


2020



Menor sensibilidad de las ratas hembras adolescentes en relación a las adultas al efecto de la cocaína en los comportamientos sexual y locomotor

Lucía Rehermann

Tutora: Daniella Agrati

ÍNDICE

Resumen.....	3
Introducción.....	4
Cocaína y sistema dopaminérgico.....	4
Comportamiento sexual en la rata adulta y los efectos de drogas psicoestimulantes sobre este.....	5
Adolescencia, comportamiento sexual y drogas psicoestimulantes.....	6
Planteamiento del problema e hipótesis.....	8
Objetivos.....	8
Estrategia experimental	8
Materiales y métodos.....	9
Determinación de la fase del ciclo estral.....	9
Administración aguda de cocaína.....	9
Prueba de comportamiento sexual.....	9
Prueba de actividad locomotora	10
Protocolo experimental.....	10
Análisis estadístico.....	11
Resultados.....	11
Comportamiento sexual de las hembras hasta la primera eyaculación.....	11
Comportamiento sexual de machos hasta la primera eyaculación.....	14
Comportamiento sexual de hembras y machos en los 15 min de prueba.....	15
Efecto locomotor de la cocaína.....	16
Discusión.....	17
Efecto negativo de la cocaína en el comportamiento sexual de hembras adultas.....	17
Menor sensibilidad de las hembras en adolescencia tardía al efecto de la cocaína.....	21
Conclusiones	24
Perspectivas.....	25
Referencias.....	26
Anexo.....	31

RESUMEN

El comportamiento sexual de la rata hembra es un comportamiento altamente motivado y su expresión se ha vinculado a la actividad del sistema dopaminérgico mesocorticolímbico. Se ha reportado que dosis moderadas de cocaína, fármaco que incrementa la disponibilidad de dopamina en este sistema, aumentan la expresión de los componentes motivados del comportamiento sexual. Este comportamiento comienza a expresarse durante la adolescencia, período en el cual el sistema dopaminérgico se encuentra aún en desarrollo y en el cual se ha propuesto que este sistema es más sensible al efecto de drogas de abuso que en la etapa adulta. En base a estos antecedentes se puede hipotetizar que el efecto de la cocaína sobre el comportamiento sexual es mayor en hembras adolescentes que en adultas. Para probar esta hipótesis comparamos la expresión del comportamiento sexual de ratas hembra en proestro tardío adultas (aproximadamente 100 días de vida) y adolescentes (aproximadamente 50 días de vida) luego de la administración aguda de cocaína (10 y 20 mg/kg ip, -40 min) en un modelo de dos niveles que permite evaluar los aspectos motivados de este comportamiento. Finalizada esta prueba, evaluamos la actividad locomotora de las hembras. Ambas dosis de cocaína redujeron la expresión del comportamiento sexual y aumentaron la locomoción en las hembras adultas, siendo mayor estos efectos a la dosis de 20 mg/kg. Sin embargo, ninguna de las dosis de cocaína afectó la expresión del comportamiento sexual de las hembras adolescentes y el efecto sobre la locomoción de la dosis de 10 mg/kg fue menor en estas que en las adultas. A partir de estos resultados, concluimos que la administración aguda de cocaína afecta de forma negativa la expresión del comportamiento sexual de hembras adultas ciclantes y que las adolescentes tardías en proestro son menos sensibles que las adultas a los efectos de este psicoestimulante.

INTRODUCCIÓN

Cocaína y sistema dopaminérgico

La cocaína es una droga psicoestimulante ampliamente utilizada y con gran potencial adictivo. Produce un efecto de recompensa, tanto en humanos como en ratas, que se ha asociado principalmente a que esta produce un aumento de la concentración de dopamina (DA) disponible en el núcleo accumbens (NAcc), como consecuencia de bloquear el transportador de DA (Pontieri, Tanda et al. 1995, Volkow, Wang et al. 2000, Nestler 2005). La cocaína también inhibe los transportadores de otros neurotransmisores monoaminérgicos (como la noradrenalina y la serotonina), sin embargo, su acción sobre el sistema dopaminérgico mesocorticolímbico es considerada la más importante para sus efectos psicoestimulantes y de recompensa (Nestler 2005).

El sistema dopaminérgico mesocorticolímbico, que está compuesto por las proyecciones dopaminérgicas desde el área tegmental ventral (VTA) a la corteza prefrontal (CPF) y al NAcc principalmente (Berridge and Robinson 1998) (Figura 1), ha sido implicado en la regulación de los aspectos activacionales de los comportamientos motivados (Aberman and Salamone 1999, Salamone, Correa et al. 2007, Phillips, Vacca et al. 2008). Se ha propuesto que este sistema modula el valor de incentivo de estímulos de importancia biológica (Kelley and Berridge 2002, Salamone and Correa 2012). Así, la liberación de DA en el NAcc incrementaría el valor del incentivo de estímulos recompensantes, aumentando el esfuerzo y gasto energético que un individuo está dispuesto a invertir para obtenerlo (Berridge and Robinson 1998). En este sentido, el sistema dopaminérgico mesocorticolímbico es crítico para los efectos de recompensa del consumo agudo de drogas psicoestimulantes como la cocaína (Koob and Volkow 2010). Mientras que un incremento de DA en NAcc mediaría su valor de recompensa luego de la administración aguda, el consumo crónico establecería la adicción a través de inducir cambios duraderos en el sistema mesocorticolímbico (Kalivas and Volkow 2005). Debido a que este sistema regula la respuesta de los individuos a recompensas naturales, la administración o el consumo de drogas psicoestimulantes puede afectar el comportamiento dirigido a otros estímulos con valor de incentivo, como las crías para una madre (Morrell, Basso et al. 2011) o el macho para una hembra sexualmente activa (Pfaus, Wilkins et al. 2010). En este sentido, Afonso y colaboradores (2009) observaron que un tratamiento crónico con anfetaminas que sensibiliza el sistema dopaminérgico mesocorticolímbico, seguido de un período en el cual se dejó de administrar la droga, aumenta la expresión de conductas sexuales motivadas en hembras.

