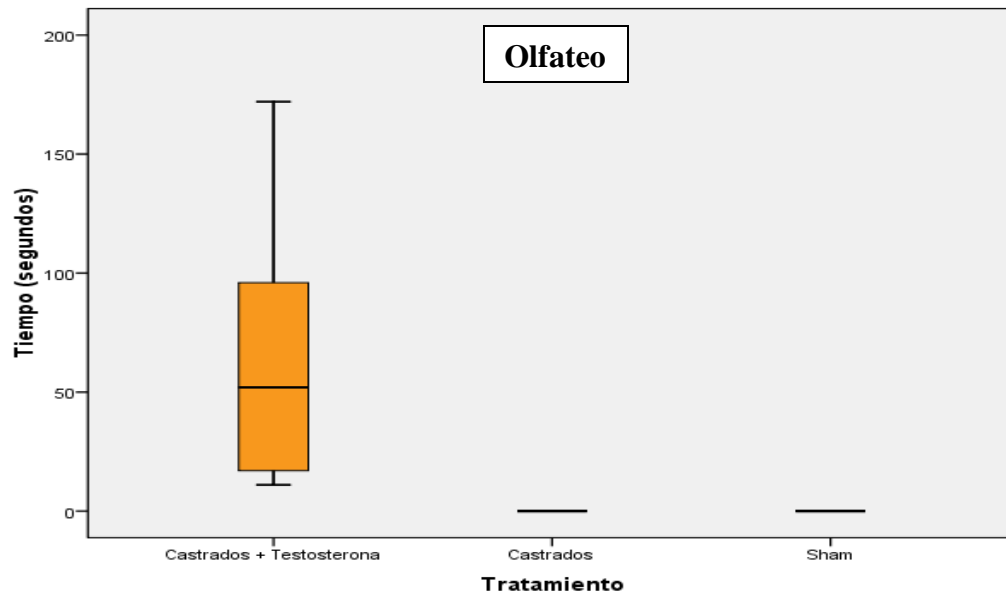


Fig. 3 Los machos con implantes con T olfatearon significativamente más tiempo que los machos castrados y con castración simulada ($H=27.5$, $P=0.001$, $N=10$).

Los machos castrados con remplazo de T tuvieron concentraciones de T en plasma significativamente superiores comparados con los machos sham y los castrados (Fig. 4). Las comparaciones entre pares mostraron que los machos castrados con implantes de T tuvieron niveles de T en plasma significativamente mayores a los sham y los castrados (Fig. 4), mientras que los sham presentaron niveles de T superiores a los castrados (Fig.4).

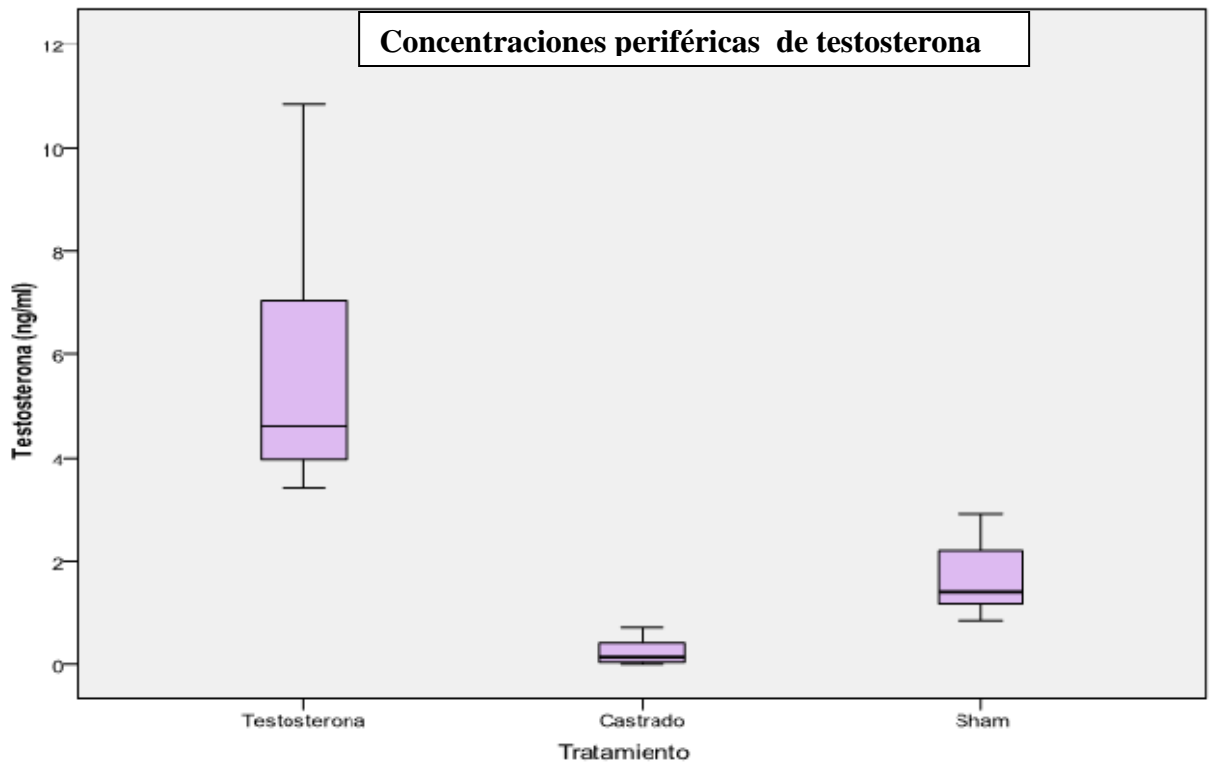


Fig. 4 Los gerbos con implantes de T tuvieron concentraciones periféricas de T significativamente más altas que los machos sham y los castrados ($H=25.6$, $p=0.001$, $N=10$, sham vs T; $W=55$, $p= 0.001$, $N=10$, castrados vs T; $W=55$, $p= 0.001$, $N=10$, sham vs castrados; $W=55$, $p= 0.001$, $N=10$).

7.2 Resultados segundo experimento: Estradiol

El E2 indujo la exhibición en el 100% de los machos tratados a diferencia de los animales en los que se simuló el procedimiento. La conducta paterna exhibida por estos gerbos estuvo integrada por el abrigo, acicalamiento y olfateo (Fig. 5, 6 y 7), Cabe señalar que estas mismas actividades paternas fueron inducidas también por la T. Las concentraciones periféricas de E2 fueron significativamente mas altas en los animales castrados con implante de esta hormona que en los animales que se simuló la cirugía (Fig.8).

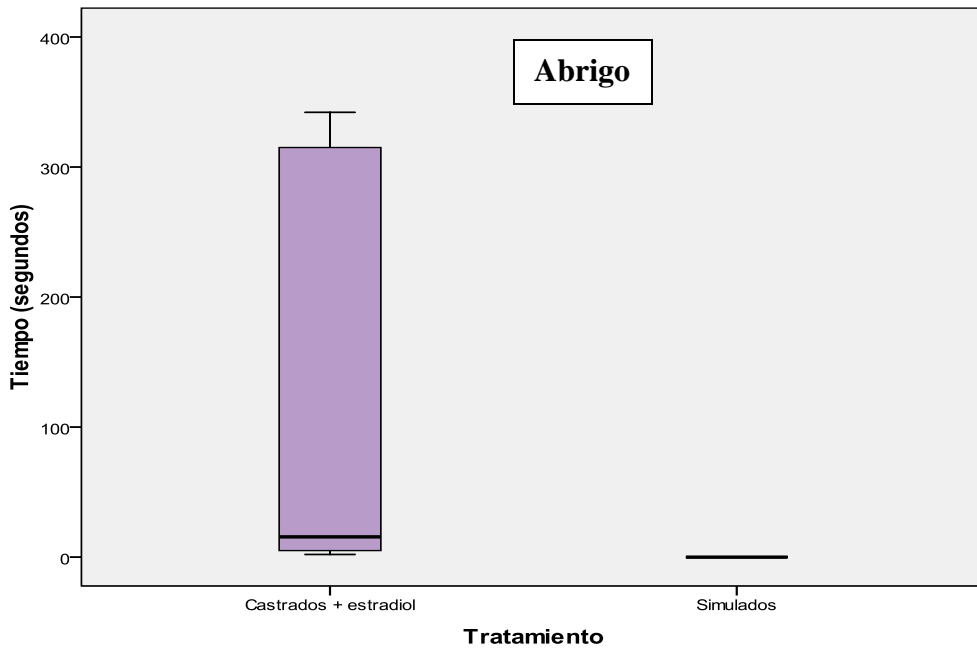


Fig. 5 Los machos con implantes con E2 abrigaron significativamente más tiempo que los machos simulados ($W=55$, $p=0.001$, $N=10$).