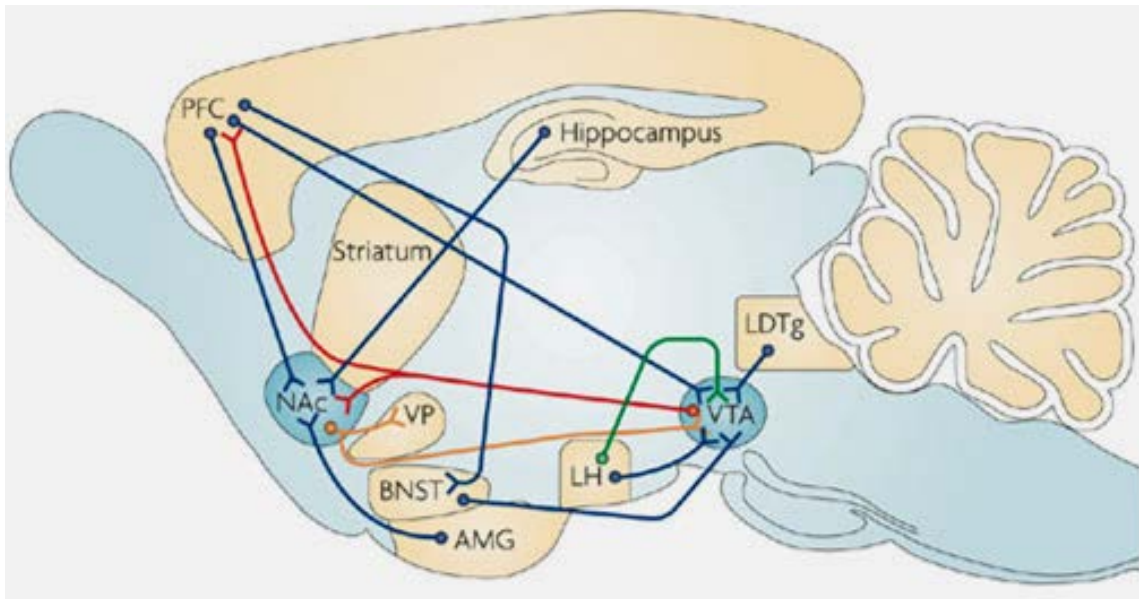


Figura 1. Esquema del sistema mesocorticolímbico y conexiones. En rojo se muestran las proyecciones dopamiérgicas desde el área tegmental ventral (VTA) al núcleo accumbens (NAcc) y a la corteza prefrontal (PFC) en un esquema de un corte sagital del cerebro de ratona. *Extraído de Malenka y Kauer (2007).*

Comportamiento sexual en la ratona adulta y los efectos de drogas psicoestimulantes sobre este

El comportamiento sexual de la ratona hembra, comportamiento altamente motivado (Coria-Avila, Manzo et al. 2014), se expresa durante el ciclo estral en las fases del proestro tardío y de estro temprano, luego de los picos pre-ovulatorios de estrógenos y progestágenos (Beach 1976). La expresión de este comportamiento en la ratona hembra se estudia durante el proestro tardío (Pfaus, Jones et al. 2015), o, más comúnmente, en hembras ovariectomizadas tratadas con estradiol (E) y progesterona (P) (Pfaus, Jones et al. 2015).

El comportamiento sexual en la ratona hembra puede dividirse en componentes receptivos, respuestas más reflejas desplegadas ante la estimulación por parte del macho, y proceptivos, comportamientos mayormente voluntarios de búsqueda del macho (Beach 1976). La adopción de la postura de lordosis, conducta refleja que ocurre como respuesta a la estimulación de los flancos y la región perivaginal que realiza el macho durante la monta, es el componente receptivo del comportamiento sexual de las hembras (Beach 1976). Por otra parte, la proceptividad se manifiesta tanto en la búsqueda del macho como en una serie de conductas que generan su acercamiento y monta (Erskine 1989, Pfaus, Jones et al. 2015). Durante la interacción sexual, estas conductas incluyen a los *hops & darts* (carreras cortas y rápidas, y saltos que pueden ser espontáneos u ocurrir en respuesta a un olfateo de la región anogenital por parte del macho), la *postura de presentación* (postura corporal rígida con el dorso arqueado y cabeza y orejas tiesas), y *earwiggings* (vibraciones rápidas

de las orejas) (Erskine 1989). Estas conductas se han llamado a su vez, paracopulatorias porque ocurren de forma casi exclusiva durante la interacción sexual en respuesta a la estimulación sensorial producida por el macho, e incluso frente a la estimulación manual, por lo que se ha sugerido que tienen cierto componente reflejo (Blaustein 2009). Otro tipo de conductas proceptivas que pueden observarse al estudiar el comportamiento sexual de las hembras en modelos semi-naturales o ambientes más complejos que una arena sexual, son las solicitudes sexuales (McClintock 1984, Erskine 1989). Se trata de desplazamientos largos que realiza la hembra, que finalizan con un *hop & dart* o con una postura de presentación, en los cuales la hembra se aleja del macho y suelen provocar que éste las persiga (Pfaus, Jones et al. 2015). Se ha postulado que estos comportamientos reflejan el estado motivacional de la rata hembra (Pfaus, Smith et al. 1999), ya que son conductas flexibles y voluntarias que le permiten a la hembra regular la proximidad al macho.

El sistema dopaminérgico mesocorticolímbico ha sido implicado en la regulación motivacional del comportamiento sexual de las hembras (Numan 2006, Coria-Avila and Pfaus 2007, si bien existe evidencia contraria: ver Ellingsen and Ågmo 2004). Se ha propuesto que el área preóptica media (APOm), que regula la expresión de conductas sexuales proceptivas (Graham and Pfaus, 2012; Xiao et al., 2005), actúa como conexión entre estructuras hipotalámicas y el sistema mesocorticolímbico, como un sistema de recompensa general (Micevych and Meisel, 2017; Numan and Stolzenberg, 2009). Así, se ha reportado liberación de DA en el NAcc de hembras sexualmente activas ante la presencia y durante la interacción con un macho (Mogenson, Jones et al. 1980, Mermelstein and Becker 1995, Pfaus, Damsma et al. 1995, Brom, Both et al. 2014). A su vez, la administración sistémica del antagonista dopaminérgico haloperidol reduce la ejecución de las conductas proceptivas (Coria-Avila, Gavrila et al. 2008, Ismail, Laroche et al. 2010), si bien hasta la fecha no existen estudios que evalúen el efecto de la administración de antagonistas dopaminérgicos locales en el NAcc. Por otra parte, el tratamiento agudo con cocaína o crónico con anfetamina, fármacos que aumentan la disponibilidad de DA en el sistema mesocorticolímbico, genera un aumento en la expresión de componentes motivados del comportamiento sexual de ratas hembra adultas (Afonso, Mueller et al. 2009, Pfaus, Wilkins et al. 2010, Guarraci and Bolton 2014). Por ejemplo, Pfaus y colaboradores (2010), observaron que la administración aguda de 10 y 20 mg/kg de cocaína a hembras ovariectomizadas tratadas con E y P aumenta la expresión de *hops&darts* y solicitudes sexuales. Esto indicaría que dosis moderadas de cocaína, administradas de forma aguda, aumentan la motivación sexual de las hembras.

Adolescencia, comportamiento sexual y drogas psicoestimulantes

La adolescencia se define como el período de transición entre la infancia y la etapa adulta, en el que ocurre una maduración del sistema nervioso central junto con sistemas neuroendócrinos (Sisk and Foster 2004). Durante este período, las hormonas esteroideas sexuales, que incrementan sus niveles como consecuencia de la maduración del eje hipotálamo-hipófisis-gonadal, remodelan y activan circuitos neurales, que llevan al aumento y a la expresión de la motivación sexual (Sisk and Foster 2004).

En la rata hembra, se considera que la adolescencia se extiende desde aproximadamente el día 35 de vida (día de la apertura vaginal) al día 60 (Laviola, Macrì et al. 2003, Tirelli, Laviola et al. 2003, Holder and Blaustein 2014). Luego de la apertura vaginal las hembras comienzan a exhibir ciclos estrales y comportamiento sexual en la fase de proestro tardío (Hashizume and Ōhashi 1984). En nuestro laboratorio mostramos que durante la adolescencia tardía (aproximadamente el día 50 de vida), las hembras en proestro tardío muestran el repertorio conductual sexual típico de las hembras adultas, incluyendo máxima receptividad sexual, si bien su expresión posee algunas diferencias (Agrati, Machado et al. 2019).

Además de la emergente expresión del comportamiento sexual, la adolescencia se caracteriza por un perfil conductual único que incluye una mayor expresión de comportamientos de búsqueda, así como una mayor sensibilidad a los efectos de drogas de abuso que en la edad adulta (Badanich, Adler et al. 2006, Brenhouse and Andersen 2008, Ernst, Romeo et al. 2009, Zakharova, Wade et al. 2009, Gladwin, Figner et al. 2011, Spear 2011). El valor de recompensa de metanfetamina y cocaína (ambas drogas psicoestimulantes) es mayor en ratas adolescentes que en adultas (Badanich, Adler et al. 2006, Zakharova, Leoni et al. 2009). A su vez, Zakharova y colaboradores (2009) observaron que tanto ratas hembras como machos adolescentes desarrollan condicionamiento de lugar a menores dosis de cocaína que ratas adultas.

Esta sensibilidad diferente puede deberse a la inmadurez de los circuitos que controlan los procesos motivacionales (Gladwin, Figner et al. 2011), como el sistema dopaminérgico mesocorticolímbico. En este sentido, durante la adolescencia se ha reportado un aumento de la concentración de DA y de la densidad de fibras que proyectan hacia la CPF (Benes, Taylor et al. 2000), un aumento de las proyecciones de la CPF hacia el NAcc (Brenhouse, Sonntag et al. 2008), y mayor concentración de receptores dopaminérgicos en el estriado dorsal (Teicher, Andersen et al. 1995, Tarazi and Baldessarini 2000). Si bien los adolescentes son más sensibles a los efectos reforzadores de drogas psicoestimulantes que afectan el sistema dopaminérgico mesocorticolímbico, se desconoce si tratamientos con estos fármacos que impactan la expresión del comportamiento sexual en hembras adultas, poseen un efecto diferencial durante la adolescencia.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA E HIPÓTESIS

El comportamiento sexual de la rata hembra es altamente motivado y depende de sistemas neurales sensibles a psicoestimulantes como la cocaína. Durante la adolescencia, período en el cual las hembras comienzan a expresar comportamiento sexual, parte de estos sistemas están en desarrollo y se ha postulado que existe una sensibilidad mayor a la cocaína. Sobre esta base **hipotetizamos** que los efectos de la cocaína sobre el comportamiento sexual de las hembras son mayores en la adolescencia que en la etapa adulta.

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar si la administración aguda de cocaína induce un efecto diferencial en el comportamiento sexual de ratas hembras adolescentes y adultas.

Objetivos específicos

- Comparar el efecto de la administración sistémica aguda de cocaína sobre los aspectos motivacionales del comportamiento sexual de ratas hembras adolescentes y adultas.
- Comparar el efecto de la administración sistémica aguda de cocaína sobre la actividad locomotora de hembras adolescentes y adultas en proestro tardío.

ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

Con el fin de determinar si la administración aguda de cocaína posee un efecto diferencial sobre aspectos motivacionales del comportamiento sexual de hembras adultas y adolescentes, realizamos la prueba de comportamiento sexual en un modelo de dos niveles, ya que este permite registrar de forma óptima la expresión de componentes del comportamiento sexual altamente motivados como lo son las solicitudes sexuales (Pfaus, Smith et al. 1999). Comparamos el comportamiento sexual en este modelo de ratas hembras en adolescencia tardía y adultas luego de la administración aguda de dos dosis de clorhidrato de cocaína (10,0 y 20,0 mg/kg), i.p., 40 minutos antes de la prueba. A su vez,

este tratamiento fue seleccionado sobre la base de un trabajo previo que reporta un efecto potenciador del mismo sobre la expresión de componentes motivacionales del comportamiento sexual de hembras adultas (Pfaus, Wilkins et al. 2010). Finalmente, evaluamos la actividad locomotora de las hembras con el fin de determinar si los efectos observados en el comportamiento sexual podían estar relacionados a efectos motores diferenciales del fármaco entre ambas edades.

El protocolo experimental fue realizado por la Lic. Luna Machado y en el marco de esta tesina analicé las filmaciones de las pruebas de comportamiento sexual y la actividad locomotora.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales

Se utilizaron ratas hembras de la cepa Wistar (*Rattus norvegicus*) de 45-55 (adolescentes tardías) y 95-110 (adultas) días de edad. Se usó un N=9-11 por grupo. Las ratas se alojaron en un cuarto con un ciclo de luz-oscuridad 12/12 h (luz encendida 0500 hs) y temperatura controlada (22 ± 1 °C) en el Laboratorio de Experimentación Animal de la Facultad de Ciencias. Las ratas adultas se alojaron en grupos de 5 y las adolescentes en grupos de 4 hembras por caja. El protocolo experimental realizado fue aprobado por el CEUA de la Facultad de Ciencias (240011-002308-14) en concordancia con la Ley Nacional de Experimentación Animal.