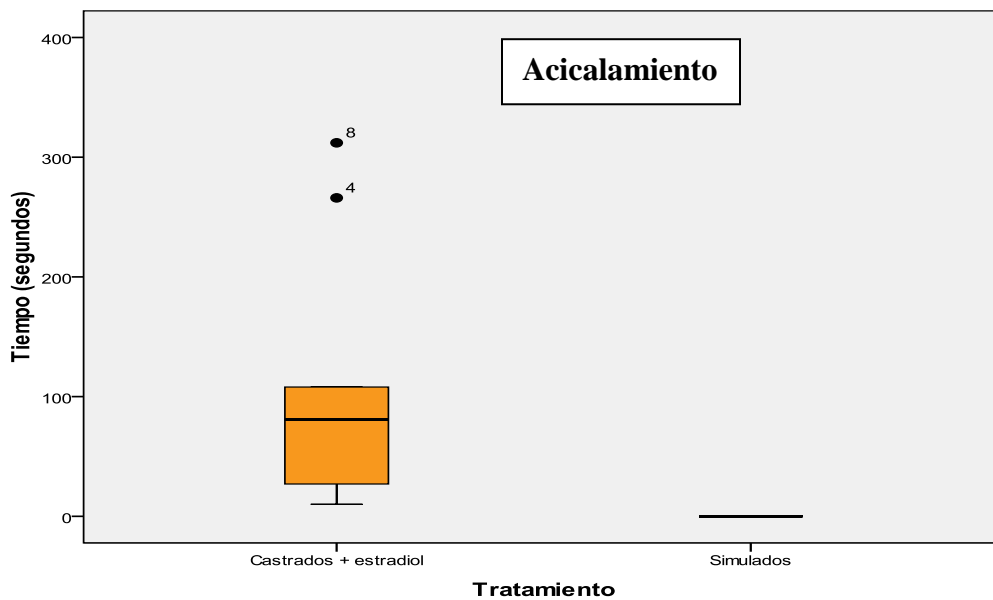


Fig.6 Los machos con implantes con E2 acicalaron significativamente más tiempo que los machos simulados ($W=55$, $p=0.001$, $N=10$).

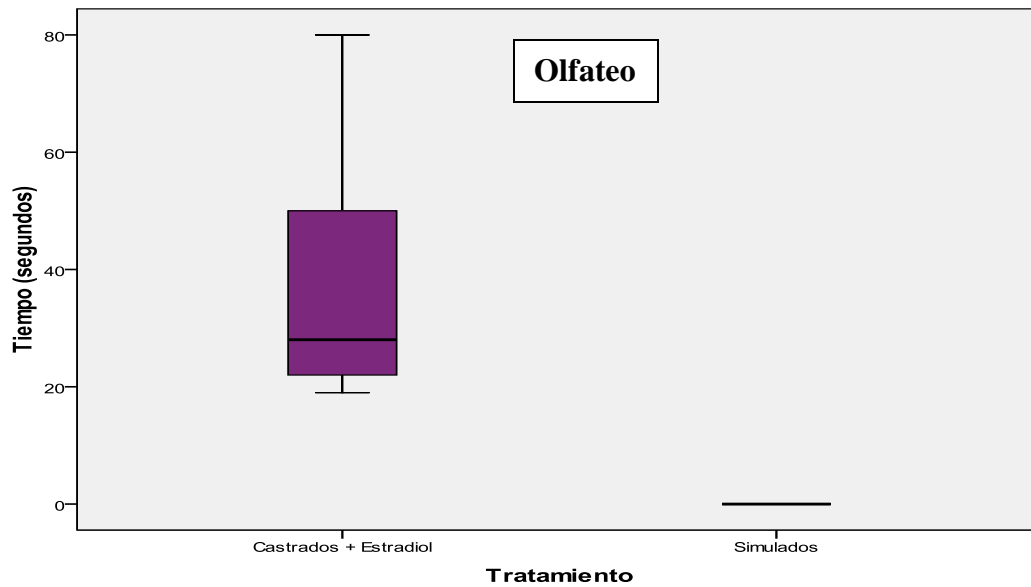


Fig.7 Los machos con implantes con E2 olfatearon significativamente más tiempo que los machos simulados (W=55, p=0.001, N=10).

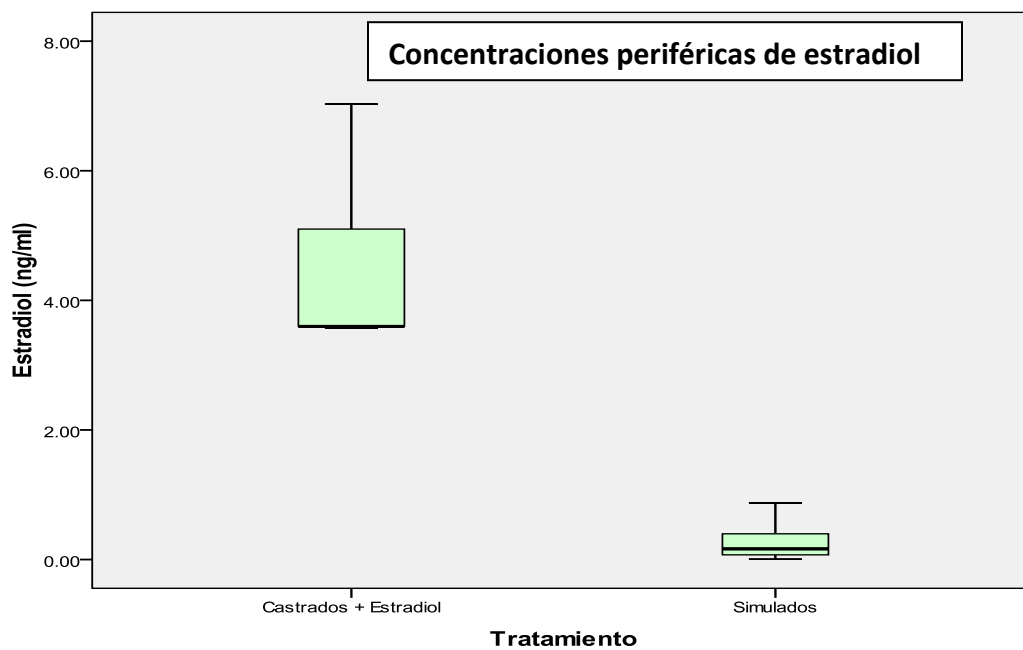


Fig. 8 Los gerbos con implantes de E2 tuvieron concentraciones periféricas de E2 significativamente más altas que los simulados (W=55, p=0.001, N=10)

7.3 Resultados tercer experimento: DHT

A diferencia de los dos primeros experimentos, la administración de DHT inhibió la conducta agresiva que los machos mostraron hacia las crías en la primera exposición. Además olfatearon y acicalaron a las crías, aunque las pautas conductuales exhibidas en esta actividad difirieron: los machos implantados con DHT a diferencia de los tratados con T y E2 lamieron principalmente el dorso de las crías y no la región perineal. Esta hormona no indujo abrigo (Fig. 9 y 10).

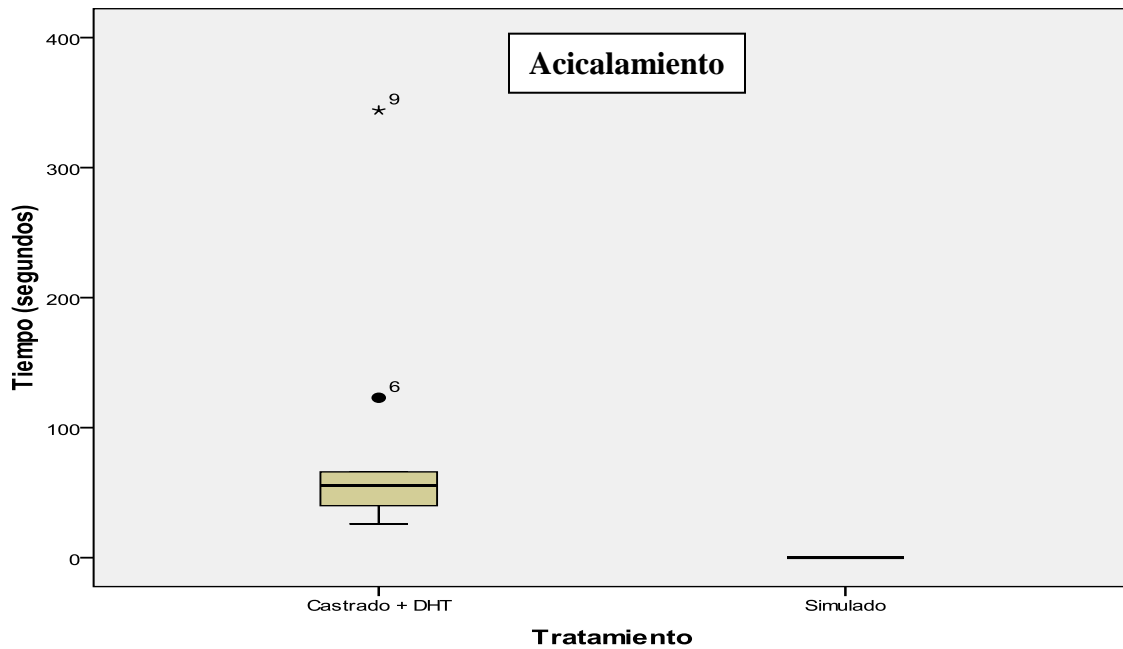


Fig. 9 Los machos castrados con implante de DHT invirtieron significativamente más tiempo en el acicalamiento que los machos simulados ($W=55$, $p=0.001$, $N=10$)