Determinación de la fase del ciclo estral (de acuerdo a Monies y Luque 1988)

Se determinó la fase del ciclo estral de las hembras adultas (a partir del día 85 de vida) y adolescentes (a partir del día 38 o 39) mediante el análisis de los tipos de células y su abundancia encontradas en un exudado vaginal, realizado con solución salina. Este procedimiento se realizó una vez al día durante las mañanas. Las hembras que presentaron un exudado vaginal correspondiente a proestro (dentro de los rangos etarios seleccionados) fueron probadas en la fase de oscuridad de ese día, debido a que éste es el momento del ciclo y del día en el que las hembras expresan actividad sexual.

Administración aguda de cocaína (de acuerdo a Pfaus, Wilkins et al. 2010)

Se administraron dosis de 10 y 20 mg/kg/2ml de clorhidrato de cocaína (Laboratorio Verardo y Cia., Argentina), y control con solución salina, de forma intraperitoneal (i.p.), 40 minutos antes de la prueba de comportamiento sexual, a hembras adolescentes y adultas.

Prueba de comportamiento sexual (de acuerdo a Pfaus, Smith et al. 1999)

Se introdujo a cada hembra en una arena sexual de acrílico de dos niveles (60 cm de largo x 51 cm de alto x 15 cm de ancho). Luego de un período de habituación de cinco minutos, se introdujo a un macho sexualmente activo (entrenado para eyacular en menos de 15 min). Durante 15 min se registró el número de las siguientes conductas de la hembra: *hops & darts*, solicitudes sexuales, lordosis, y olfateos anogenitales y corporales del macho, así como la latencia a la primera conducta proceptiva y a la primera lordosis. Las conductas del macho que se registraron fueron el número de montas (con y sin intromisión) y eyaculaciones, así como la latencia a la primera monta y a la eyaculación. Se calculó el cociente de lordosis -índice de receptividad sexual de la hembra- como el cociente entre el número de lordosis y el número total de montas y eyaculaciones. La proceptividad sexual de las hembras se evaluó a partir de la exhibición de *hops & darts* (desplazamientos cortos y usualmente con una postura corporal rígida) y de solicitudes sexuales (desplazamientos largos con cambio de nivel previo o posterior a una postura de presentación o un *hop & dart*). Los datos se presentan hasta la primera eyaculación del macho y a lo largo de los 15 minutos de prueba para evaluar posibles diferencias a lo largo de la prueba.

Las pruebas fueron filmadas y posteriormente registradas utilizando el programa J-Watcher Copyright (c) 2000-2006–Daniel T. Blumstein, Janice C. Daniel, and Christopher S. Evans. <https://www.jwatcher.ucla.edu/>

Prueba de actividad locomotora (de acuerdo a Delgado, Agrati et al., 2019)

Se registró el número de cruces y de posturas erguidas realizado por los animales en una prueba locomotora de 10 min en una caja de 53 x 36 x 25 cm, cuyo piso se encuentra dividido en cuadrantes de 10 cm.

Protocolo experimental

Se siguió el ciclo estral de ratas hembras, y se realizó la prueba de comportamiento sexual en el primer proestro tardío, entre los 95 y 110 días de vida para las adultas, y entre 45 y 55 para las adolescentes. Ese día, 2 horas luego de apagada la luz, se administró de forma aguda i.p. vehículo (solución salina) o cocaína (10 o 20 mg/kg) a las hembras. Como se muestra en la figura 2, inmediatamente después de la administración del vehículo o la cocaína, las hembras fueron introducidas en un laberinto en forma de Y y se realizó una prueba de preferencia sexual –macho vs hembra receptiva- de acuerdo a Agrati et al., 2019. Al culminar esta prueba, 40 min luego de la inyección, las hembras se habituaron por 5 min al modelo de dos niveles y a continuación se realizó la prueba de comportamiento sexual. Finalizadas estas pruebas, se evaluó la actividad locomotora de las hembras por 10 min en la prueba de locomoción. Los resultados de las pruebas de preferencia no se muestran ya que no fueron analizados en esta pasantía.

Para las pruebas con hembras adolescentes se utilizaron machos de menor edad, y, por ende, tamaño corporal que para las pruebas realizadas con hembras adultas, de forma de reducir el posible efecto de la diferencia de tamaño entre los individuos durante la interacción. En todas las pruebas se utilizaron machos sexualmente entrenados para eyacular en menos de 15 min.



Figura 2. Línea temporal del protocolo experimental.

Análisis estadístico

Debido a que la mayoría de los datos comportamentales no se ajustan a una distribución normal, se expresan como medianas (rangos semi-intercuartiles, SIQR) y se analizaron mediante pruebas no-paramétricas (Siegel and Castellan, 1988.). Las comparaciones del efecto de las diferentes dosis de cocaína dentro de cada grupo (adultas o adolescentes), se realizaron mediante el análisis de varianzas de Kruskal-Wallis. Para las variables que dieron significativo se realizó luego la prueba U de Mann-Whitney comparando cada dosis con las otras dosis dentro del grupo etario. Las comparaciones de las dos edades para una misma dosis se realizaron mediante la prueba de U de Mann-Whitney.

RESULTADOS

Comportamiento sexual de las hembras hasta la primera eyaculación

Receptividad sexual

Como se muestra en la figura 3, en las hembras adultas, pero no en las adolescentes, el tratamiento con 20 mg/kg de cocaína redujo el cociente de lordosis en comparación con el tratamiento con vehículo (salina vs 20 mg/kg: adultas $U_{(10,10)}=22,0$, $p=0,04$, prueba U de Mann Whitney y adolescentes $H_{(2)}= 0,65$, $p=0,72$, ANOVA de Kruskal Wallis). Sin embargo, este índice de receptividad no difirió de acuerdo a la edad para ninguna de las dosis (salina: $U_{(10,10)}=33,0$, $p=0,22$, 10mg/kg: $U_{(9,11)}=39,0$, $p=0,46$ y 20mg/kg: $U_{(10,9)}=31,5$, $p=0,28$).

Proceptividad sexual

La dosis más alta de cocaína disminuyó significativamente la expresión de *hops & darts* en las hembras adultas (salina vs 20mg/kg: $U_{(10,10)}=0,5$, $p=0,00001$ y 10 vs 20mg/kg: $U_{(9,10)}=10,0$, $p=0,003$), pero no en las adolescentes ($H_{(2)}=2,13$, $p=0,34$, figura 4). En concordancia, la expresión de *hops & darts* luego de la administración de 20mg/kg de cocaína fue mayor en hembras adolescentes que en adultas ($U_{(10,9)}=15,0$, $p=0,013$).