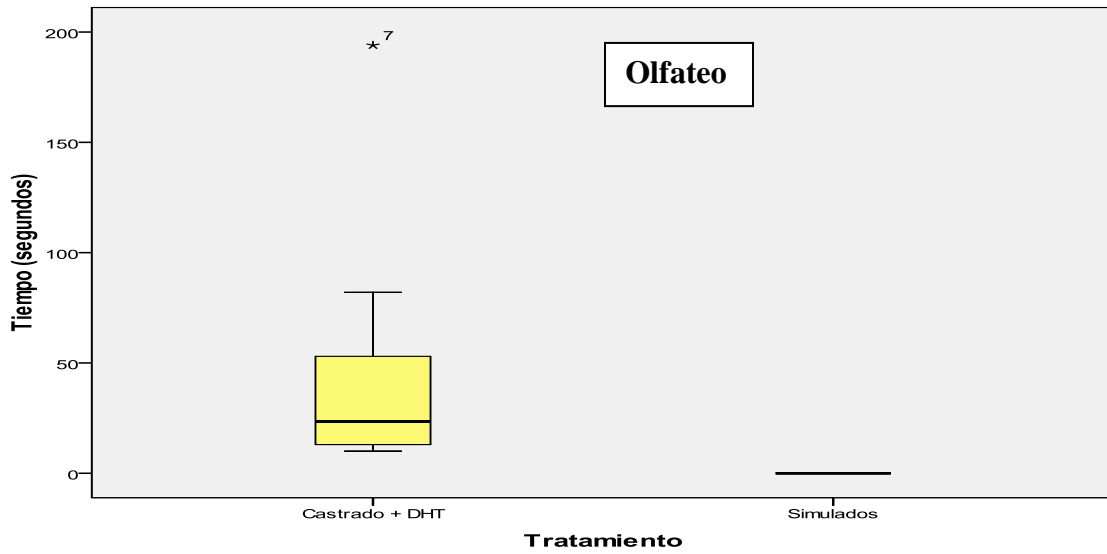


Fig. 10 Los machos castrados con implante de DHT invirtieron significativamente más tiempo en el olfateo que los machos simulados ($W=55$, $p=0.001$, $N=10$).

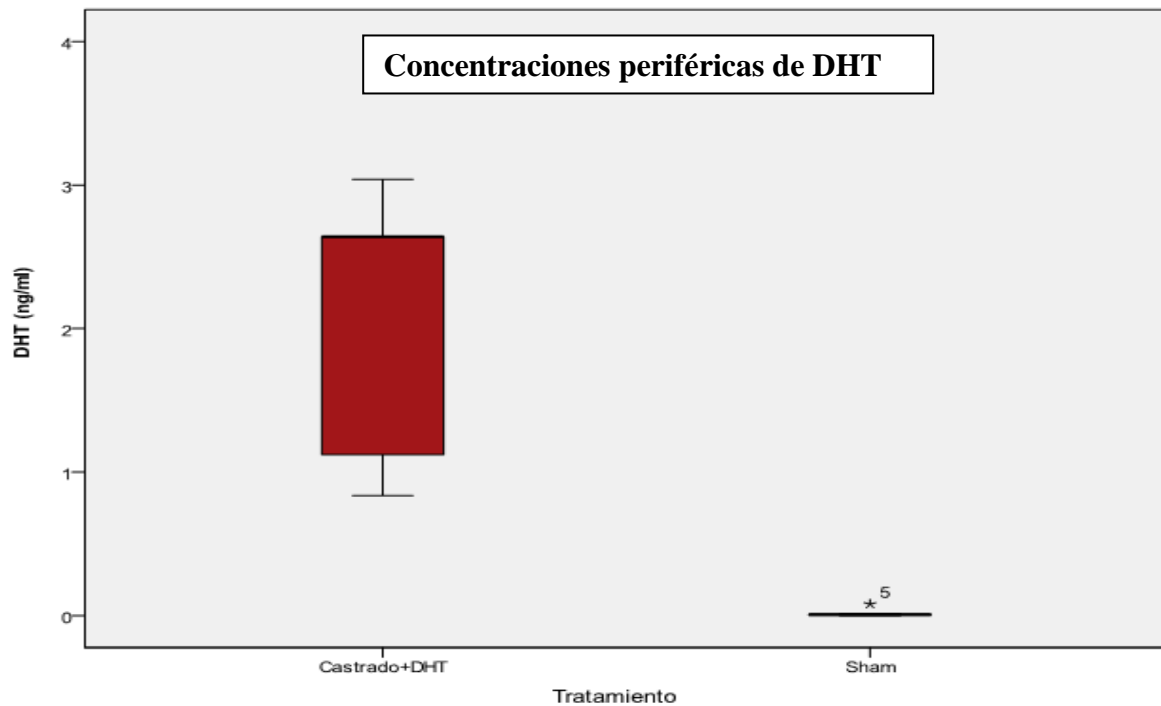


Fig. 11 Los gerbos con implantes de DHT tuvieron concentraciones periféricas de DHT significativamente más altas que los simulados ($W=55$, $p=0.001$, $N=10$).

7.4 Comparación entre los grupos

Al comparar todos los grupos se tiene que la conducta de abrigo, que sólo fue observada en los machos castrados e implantados con T y los castrados e implantados con E2, no difirió significativamente entre estos 2 grupos (Fig. 12).

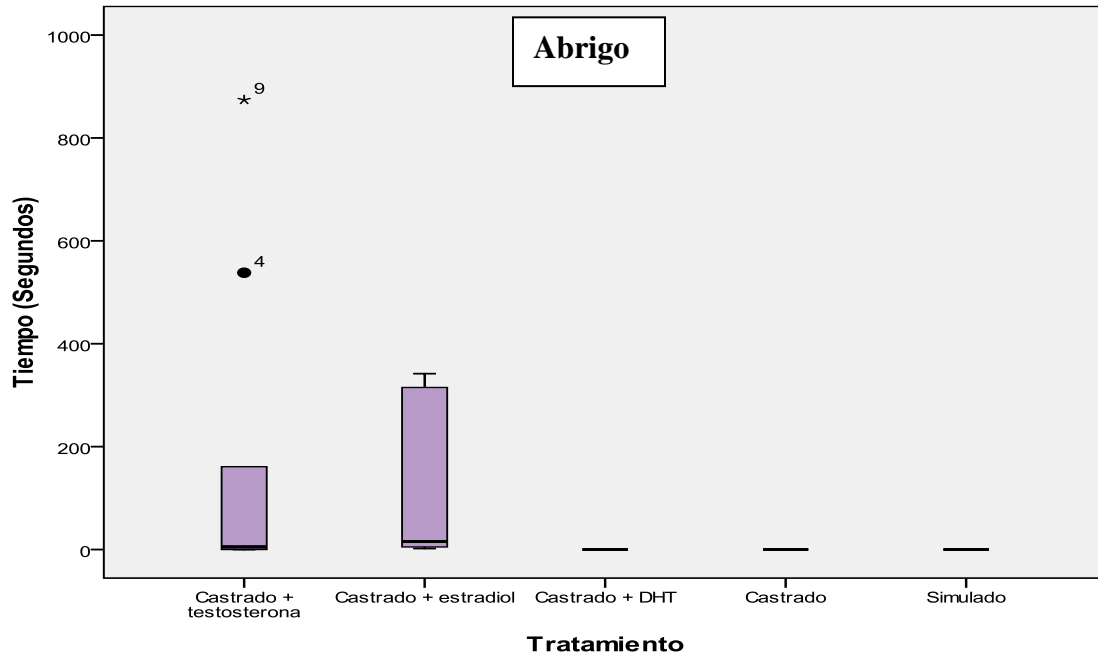


Fig. 12 Únicamente los gerbos implantados con T o E2 exhibieron conducta de abrigo ($H=33.72$, $p=0.001$, $N=10$), T vs E2 ($U=38$, $p=0.36$, $N=10$).

En cuanto a la comparación de todos los grupos en la conducta de acicalamiento se observó que no hubo diferencias significativas entre T, E2 y DHT (Fig. 13), solo existieron diferencias significativas entre los tres grupos antes mencionados al compararlos con los simulados o castrados (Fig. 13).