En hembras adultas, el despliegue de solicitudes sexuales disminuyó significativamente tras el tratamiento con 10mg/kg (salina vs 10mg/kg: $U_{(10,9)}=11,0$, $p=0,004$) y 20mg/kg de cocaína (salina vs 20mg/kg: $U_{(10,10)}=7,0$, $p=0,0005$, figura 5). Si bien la expresión de esta conducta proceptiva no disminuyó significativamente en las adolescentes de acuerdo a la dosis ($H_{(2)}=2,03$, $p=0,36$), tampoco difirió entre adultas y adolescentes para las dosis de 10 y 20 mg/kg de cocaína (salina: $U_{(10,10)}=49,0$, $p=0,97$, 10mg/kg: $U_{(9,11)}=29,0$, $p=0,13$ y 20mg/kg: $U_{(10,9)}=28,0$, $p=0,18$).

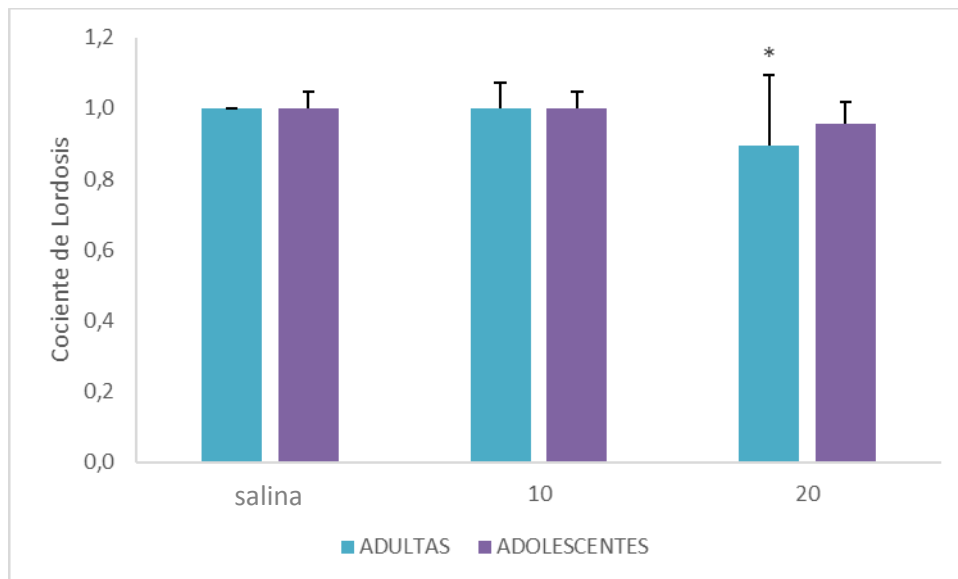


Figura 3. Cociente de lordosis (número de lordosis/número total de montas), hasta primera eyaculación de hembras adultas (barras celestes) y adolescentes (barras violetas) tratadas con solución salina o con 10 o 20 mg/kg de cocaína. Datos expresados en medianas (RSIQ), * $p<0.05$ vs. 0, prueba U de Mann Whitney.

En la tabla 1 se muestra que la latencia a la expresión de las conductas proceptivas en adultas aumentó significativamente luego de la administración de 20mg/kg de cocaína con respecto al control ($U_{(10,10)}=4,0$, $p=0,0001$) y a la dosis de 10mg/kg ($U_{(9,10)}=9,0$, $p=0,002$). En las adolescentes, la latencia a la expresión de estas conductas también aumentó tras la administración de ambas dosis de cocaína (salina vs 10mg/kg: $U_{(10,11)}=20,0$, $p=0,013$ y salina vs 20mg/kg: $U_{(10,9)}=9,0$, $p=0,002$). Al comparar ambas edades, la latencia a la expresión de conductas proceptivas fue mayor en hembras adultas que en adolescentes luego de la administración de 20mg/kg ($U_{(10,9)}=13,0$, $p=0,008$).

No se detectaron diferencias significativas entre las distintas edades ni entre las distintas dosis de cocaína dentro de un grupo etario en el número de olfateos anogenitales y corporales del macho realizado por las hembras (datos no mostrados).

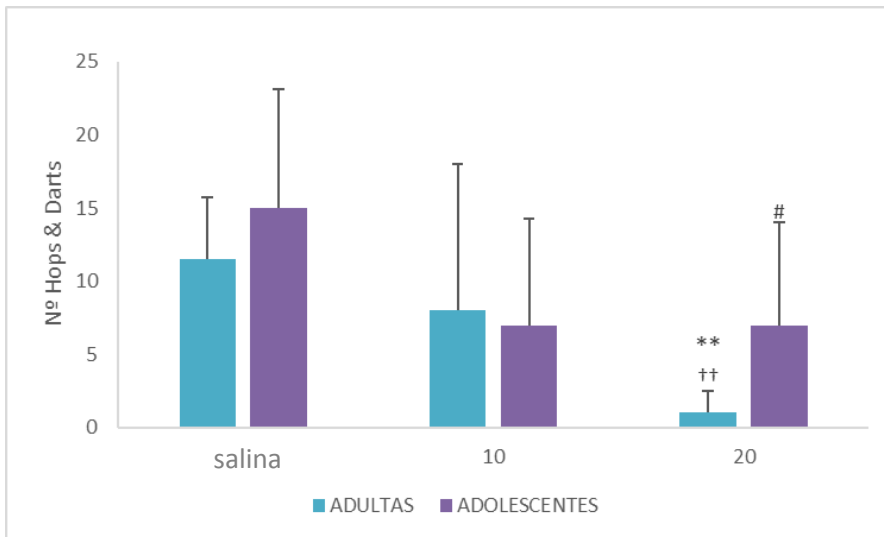


Figura 4. Número de *hops & darts* expresados por hembras adultas (barras celestes) y adolescentes (barras violetas) tratadas con solución salina o con 10 o 20 mg/kg de cocaína. Datos expresados en medianas (RSIQ), ** $p < 0.01$ vs. salina, †† $p < 0.01$ vs 10 y # $p < 0.05$ vs. adultas, prueba U de Mann Whitney.