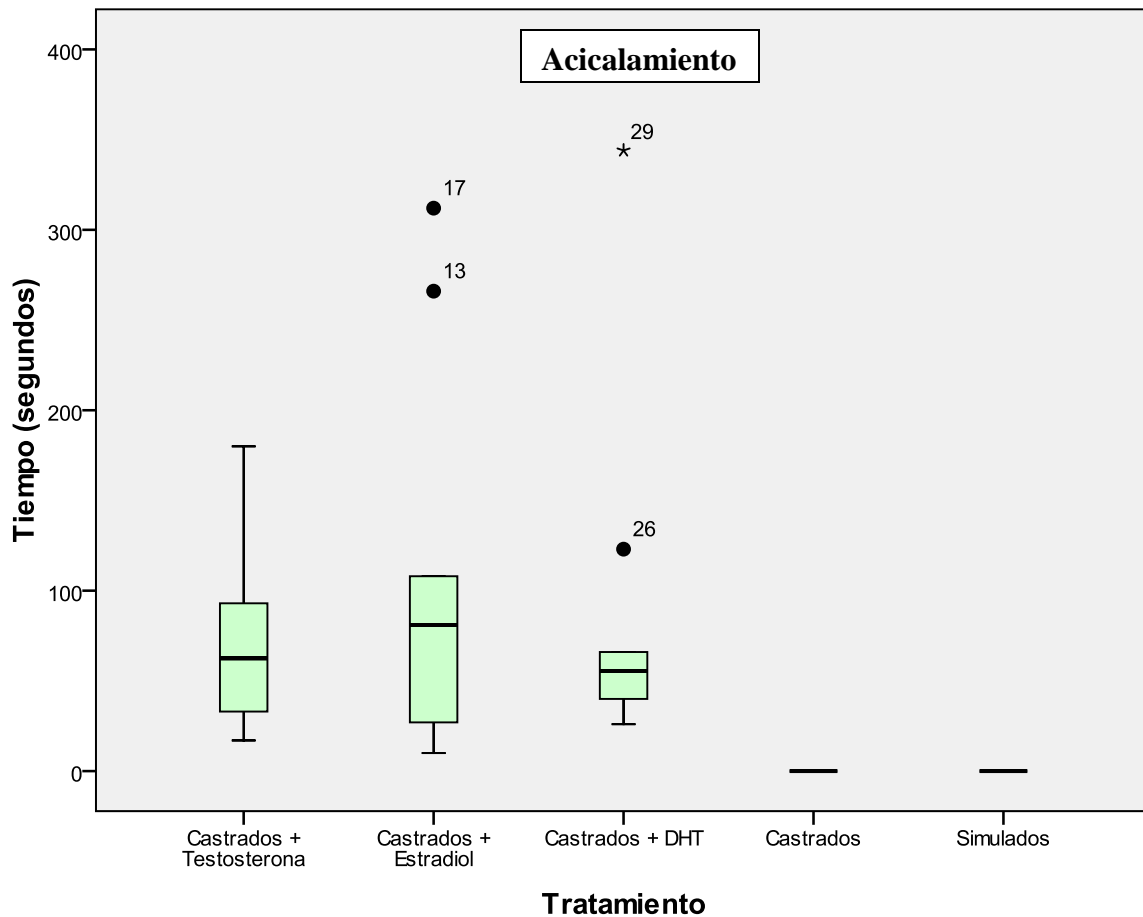


Fig. 13 Los gerbos implantados con T, E2 o DHT desplegaron mas acicalamiento a diferencia de los castrados y simulados ($H=37.76$, $p=0.001$, $N=10$). T vs E2 ($U=46$, $p=0.76$, $N=10$), T vs DHT ($U= 49.5$, $p=0.97$, $N=10$), E2 vs DHT ($U=46.5$, $p=0.79$, $N=10$).

La comparación entre grupos en cuanto a olfateo entre machos tratados con T, E2 y DHT indicó que no hubo diferencias significativas entre ellos. Sin embargo, sí se observaron diferencias significativas entre estos grupos y los machos castrados y los simulados (Fig. 14).

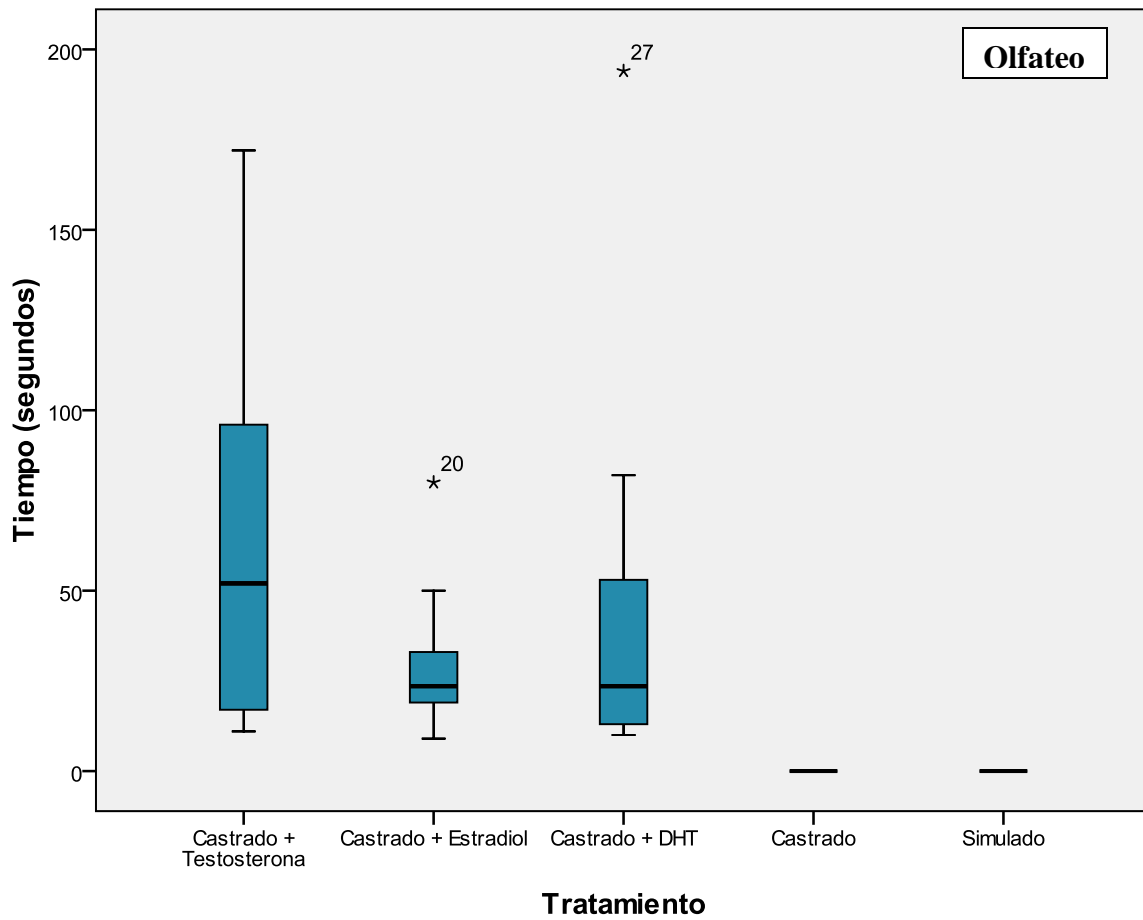


Fig. 14. La administración de T, E2 o DHT indujo la exhibición de olfateo, mientras que la castración y simulación de este procedimiento no tuvieron ningún efecto en la conducta ($H=38.8$, $p=0.001$, $N=10$). T vs E2 ($U=29.5$, $p=0.121$, $N=10$), T vs DHT ($U=32.5$, $p=0.186$, $N=10$), E2 vs DHT ($U=49.5$, $p=0.97$, $N=10$).

8.0 Discusión

La castración o la simulación de esta cirugía no ocasionaron ningún cambio en la conducta que los machos del gerbo de Mongolia exhibieron durante la primera exposición a las crías; los animales que mostraron indiferencia o agresión hacia éstas, durante las pruebas de selección, mostraron la misma conducta después del procedimiento quirúrgico. Sin embargo, la administración de testosterona (T) indujo la exhibición de cuidados paternos en el 100% de los machos tratados, a pesar de que antes de este tratamiento, éstos fueron agresivos hacia las crías. Estos resultados indican que la T está implicada en los mecanismos que inhiben el infanticidio y promueven el inicio de la conducta paterna en el gerbo de Mongolia.

Los resultados aquí obtenidos difieren de lo señalado por Clark y Galef (1999) quienes reportaron que la castración induce un aumento de los cuidados paternos, mientras que el remplazo con T los disminuye. La diferencia entre nuestros resultados y los obtenidos por Clark y Galef, es posible que se deban a los diseños experimentales; en nuestro modelo experimental se utilizaron gerbos vírgenes, que fueron elegidos por su agresión o indiferencia hacia las crías, mientras que en el estudio referido, no se realizaron pruebas de conducta paterna pretratamiento. Además, Clark y Galef utilizaron gerbos de 50 y 90 días, edad a la que la mayoría de estos roedores son paternos. Otra diferencia notoria es que los machos fueron puestos con una hembra preñada por otro macho antes de que las crías nacieran.

Cabe mencionar, que antes que al parece que un incremento en los niveles de T (provocado por el implante), podría funcionar como estímulo para el inicio de la conducta paterna, no siendo suficientes los niveles basales de T presentes en los simulados o en los gerbos antes de la castración. Estos resultados coinciden con lo observado en el ratón de los volcanes (*Neotomodon alstoni*), en el cual la administración T a machos vírgenes también indujo el despliegue de conducta paterna, aunque no en el 100% de los machos tratados, como en este estudio. Esto sugiere entonces, que el inicio de esta conducta podría ser dependiente de cambios hormonales, tal como ocurre en la conducta materna (Numan y cols. 1988).

En condiciones naturales un estímulo que ocasiona incrementos por arriba de los niveles basales de T es la cópula (Bonilla y cols. 2006, Frijakamel y cols. 1975, Gary y Kristen 1969,

Herz y Drori 1969). En el ratón de laboratorio la cópula es capaz de cambiar la conducta de infanticida a paternal (Huck y cols. 1982, Vom Saal 1985). Asimismo, en el ratón de California, se ha observado que la cópula induce la exhibición de cuidados paternos en el 25% de los machos, 24 horas después de ésta (Gubernick y cols. 1994). Trainor y Marler (2001) también han sugerido que incrementos en los niveles de T podrían estar implicados en el despliegue de la conducta paterna. Esto explicaría por qué sólo los gerbos con niveles de T por arriba de los niveles basales exhibieron conducta paterna a diferencia de los machos, en los que se simuló el tratamiento.