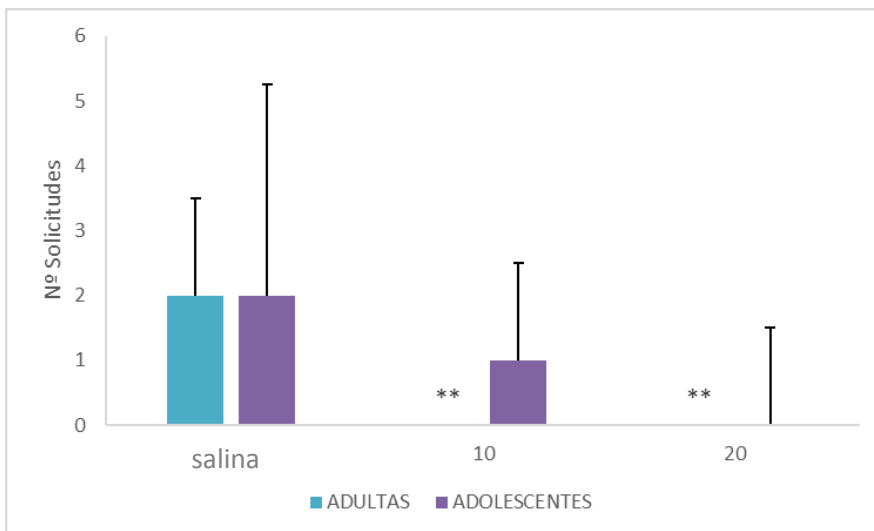


Figura 5. Número de solicitudes sexuales realizadas por hembras adultas (barras celestes) y adolescentes (barras violetas) tratadas con solución salina o con 10 o 20 mg/kg de cocaína. Datos expresados en medianas (RSIQ), ** $p < 0.01$ vs. salina, prueba U de Mann Whitney.

Tabla 1. Latencias (en segundos) a la expresión de conductas sexuales en hembras y machos.

		Adultas			Adolescentes		
		salina	10 mg	20 mg	salina	10 mg	20 mg
Hembras	Proceptivas	29,2 (16,0)	41,6 (41,3)	533,3 (379,1)**††	26,4 (10,6)	98,2 (59,4)*	81,2 (14,5)## **
	Lordosis	34,2 (11,8)	57,6 (44,8)	60,0 (42,2)	43,1 (28,9)	44,2 (77,3)	117,5 (50,1)
Machos	Monta	34,1 (11,8)	43,5 (21,9)	52,2 (15,9)	52,5 (28,1)	44,0 (79,2)	89,4 (47,9)
	Eyaculación	681,6 (249,6)	531,4 (214,1)	384,2 (177,2)	479,7 (220,7)	426,4 (203,3)	503,5 (226,1)

Datos expresados en medianas (RSIQ), **p<0,01 y *p<0,05vs. salina, ††p<0,01 vs 10, dentro de un mismo grupo etario y ##p<0,01 vs. adultas, prueba U de Mann Whitney.

Comportamiento sexual de machos hasta la primera eyaculación

Como se muestra en la figura 6A, los machos mostraron una disminución significativa de las montas ante hembras adultas en el grupo de 20mg/kg de cocaína ($U_{(10,10)}=21,5$, $p=0,03$). El tratamiento con cocaína de hembras adolescentes no afectó el número de montas realizado por los machos ($H_{(2)}=4,34$, $p=0,1$). No se detectaron diferencias de acuerdo a la edad en las condiciones salina ($U_{(10,10)}=27,5$, $p=0,09$), 10mg/kg ($U_{(9,11)}=41,0$, $p=0,55$) y 20mg/kg de cocaína ($U_{(10,9)}=35,0$, $p=0,45$). De forma contraria a lo observado con el despliegue de las montas, los intentos de monta de los machos frente a hembras adultas aumentaron significativamente tras la administración de 10mg/kg ($U_{(10,9)}=14,0$, $p=0,01$) y 20mg/kg ($U_{(10,10)}=7,5$, $p=0,0005$) de cocaína con respecto al control, y tras la administración de 20mg/kg con respecto a la dosis de 10mg/kg ($U_{(9,10)}=16,5$, $p=0,02$). A su vez, frente a hembras adolescentes, los intentos de monta aumentaron significativamente luego de la administración de 20mg/kg de cocaína, con respecto al control ($U_{(10,9)}=19,0$, $p=0,03$). Al comparar esta variable entre ambos grupos etarios, observamos que los intentos de monta difirieron para las dosis 10mg/kg: $U_{(9,11)}=25,0$, $p=0,07$ y 20mg/kg: $U_{(10,9)}=13,0$, $p=0,008$ (figura 6B).

Como se muestra en la tabla 1, ni la latencia de monta (adultas $H_{(2)}=1,7$, $p=0,43$ y adolescentes $H_{(2)}=0,68$, $p=0,71$ y $p=NS$ para todos los Mann Whitney entre edades), ni la de eyaculación (adultas $H_{(2)}=2,38$, $p=0,3$ y adolescentes $H_{(2)}=0,34$, $p=0,84$ y $p=NS$ para todos los Mann Whitney entre edades) difirieron entre las edades o en relación al tratamiento farmacológico.

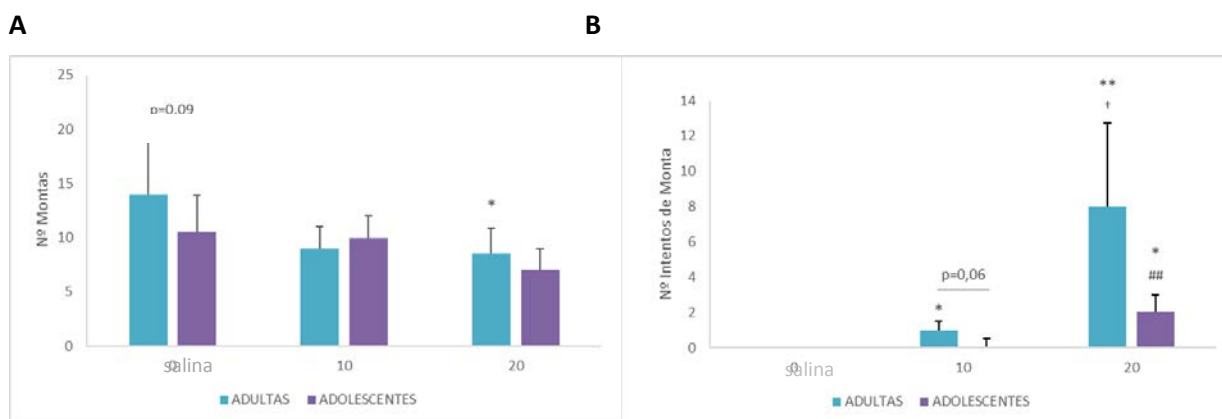


Figura 6. Número de montas (panel A) y de intentos de monta (panel B) realizados por los machos frente a hembras adultas (barras celestes) y adolescentes (barras violetas) con diferentes tratamientos (salina, 10 y 20 mg/kg de cocaína). Datos expresados en medianas (RSIQ), * $p < 0.05$ vs. 0, ** $p < 0.01$ vs. salina, † $p < 0.05$ vs 10 y ## $p < 0.01$ vs. adultas, prueba U de Mann Whitney.