Aunque en el gerbo de Mongolia no se han medido los niveles de T después de la cópula, se ha señalado que la concentración de esta hormona se incrementa durante la cohabitación con la hembra, y en el día del nacimiento de las crías, cuando la hembra exhibe estro postparto (Martston 1972), son significativamente más altos comparados con machos aislados (Luis y cols. 2010). Trainor y Marler (2001), señalan que en el ratón de California la castración reduce la cantidad de cuidados paternos, mientras que los machos castrados que recibieron terapia con T exhibieron altos niveles de conducta paterna.

Aunque, estos resultados apoyan parcialmente la hipótesis de que la T induce la exhibición de cuidados paternos a través de su conversión a estradiol (E2), debido a que el 100% de los machos tratados con E2 desplegaron conducta paterna, no obstante que antes de este tratamiento fueron agresivos hacia las crías. Estos resultados coinciden con lo observado en el ratón de California en el cual se ha demostrado que tanto la T como el E2 incrementan los cuidados paternos. Además, Trainor y Marler (2002) inhibiendo la actividad de la aromatasa (enzima encargada de transformar la T en E2) con fradzole, observaron que las actividades paternas disminuían. Asimismo, en este roedor se demostró que la actividad de la aromatasa en el área preóptica media, es significativamente más alta en los machos que son padres que en aquellos que sólo se encuentran apareados (Trainor y cols. 2003), lo cual mostró que la T ejerce sus efectos en la regulación de la conducta paterna a través de su conversión a estradiol.

No obstante los resultados aquí obtenidos indican que la DHT también está implicada en la inhibición del infanticidio y la exhibición de conductas paternas como el olfateo y el

acicalamiento, aunque estos resultados inesperados, porque inicialmente se esperaba que esta hormona, no tuviera ningún efecto en la conducta, bajo el supuesto de no ser aromatizable a E2. No obstante, los resultados aquí obtenidos mostraron que la administración de esta hormona inhibió la conducta infanticida y promovió la interacción macho-crías. La administración de DHT indujo acicalamiento y olfateo, pero no el abrigo. Además, el acicalamiento inducido por DHT fue diferente al inducido por T y E2, debido a que los machos tratados con DHT, acicalaron principalmente el dorso de las crías, a diferencia de los tratados con T y E2 que acicalan la región perianal.

Estos resultados sugieren que la conducta paterna en el gerbo de Mongolia puede ser regulada por las dos vías; la estrógenica y la androgénica. Sin embargo, sólo investigaciones futuras podrán establecerlo.

Por otra parte, es posible que la DHT esté involucrada en inhibir la fobia o estrés que experimentan los machos vírgenes ante la presencia de las crías. Se ha señalado que las hembras vírgenes también experimentan estrés hacia las crías de la especie, cuando son expuestas a éstas (Numan 1988). Con base en esto, es posible que los machos vírgenes también experimenten estrés al ser expuestos a crías ajenas de la especie y que la DHT facilite el acercamiento de los machos a las crías, inhibiendo el estrés. Varios estudios han mostrado que las hormonas esteroides, como la DHT, tienen la potencialidad de disminuir el estrés (Cheryl y JoAnna 2003).

Cabe mencionar, que resultados similares no han sido reportados en la literatura, debido a que este es el primer estudio en el que se trabaja con inducción de conducta paterna, en machos vírgenes, agresivos o indiferentes hacia las crías, utilizando T, E2 y DHT.

Finalmente, estos hallazgos permiten plantear la posibilidad de que el inicio de la conducta paterna, como la materna, sea dependiente de cambios hormonales, como un incremento en los niveles de T.

9.0 Conclusión

La T inhibe la conducta infanticida e induce la exhibición de cuidados paternos en el gerbo de Mongolia.

El E2 tuvo el mismo efecto que la T, al inhibir el infanticidio y promover el despliegue de la conducta paterna.

La DHT inhibió el infanticidio y promovió el despliegue de conductas paternas como el olfateo y el acicalamiento.

10.0 Perspectivas.

Investigar los mecanismos neurales a través de los cuales la T y el E2 induce la exhibición de cuidados paternos en machos vírgenes del gerbo de Mongolia.

Investigar si los genes C-fos son mediadores en el encendido de la conducta paterna.

Analizar el efecto de la inhibición de la aromatasa en la conducta paterna del gerbo de Mongolia.

11.0 Referencias

1. Allman J, Rosin A, Kumar R, Hasenstaub A. 1998. Parenting and survival in anthropoid primates: caretakers live longer. *Proc Natl. Acad. Sci.* 95:6866–6869.
2. Bamshad M, Novak M, De Vries G. 1994. Cohabitation alters vasopressin innervations and paternal behavior in prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Physiol. Behav.* 56:751–758.
3. Bart J, Tornes A. 1989. Importance of monogamous male birds in determining reproductive success. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 24: 109-116.
4. Bester-Meredith JK, Young LJ, Marler CA. 1999. Species differences in paternal behavior and aggression in *Peromyscus* and their associations with vasopressin immunoreactivity and receptors. *Horm. Behav.* 36:25–38.
5. Blumer LS. 1982. A bibliography and categorization of bony fishes exhibiting parental care. *Zool. J. Linn. Soc.* 76:1–22.
6. Bridges RS, Ronsheim PM. 1990. Prolactin (PRL) regulation of maternal behavior in rats: bromocriptine treatment delays and PRL promotes the rapid onset of behavior. *Endocrinology* 126:837–848.
7. Bridges RS, Robertson MC, Shiu RPC, Sturgis JD, Henriquez BM, Mann PE. 1997. Central lactogenic regulation of maternal behavior in rats: steroid dependence, hormone specificity, and behavioral potencies of rat prolactin and rat placental lactogen I. *Endocrinology* 138:756–763.
8. Brown RE. 1993. Hormonal and experiential factors influencing parental behaviour in male rodents: an integrative approach. *Behav. Processes* 30:1–28.
9. Brown RE, Murdoch T, Murphy PR, Moger WH. 1995. Hormonal Responses of male gerbils to stimuli from their mate and pups. *Horm. Behav.* 29, 474-491.
10. Callard GV. 1984. Aromatization in brain and pituitary. In *metabolism of hormonal steroids in the neuroendocrine structures*. Edited by F. Celotti, F. Naffolin and L. Martini. Raven press, New York, pp. 79-102.
11. Cantoni D, Brown RE. 1997. Parental investment and reproductive success in the California mouse *Peromyscus californicus*. *Animal Behaviour* 54:377-386.

12. Castro WLR, Matt KS. 1997. The importance of social condition in the hormonal and behavioral responses to an acute social stressor in the male Siberian dwarf hamster (*Phodopus sungorus*). *Horm. Behav.* 32:209-216.
13. Cheryl A, JoAnna W. 2003. Effect of prenatal stress and gonadal hormone condition on depressive behaviors of female and male rats. *Horm. Behav.* 44:319-326.
14. Clark MM, Galef BG. 1999. A testosterone-mediated trade-off between parental and sexual effort in male mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). *J. Comp. Psychol.* 113:388-395.
15. Clark MM, Galef BG. 2000. Effects of experience on the parental responses of male Mongolian gerbils. *Dev. Psychobiol.* 36:177-185.
16. Clark MM, Galef BG. 2001. Age-related changes in paternal responses of gerbils parallel changes in their testosterone concentrations. *Dev. Psychobiol.* 39:179-187.
17. Clutton-Brock TH. 1991. The evolution of parental care. Princeton, NJ: Princeton University Press.
18. Dewsbury DA. 1985. Paternal behavior in rodents. *Am. Zool.* 25:841-852.
19. Ellen D, Ketterson, Val Nolan Jr. (1994) Annual Review of Ecology and Systematics 25: 601-628.
20. Elwood RW. 1983. Paternal care in rodents. In R.W. Elwood (eds.), *Parental Behaviour of Rodents*. Chichester. John Wiley. pp. 235-257.
21. Fisher AE. 1956. Maternal and sexual behavior induced by intracranial chemical stimulation. *Science* 124:228-229.
22. Fivizzani AJ, Oring LW. 1986. Plasma steroid hormones in relation to behavioral sex role reversal in the spotted sandpiper, *Actitis macularia*. *Biol. Reprod.* 16:666-667.
23. Gubernick DJ, Alberts JR. 1987. The biparental care system of the California mouse, *Peromyscus californicus*. *J. Comp. Psychol.* 101:169-177.
24. Gubernick DJ, Nelson RJ. 1989. Prolactin and paternal behavior in the biparental California mouse, *Peromyscus californicus*. *Horm. Behav.* 23:203-210.
25. Gubernick DJ, Sengelaub DR, Kurz EM. 1993. A neuroanatomical correlate of paternal and maternal behavior in the biparental California mouse (*Peromyscus californicus*). *Behav. Neurosci.* 107:194-201.

26. Gubernick, DJ, Schneider AK, Jeannotte AL. 1994. Individual differences in the mechanism underlying the onset and maintenance of parental behavior and the inhibition of infanticide in the monogamous biparental California mouse, *Peromyscus californicus*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 34: 225-231.
27. Ikemoto S, Panksepp J. 1999. The role of nucleus accumbens dopamine in motivated behavior: a unifying interpretation with special reference to reward seeking. *Brain Res. Rev.* 31:6-41.
28. Insel TR, Wang ZX, Ferris CF. 1994. Patterns of brain vasopressin receptor distribution associated with social organization in microtine rodents. *J. Neurosci.* 14:5381-5392.
29. Jones JS, Wynne-Edwards KE. 2000. Paternal hamsters mechanically assist the delivery, consume amniotic fluid and placenta, remove fetal membranes, and provide parental care during the birth process. *Horm.Behav.*37:116-125.
30. Kelley DB. 1988. Sexually dimorphic behaviors. *Ann. Rev. Neurosci.* 11:225-251.
31. Khatib S, Insel TR, Young LJ. 2001. The effects of pup exposure on parental responsiveness, serum prolactin, and prolactin receptor gene expression in the biparental prairie vole. *Soc.Neurosci.Abstr.*27:746-4.
32. Kirkpatrick B, Carter C, Newman S, Insel T. 1994a. Axon sparing lesions of the medial nucleus of the amygdala decrease affiliative behaviors in the prairie vole (*Microtus ochrogaster*): behavioral and anatomic specificity. *Behav.Neurosci.* 108:501-513.
33. Kirkpatrick B, Kim JW, Insel TR. 1994b. Limbic system fos expression associated with paternal behavior. *Brain. Res.* 658:112-118.
34. Kleiman DG, Malcolm J. 1981. The evolution of male parental investment in mammals. In: *Parental care in mammals* (Gubernick DJ, Klopfer PH, eds), pp 347-387. New York: PlenumPress.
35. Lee AW, Brown RE. 2007. Comparison of medial preoptic, amygdala, and nucleus accumbens lesions on parental behavior in California mice (*Peromyscus californicus*). *Physiol. Behav.* 92 (4): 617-628.

36. Lonstein JS, De Vries GJ. 1999. Comparison of the parental behavior of pair-bonded female and male prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Physiol. Behav.* 66:33–40.
37. Lonstein JS, De Vries GJ. 2000a. Sex differences in the parental behavior of rodents. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 24:669–686.
38. Lonstein JS, De Vries GJ. 2000b. Influence of gonadal hormones on the development of parental behavior in adult virgin prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Behav. Brain Res.* 114:79–87.
39. Lubin M, Leon M, Moltz H, Numan M. 1972. Hormones and maternal behavior in the male rat. *Horm. Behav.* 3:369–374.
40. Luis J, Vázquez GB, Martínez M, Carmona A, Ramos G, Ortiz G. 2010. Neither testosterone levels nor aggression decrease when the male Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*) displays paternal behavior, *Horm. Behav.* 57 (3): 271-275.
41. Maestriperi D, Alleva E. 1991. Do male mice use parental care as a buffering strategy against maternal aggression? *Anim. Behav.* 41:904–906.
42. Marques DM. 1979. Roles of main olfactory and vomeronasal systems in the response of the female hamster to young. *Behav. Neural Biol.* 26:311–329.
43. Mayer AD, Rosenblatt JS. 1979. Hormonal influences during the ontogeny of maternal behavior in female rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 93(5):879-898.
44. Mayer AD, Freeman NCG, Rosenblatt JS. 1979. Ontogeny of maternal behavior in the laboratory rat: Factors underlying changes in responsiveness from 30 to 90 days. *Dev. Psychobiol.* 12(5):425-439.
45. McQueen-Williams M. 1935. Maternal behavior in male rats. *Science* 82:2115-2116.
46. Miceli MO, Fleming AS, Malsbury CW. 1983. Disruption of maternal behaviour in virgin and postparturient rats following sagittal plane knife cuts in the preoptica area hypothalamus. *Behav. Brain. Res.* 9:337–360.
47. Miceli MO, Malbury CW. 1982. Sagittal knife cuts in the near and far lateral preoptic area-hypothalamus disrupt maternal behaviour in female hamsters. *Physiol. Behav.* 28: 857–867.

48. Mock DW, Fujioka M. 1990. Monogamy and long-term pair bonding in vertebrates. *Trends Ecol. Evol.* 5:39-43.
49. Monaghan EP, Glickman SE. 1992. Hormones and aggressive behavior. In J. B. Becker, S. M. Breedlove y D. Crews (eds.), *Behavioral endocrinology*. Cambridge MA MIT Press. Pp 261-286.
50. Newman SW. 1999. The medial extended amygdala in male reproductive behavior. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 877:242–257.
51. Numan M. 1974. Medial preoptic area and maternal behavior in the female rat. *J Comp Physiol. Psychol.* 87:746–759.
52. Numan M. 1988. Neural basis of maternal behavior in the rat, *Psycho neuro endocrinology* 13: 47-62.
53. Numan M. 1994. Maternal behavior. En: *The Physiology of Reproduction*, (Eds.): E. Knobil J. Neill. Raven Press. New York.
54. Numan M, Callahan EC. 1980. The connections of the medial preoptic region and maternal behavior in the rat. *Physiol. Behav.* 25:653–665.
55. Numan M, Corodimas KP, Factor EM. 1985. The effects of paraventricular hypothalamic lesions on maternal behavior in rats. *Physiol. Behav.* 35:417–425.
56. Numan M, Corodimas KP, Numan MJ, Piers WD. 1988. Axon-sparing lesion of the preoptic region and substantia innominata disrupt maternal behavior in rats. *Behav. Neurosci.* 102:381–396.
57. Numan M, Morrell JI, Pfaff DW. 1985b. Anatomical identification of neurons in selected brain regions associated with maternal behavior deficits induced by knife cuts of the lateral hypothalamus in rats. *J. Comp. Neurol.* 237:552–564.
58. Numan M, Nagle DS. 1983 Preoptic area and substantia nigra interact in the control of maternal behavior in the rat. *Behav. Neurosci.* 97:120-139.
59. Numan M, Rosenblatt JS, Komisaruk BR. 1977. Medial preoptic area and onset of maternal behavior in the rat. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 91(1):146-164.
60. Numan M, Smith HG. 1984. Maternal behavior in rats: Evidence for the involvement of preoptic projections to the ventral tegmental area. *Behav. Neurosci.* 98(4):712-727.

61. Nunes S, Fite JE, Patera J, French JA. 2001. Interactions among paternal behavior, steroid hormones, and parental experience in male marmosets (*Callithrix kuhilii*). *Horm. Behav.* 39: 70-82.
62. Olney JW, Rhee V, Ho OL. 1979. Kainic acid: a powerful neurotoxic analogue of glutamate, *Brain Research* 77:507-512.
63. Olney J, Price M, Salles KS, Labruyere J, Friedrich G. 1987. MK-801 powerfully protects against N- methyl-D-aspartate toxicity, *Eur. J. Pharmacol.* 141:357-361.
64. Reburn CJ, Wynne-Edwards KE. 1999. Hormonal changes in males of a naturally biparental and a uniparental mammal. *Horm. Behav.* 35: 163-176.
65. Roberts RL, Miller AK, Taymans SE, Carter CS. 1998. Role of social and endocrine factors in alloparental behavior of prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Can. J. Zool.* 76:1862–1868.
66. Rosenberg KM. 1974. Effect of pre- and post-pubertal castration and testosterone on pup killing behavior in the male rat. *Physiol. Behav.* 13:159–161.
67. Rosenberg PA, Herrenkohl LR. 1986. Maternal behavior in male rats: critical timing for the suppressive action of androgen. *Physiol. Behav.* 16:293-297.
68. Rosenblatt JS, Ceus K. 1998. Estrogen implants in the medial preoptic area stimulate maternal behavior in male rats. *Horm. Behav.* 33:23–30.
69. Rosenblatt JS, Mayer AD, Giordano AL. 1988. Hormonal basis during pregnancy for the onset of maternal behavior in the rat. *Psychoneuroendocrinology* 13: 29-46.
70. Schneider JS, Stone MK, Wynne-Edwards KE, Horton TH, Lydon J, O'Malley B, Levine JE. 2003. Progesterone receptors mediate male aggression toward infants. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100:2951–2956.
71. Schum E, Wynne-Edwards EK. 2005. Estradiol and progesterone in paternal and non-paternal hamsters (*Phodopus*) becoming fathers: conflict with hypothesized roles. *Horm. Behav.* 47:410-418.
72. Stern JM. 1989. Maternal behavior: sensory, hormonal, and neural determinants. In: *Psychoendocrinology* (Bush SR, Levine S, eds.), pp 105–226. New York: Academic Press.

73. Torres JM, Ortega E. 2003. Differential regulation of steroid 5alpha-reductase isozymes expression by androgens in the adult rat brain. *FASEB J.* 17(11):1428-33.
74. Trainor BC, Marler CA. 2001. Testosterone, paternal behavior, and aggression in the monogamous California mouse (*Peromyscus californicus*). *R. Soc. Lond.* 269: 823-829.
75. Trainor BC, Marler CA. 2002. Testosterone promotes paternal behaviour in a monogamous mammal via conversion to oestrogen. *Proc. R. Soc. London. B.* 269:823-829.
76. Trainor BC, Bird IM, Alday NA, Schlinger BA, Marler CA. 2003. Variation in aromatase activity in the medial preoptic area and plasma progesterone is associated with the onset of paternal behavior. *Neuroendocrinology* 78: 36-44.
77. Trivers R. 1972. Parental investment and sexual selection. In: *Sexual selection and the descent of man, 1871–1971* (Campbell BG, ed), pp 136–179. Chicago: Aldine.
78. Wang Z, De Vries GJ. 1993. Testosterone effects on paternal behavior and vasopressin immunoreactive projections in prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Brain Res.* 631: 156–160.
79. Wang Z, Ferris CF, De Vries GJ. 1994. Role of septal vasopressin innervation in paternal behavior in prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Proc Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 91:400– 404.
80. Wynne-Edwards KE, Reburn CJ. 2000. Behavioural endocrinology of mammalian fatherhood. *Trends. Ecol. Evol.* 15:464-468.
81. Wynne-Edwards KE, Timonin ME. 2007. Paternal care in rodents: Weakening support for hormonal regulation of the transition to behavioral fatherhood in rodent animal models of biparental care. *Hormones and Behavior* 52:114-121.