Comportamiento sexual de hembras y machos en los 15 min de prueba

Como se muestra en la tabla 2, el perfil comportamental de expresión de conductas proceptivas y de receptividad sexual de las hembras, así como la respuesta sexual de los machos, evaluados a lo largo de los 15 min de prueba, fue similar al reportado hasta la primera eyaculación. A su vez, el número de eyaculaciones de los machos en la totalidad de la prueba no difirió entre edades ni entre dosis del fármaco.

Tabla 2. Número de componentes del comportamiento sexual de hembras y machos durante los 15 min de prueba.

		Adultas			Adolescentes		
		salina	10 mg	20 mg	salina	10 mg	20 mg
Hembras	Hops & Darts	18,5 (5,0)	22,0 (10,0)	1,0 (4,6)** †	22,5 (12,3)	7,0 (11,3)	17,0 (5,0)##
	Solicitudes	3,0 (2,3)	0,0 (0,0)*	0,0 (0,0)**	3,0 (2,9)	2,0 (2,5)	1,0 (2,5)
	Cociente lord.	1,0 (0,0)	1,0 (0,1)	0,9 (0,2)*	1,0 (0,0)	1,0 (0,0)	1,0 (0,0)
Machos	Monta	17,0 (3,6)	12,0 (3,5)	12,5 (3,1)	14,0 (1,4)	14,0 (2,0)	13,0 (2,0)
	Intentos monta	0,0 (0,4)	6,0 (4,0)	16,0 (6,5)** †	0,0 (0,5)	0,0 (1,0)	2,0 (0,5)##
	Eyaculación	1,0 (0,8)	1,0 (0,5)	1,0 (0,4)	1,0 (0,5)	1,0 (0,5)	1,0 (0,5)

Datos expresados en medianas (RSIQ), ** $p < 0,01$ y * $p < 0,05$ vs. salina, † $p < 0,05$ vs 10, dentro de un mismo grupo etario y ## $p < 0,01$ vs. adultas, prueba U de Mann Whitney.

Efecto locomotor de la cocaína

Como se observa en la figura 7, los cruces realizados por las hembras adultas aumentaron significativamente luego de la administración de 10mg/kg ($U_{(8,8)}=10,5$, $p=0,02$) y 20mg/kg ($U_{(8,10)}=14,5$, $p=0,03$) de cocaína con respecto al control. En hembras adolescentes, únicamente la dosis más alta de cocaína aumentó significativamente el número de cruces (salina vs 20mg/kg: $U_{(9,9)}=1,0$, $p=0,00008$ y 10 vs 20mg/kg: $U_{(11,9)}=2,5$, $p<0,00005$). En concordancia, las hembras adultas realizaron más cruces que las adolescentes tratadas con 10 mg/kg de cocaína ($U_{(8,11)}=17,0$, $p=0,03$).

El número desplegado de posturas erguidas (figura 8), tanto en adultas como en adolescentes, aumentó significativamente tras la administración de 20mg/kg de cocaína con respecto al control y a la dosis de 10mg/kg (en adultas: salina vs 20mg/kg: $U_{(8,10)}=11,5$, $p=0,009$ y 10 vs 20mg/kg: $U_{(8,10)}=10,5$, $p=0,006$, y en adolescentes: salina vs 20 mg/kg: $U_{(9,9)}=2,5$, $p=0,0002$ y 10 vs 20mg/kg: $U_{(11,9)}=6,5$, $p=0,0004$). A su vez, las adultas tendieron a realizar más posturas erguidas que las adolescentes en la dosis 10mg/kg ($U_{(8,11)}=21,5$, $p=0,06$).

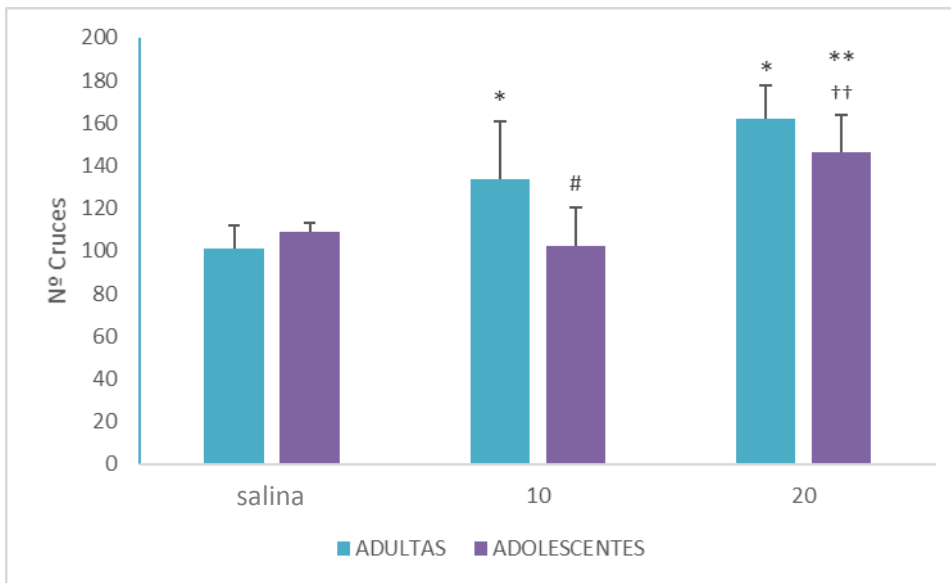


Figura 7. Número de cruces realizados por hembras adultas (barras celestes) y adolescentes (barras violetas) en la prueba de locomoción tratadas con solución salina o con 10 o 20 mg/kg de cocaína. Datos expresados en medianas (RSIQ), ** $p<0.01$ y * $p<0,05$ vs. vs. salina, †† $p<0.01$ vs. 10, y # $p<0.05$ vs. adultas, prueba U de Mann Whitney.