82. Young LJ, Muns S, Wang Z, Insel TR. 1997. Changes in oxytocin receptor mRNA in the rat brain during pregnancy and the effects of estrogen and interleukin-6. *J. Neuroendocrinol.* 9:859–865.
83. Young L, Nilsen R, Waymire K, MacGregor G, Insel T. 1999. Increased affiliative response to vasopressin in mice expressing the V1a receptor from a monogamous vole. *Nature* 400:766–768.
84. Ziegler TE, Wegner FH, Snowdon CT. 1996. Hormonal responses to parental and non-parental conditions in male cotton-top tamarins, *Saguinus Oedipus*, a New World primate. *Horm. Behav.* 30:287-297.
85. Ziegler TE, Snowdon CT. 2000. Preparental hormone levels and parenting experience in male cotton-top tamarins, *Saguinus Oedipus*. *Horm. Behav.* 38(3):159-167.

12.0 Publicaciones



Conducta paterna y testosterona en el gerbo de Mongolia (*Meriones unguiculatus*)

Ana Lilia Martínez Bravo y Juana Alba Luis Díaz

Laboratorio de la Biología de la Reproducción, Unidad de Morfología y Función,
FES Iztacala, UNAM.

En los mamíferos los cuidados paternos son poco comunes, debido a sus estrategias reproductivas. Sin embargo, en algunas especies de estos vertebrados el macho participa en el cuidado de las crías. En los machos de especies biparentales (cuando la hembra y el macho participan en el cuidado de las crías) ocurren cambios hormonales que posiblemente están asociados con el encendido de la conducta paterna. Los primeros estudios correlativos entre la presencia de cuidados paternos y la testosterona fueron realizados en el hámster enano y el gerbo de Mongolia. Estos estudios señalaron que los niveles periféricos de testosterona disminuyen después del nacimiento de las crías, cuando los machos exhiben cuidados paternos. No obstante, estudios subsiguientes han indicado que los niveles de testosterona no disminuyen cuando los machos de estos roedores proporcionan cuidados paternos y en el ratón de California se ha demostrado que esta hormona es necesaria para la exhibición de cuidados paternos. El gerbo de Mongolia es un roedor monógamo que presenta cuidados paternos naturales, por lo cual es un modelo adecuado en el estudio de las bases hormonales de la conducta paterna. En este contexto el presente protocolo tiene como finalidad establecer si la testosterona participa en la regulación de la conducta paterna del gerbo de Mongolia. En este estudio se utilizarán 40 gerbos machos, sin experiencia sexual, con una edad de 180-210 días, estos roedores serán seleccionados por su indiferencia o agresividad hacia las crías, para lo cual serán sometidos a *screen test* de conducta paterna. Los machos seleccionados se organizarán en cuatro grupos, de 10 animales cada uno; Grupo 1, machos con castración simulada y con implantes vacíos; Grupo 2, machos castrados e implantes vacíos; Grupo 3, machos castrados e implantados con testosterona y Grupo 4, machos intactos. Para las pruebas de conducta paterna los machos serán colocados en jaulas con aserrín limpio y después de 10 minutos de adecuación se les introducirá tres crías de uno a 3 días de nacida. Se registrarán las actividades paternas (abrigo, acicalamiento, olfateo y construcción del nido). Las observaciones se realizarán directamente, por un solo observador, durante 30 minutos. A cada uno de los machos de los 4 grupos, se les extraerán muestras sanguíneas por vía retro-orbital, ligeramente anestesiados, un día antes de la castración e implantación o simulación de esta cirugía y después de las pruebas de conducta paterna. La sangre obtenida se centrifugará a 10000 rpm, durante 5 minutos y el plasma colectado se almacenará hasta la

19 al 22 de octubre de 2011. Tlaxcala, México.

cuantificación de testosterona por la técnica de ELISA. Los datos obtenidos de las concentraciones de testosterona en plasma serán contrastados a través de una ANOVA de una sola vía.

Proyecto financiado por Conacyt (CVU 419615) y PAPIIT (in223610).

WE085
TESTOSTERONE AND OESTRADIOL INDUCED PATERNAL BEHAVIOR IN THE MONGOLIA GERBILS (*MERIONES UNGUICULATUS*)

Martínez- Bravo A (1), Ramos-Blancas G (1), Luis J (1) (1), Lab. Biología de la Reproducción, FES Iztacala UNAM

In the California mouse the testosterone (T) promotes paternal behavior; this effect is mediated by the conversion of T to oestradiol (E2) by aromatase in the medial area preoptic (MPOA). In the Mongolia gerbil some studies reported that peripheral T levels decrement after the birth of the offspring when males exhibit paternal care. However, subsequent studies have indicated that T levels do not decrease when the males provide parental care rodents. The aim of this study was to determine whether testosterone is involved in the regulation of paternal behavior, as well as to investigate whether this hormone acts via conversion to E2 in the Mongolia gerbil. Through screen test paternal behaviour we choose 40 gerbils virgin, aggressive or indifferent towards pups, of 180-210 days of age. 10 gerbils were castrated bilaterally, 10 underwent bilateral castration and testosterone replacement, other 10 males castrated and oestradiol implant were placed and 10 males were utilized sham procedure. Only castrated males treated with T or E2 implants showed paternal behavior; these males exhibited high levels the huddling and grooming of pups, while castrated males and sham males did not display paternal behavior. These results showed that T or E2 replacement were able to change the aggressive or indifferent behavior towards pups into paternal behavior. These results also suggest that one of the ways of action of testosterone in regulation this behavior is through conversion to oestradiol, although more studies are needed to confirm these findings.

WE087
ESTRADIOL ALONE CAN ELICIT ESTROUS BEHAVIOR IN OVARECTOMIZED RATS BY ACTING THROUGH BOTH ESTROGEN AND PROGESTERONE RECEPTORS

GONZÁLEZ-FLORES O(1), GÓMORA-ARRATI P (1), LIMA-HERNÁNDEZ F (2), GARCÍA-JUÁREZ M (1) and BEYER C (1). (1)Univ Autónoma de Tlaxcala-CINVESTAV, (2)Estudiante del Postgrado en Ciencias Biológicas de la UAT.

Estrous behavior is induced in ovariectomized (ovx) rodents by sequential treatment with estradiol (E2) and progesterone (P). However in ovx rats receptivity can be induced with repeated doses of E2 alone, indicating that E2 "per se" can trigger estrous behavior when acting on the brain for a relatively long period, around two days. No information exists on the amount of E2 required to trigger estrous behavior in ovx primed rats. In the present study, dose-response curves for the lordosis quotient (LQ), and proceptivity were constructed by injecting several dose of E2 (dose range: 0.016 to 10 ng) into the lateral ventricle 40 hrs after an initial injection of 5 µg estradiol benzoate. Two nanograms of E2 was found to produce a maximal response at 120 min postinjection. Tamoxifen (estrogen receptor antagonist) inhibited the behavioral responses obtained following 2 ng of E2 administration. Moreover, the anti-progesterone RU486 (5 mg, s.c.), injected 60 min before the most effective dose of E2 (2 ng), significantly inhibited this action on estrous behavior (lordosis and proceptivity). Data show that (i) a second E2 treatment given to estrogen-primed ovx rats facilitates intense estrous behavior and (ii) E2 elicits this effect by acting, at least partially, through both estrogen and P receptor.

WE086
EFFECTS OF OVARIAN HORMONES ON CORTICAL SPREADING DEPRESSION. A TOPICAL CEREBRAL APPLICATION STUDY IN FEMALE ADULT RATS

ACCIOLY NE(1), DURÁN P(1,2) and GUEDES RCA(1), (1)Dept. de Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brasil and (2)Dept. de Biología Celular, Facultad de Ciencias, UNAM, México.

Aims: Gonadal steroid hormones as progesterone and estradiol when unbalanced, exerts several neural alterations, particularly in those areas involved in sexual behavior as the preoptic area and the hypothalamus. There is also evidence of a neuroprotective effect of estradiol and progesterone applied just after ischemia in the central nervous system (CNS). These hormones exert electrophysiological effects on the brain, some of which depending on the excitability mechanisms. *In vitro* studies suggest a facilitatory influence of estrogen and progesterone on the phenomenon designated as Cortical Spreading Depression (CSD). Here we addressed the issue by characterizing *in vivo*, alterations in the brain ability to propagate CSD in female adult rats. CSD has been used as a physiological index to analyze the effects of the estrogen and progesterone topically applied in the cerebral cortex. Methods: Wistar female adult rats (90-120 days old) underwent CSD recording sessions (5-6 h), and hormone solutions were applied during the last 10 min of the 20-min interval kept between two consecutive KCl-stimulations (used to elicit CSD). In each animal, 10 min topical b-estradiol (10 mg/ml; n = 6) or progesterone (131.5mg/ml; n=6) application over a circular cortical region (3-4 mm diameter) on the intact dura-mater. The CSD propagation was evaluated before and after hormones application. Only proestrous animals were used. Results: Compared to basal values (3.30 ± 0.13 and 3.17 ± 0.11 for progesterone and estradiol groups, respectively), the hormones significantly increased the CSD velocity (3.57 ± 0.27 and 3.47 ± 0.22, respectively). After the hormone effect was documented, the topically treated region was dried with cotton and subsequent SD episodes documented the recovery of SD velocity. Conclusions: It is concluded that topical application of ovarian hormones is causally and reversibly associated with the CSD acceleration in the adult brain. We suggest that this hormonal action may operate through the brain's excitability mechanisms. Financial support: FACEPE, CNPq and Capes

WE088
LIPID PEROXIDATION AND ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IS DIFFERENT IN TYPE 1 AND TYPE 2 DIABETIC RATS

Keita, Hady (1); Quevedo Corona ,Lucia (1) Ramírez San Juan, Eduardo(1) y Paniagua Castro, Norma. Instituto Politécnico Nacional , Escuela Nacional Ciencias Biológicas , (1) Departamento de Fisiología. México, D.F.

Macro and microvascular diseases are the main causes of death in patients with type 1 or type 2 diabetes mellitus. Murine models have been widely used for understanding the pathophysiology of diabetes, however, the magnitude of lipoperoxidation produced by hyperglycemia in these models and if this is related to the degree of vascular disruption has not been determined yet, so the aim of this study was to investigate the level of lipoperoxidation in some organs and determine vascular reactivity in rats with diabetes mellitus type 1 and 2. Four groups of rats were used: streptozotocin (STZ; 65 mg / kg ip), control (sodium citrate), STZ after administration of nicotinamide (Nic; 150 mg / kg ip) and control (sodium citrate + Nic). Animals were sacrificed 20 weeks after administration of STZ. We determined glucose, insulin, FFA, LDL, HDL plasma levels and lipid peroxidation in liver, heart and aorta. Thoracic and abdominal aorta was dissected to determine vascular reactivity to phenylephrine, isoproterenol, sodium nitroprusside and carbachol. Diabetic rats ingested more food and water, and lost more weight than control rats. The lipid peroxidation was higher in heart, liver and aorta of diabetic rats compared to control rats. In diabetic rats, total cholesterol, LDL and TG were higher and HDL was lower than in control rats. The vasoconstrictor response to phenylephrine in STZ groups was lower than STZ + Nic and control groups. Diabetic animals showed a lower vasorelaxation response to carbachol and isoproterenol, but there was no significant difference in vascular response to sodium nitroprusside. The group of rats with STZ showed higher hyperglycemia and alterations in endothelial function than the group of rats with STZ + Nic. The lipid peroxidation in the tissues did not differ between the diabetic rat models. Hyperglycaemia alters endothelial membrane thus impairing vasomotor response.



GRUPO TEMÁTICO: ETOLOGÍA

19

Conducta paterna y testosterona en el gerbo de Mongolia (*Meriones unguiculatus*)

¹Martínez B. Ana Lilia, ¹Ramos B. Guillermo, ²Carmona C. Agustín, ¹Cárdenas L. Mario, ¹Luis D. Juana

¹Laboratorio de Biología de la Reproducción, UFM, FES Iztacala. Universidad Nacional Autónoma de México, ²Laboratorio de Biología Animal Experimental, Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México.

En los roedores, la participación del macho en el cuidado de las crías ha sido descrita en varias especies como, *Peromyscus californicus* (ratón de California), *Microtus ochrogaster* (ratón de la pradera), *Phodopus campbelli* (hámster enano), *Meriones unguiculatus* (gerbo de Mongolia), entre otros. Diversos estudios mencionan que en los mamíferos ocurren cambios hormonales que están asociados con el encendido de la conducta paterna; la testosterona y la prolactina, entre otras hormonas, podrían estar implicadas en la regulación de esta conducta. En el ratón de California la castración reduce la cantidad de cuidados paternos, mientras que los machos castrados con implantes de testosterona exhiben altos niveles de conducta paterna. En el hámster enano, aunque la castración disminuye los niveles de testosterona la conducta paterna no es afectada. En este contexto es necesario investigar, cual es la relación entre conducta paterna y testosterona, en otros roedores que exhiben esta conducta.

OBJETIVO: determinar si la testosterona participa en la regulación de la conducta paterna en el gerbo de Mongolia.

MATERIAL Y MÉTODOS: se utilizaron 30 gerbos machos, vírgenes, indiferentes o agresivos hacia las crías, que fueron seleccionados a través de pruebas preliminares de conducta paterna. Se organizaron en 3 grupos de 10 animales cada uno: 20 gerbos fueron castrados bilateralmente, de estos a 10 se les colocaron implantes de testosterona. Otros 10 fueron utilizados en la simulación del procedimiento. Después del tratamiento todos los gerbos fueron sometidos a pruebas de conducta paterna. **RESULTADOS:** únicamente los gerbos tratados con testosterona cambiaron su conducta de indiferencia o agresión a paternal. El tiempo que estos roedores invirtieron en el abrigo ($H=11.5$, $P=0.003$, $N=10$), acicalamiento ($H=27.5$, $P=0.001$, $N=10$) y olfateo ($H=27.5$, $P=0.001$, $N=10$) fue significativamente mayor al de los animales castrados y con castración simulada.

CONCLUSIONES: estos resultados sugieren que la testosterona está implicada en los mecanismos que inhiben en el infanticidio y promueven la conducta paterna en el gerbo de Mongolia.



0-7.5 La testosterona y sus metabolitos en la regulación de la conducta paterna del gerbo de Mongolia (Meriones unguiculatus)

Martínez-Bravo AL (1), Ramos-Blancas G (2), Cárdenas M (3), Nicolás L (4), Martínez-Torres M (2), Luis J (2). (1) Universidad Autónoma de Tlaxcala, (2) FES Iztacala, UNAM, (3) Instituto Nacional de Nutrición, (4) Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta.

La testosterona (T) es una de las hormonas, que ha sido relacionada con la regulación de la conducta paterna de los mamíferos, esta hormona puede ejercer sus efectos, a nivel neural, a través de su conversión a estradiol (E2) o dihidrotestosterona (DHT). En el gerbo de Mongolia, se ha señalado que los niveles periféricos de T disminuyen después del nacimiento de las crías, cuando los machos exhiben cuidados paternos. También se ha reportado que la castración ocasiona un aumento de los cuidados paternos, mientras que la castración seguida del reemplazo con testosterona los disminuye. Estudios subsecuentes, han indicado que los niveles periféricos de T, no disminuyen cuando los machos de estos roedores proporcionan cuidados paternos. El objetivo del presente estudio fue determinar, si la T está involucrada en la regulación de la conducta paterna de este roedor, así como establecer si esta hormona actúa vía conversión a E2 o a dihidrotestosterona (DHT). A través de pruebas de conducta paterna fueron seleccionados 70 machos vírgenes, que mostraron agresión o indiferencia hacia las crías; 40 gerbos fueron castrados bilateralmente, de estos, 10 recibieron implantes con testosterona, 10 de estradiol y 10 de DHT, otros 30 machos fueron utilizados para la simulación de la cirugía. A los x días siguientes a los tratamientos se realizaron nuevamente pruebas de conducta paterna. El reemplazamiento con testosterona o estradiol indujo la exhibición de cuidados paternos en el 100% de los machos tratados, estos machos mostraron niveles altos de abrigo y acicalamiento de las crías. Sorprendentemente, la administración de DHT, eliminó la conducta agresiva o de indiferencia, debido a que los machos tratados con esta hormona olfatearon y acicalaron a las crías. La castración y la simulación de esta cirugía no tuvieron ningún efecto en la conducta paterna. Estos resultados sugieren que la testosterona induce la exhibición de cuidados paternos, a través de su conversión a estradiol. Sin embargo, es necesario realizar más estudios para establecer de manera contundente la vía de acción de esta hormona esteroide en la conducta paterna.

Agradecimientos:
CONACYT (290649) y PAPIIT in212113.





Universidad Autónoma de Tlaxcala
Posgrado del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta



COORDINACIÓN MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
CENTRO TLAXCALA DE BIOLOGÍA DE LA CONDUCTA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA
P R E S E N T E

Los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del Proyecto de tesis que **Ana Lilia Martínez Bravo** realiza para la obtención del grado de Maestra en Ciencias Biológicas, expresamos que, habiendo revisado la versión final del documento de tesis, damos la aprobación para que ésta sea impresa y defendida en el examen correspondiente. El título que llevará es **“Conducta paterna y testosterona en el gerbo de Mongolia (*Meriones unguiculatus*)”**.

Sin otro particular, le enviamos un cordial saludo.

ATENTAMENTE
TLAXCALA, TLAX., AGOSTO 27 DE 2013


DRA. JUANA ALBA LUIS DÍAZ


DRA. LETICIA NICOLÁS TOLEDO


DRA. MARGARITA MARTÍNEZ GÓMEZ


DR. RENÉ DE JESÚS CÁRDENAS VÁZQUEZ


DR. AMANDO BAUTISTA ORTEGA


DRA. MARÍA ISABELL LÓPEZ RULL



Sistema Institucional de Gestión de la Calidad Certificado Bajo la Norma:
ISO 9001:2000-NMX-CC-9001-IMNC-2000



Km. 1.5 Carretera Tlaxcala-Puebla CP 90070 Tel/Fax: 01(246)462-15-57 e-mail: posgradocbucat@gmail.com
Tlaxcala, Tlax.