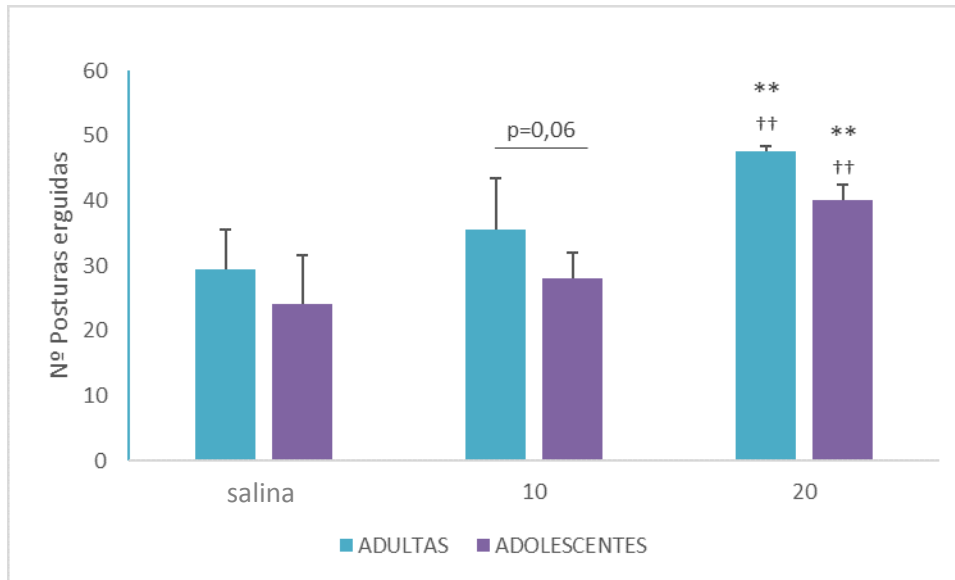


Figura 8. Número de posturas erguidas realizados por hembras adultas (barras celestes) y adolescentes (barras violetas) en la prueba de locomoción tratadas con solución salina o con 10 o 20 mg/kg de cocaína. Datos expresados en medianas (RSIQ), ** $p < 0.01$ vs. salina, y †† $p < 0.01$ vs. 10, prueba U de Mann Whitney.

DISCUSIÓN

En la presente pasantía determinamos que:

- La administración sistémica aguda de cocaína redujo la expresión de *hops & darts* y de solicitudes sexuales y aumentó la latencia a su expresión, lo que indica que este psicoestimulante afecta la expresión de la motivación sexual. A su vez, la dosis más alta de cocaína disminuyó el cociente de lordosis, indicando una reducción de la receptividad sexual. En conjunto estos resultados muestran un efecto negativo de la administración de cocaína en la expresión del comportamiento sexual de hembras ciclantes adultas.
- Este tratamiento no afectó de forma significativa la expresión del comportamiento sexual de hembras durante la adolescencia tardía (salvo un aumento en la latencia a la expresión de conductas proceptivas), y tuvo, a su vez, un efecto menor sobre la locomoción en comparación con las adultas. Estos resultados indican que las hembras en adolescencia tardía poseen una menor sensibilidad que las adultas a los efectos de la administración aguda de cocaína.

Efecto negativo de la cocaína en el comportamiento sexual de hembras adultas

En las hembras adultas, la administración de 10 mg/kg de cocaína redujo la expresión de solicitudes sexuales, componente fuertemente asociado a la motivación sexual (Pfaus, Smith et al. 1999), indicando una afectación en este aspecto del comportamiento sexual. A su vez, la reducción en el despliegue de *hops & darts* y en la receptividad sexual de las hembras tratadas con 20 mg/kg indica que esta dosis produjo una afectación mayor de esta conducta. El impacto de la cocaína sobre el comportamiento de las hembras se reflejó, a su vez, en una alteración del comportamiento sexual de los machos, ya que las montas de hembras tratadas con 20 mg/kg de cocaína disminuyeron, al tiempo que aumentaron los intentos de monta de forma dosis dependiente. El incremento de los intentos de monta por parte del macho es consecuencia de una mayor evitación por parte de las hembras, lo que reduce las montas que los machos pueden realizar. Por lo tanto, la disminución en el despliegue de conductas proceptivas de las hembras, conjunto con el aumento de los intentos de monta de los machos, que indica una mayor evitación de las hembras, sugieren una disminución de la motivación, o del interés, sexual de las hembras.

La reducción del comportamiento sexual de las hembras adultas luego de la administración de ambas dosis (10 y 20 mg/kg) de cocaína, es contraria a lo esperado, ya que Pfaus y colaboradores (2010) observaron que hembras adultas sexualmente activas sometidas al mismo tratamiento incrementaban la expresión de solicitudes sexuales y *hops & darts*. De forma interesante, en su trabajo, una dosis mayor de cocaína (de 40 mg/kg) redujo la expresión de la motivación y la receptividad sexual; resultado similar al obtenido en esta pasantía con la dosis de 20 mg/kg. Esta aparente contradicción entre ambos estudios podría deberse a que las hembras utilizadas en el trabajo de Pfaus y colaboradores (2010) eran de otra cepa, así como a que fueron ovariectomizadas y tratadas con E y P para alcanzar la máxima receptividad sexual. En este sentido, se ha reportado una sensibilidad diferencial a la cocaína en su efecto locomotor y/o reforzador de acuerdo a la cepa (Kosten, Miserendino et al. 1994, Cailhol 1999, Sircar and Kim 1999). Por otra parte, la fluoxetina, fármaco que modula el sistema serotoninérgico (sistema de neurotransmisión también afectado por la administración de cocaína) modifica de forma diferencial el comportamiento sexual de hembras de las cepas Fisher y Sprague-Dawley; siendo estas últimas menos sensibles al efecto deletéreo sobre el comportamiento sexual de la administración de fluoxetina (Miryala, Hiegel et al. 2013).

Por otra parte, si bien las hembras ciclantes en la fase de proestro tardío y las ovariectomizadas tratadas con E y P exhiben un comportamiento sexual indistinguible, los niveles de estrógenos de ambas son distintos. El número y/o la funcionalidad de los receptores de estrógeno a nivel del cerebro dependen de los niveles de hormonas circulantes (por revisión ver Blaustein y Erskine 2002). Por lo que, como consecuencia de diferencias en el perfil endócrino entre el proestro tardío y el tratamiento agudo con E y P, el efecto de drogas dependientes de esteroides puede variar entre hembras en ambas condiciones endócrinas. Es importante tener en cuenta que los efectos de la cocaína son exacerbados por los estrógenos (Quiñones-Jenab, Perrotti et al. 2000, Sell, Scalzitti et al. 2000, Kippin, Fuchs et al. 2005, Jackson, Robinson et al. 2006, Tobiansky, Will et al. 2016).

Por ejemplo, Sell y colaboradores (2000) mostraron que hembras ovariectomizadas tratadas con E o E y P, exhibieron mayor hiperactividad provocada por la cocaína que las ovariectomizadas sin tratamiento hormonal, y que en ratas ciclantes, la hiperactividad tras el tratamiento con cocaína durante el proestro y el estro es mayor que durante el diestro. Si bien no conocemos trabajos que comparen el efecto de la cocaína entre hembras ovariectomizadas con tratamiento hormonal y en proestro tardío, las diferencias entre el trabajo de Pfaus y colaboradores (2010) y el presente pueden deberse a diferencias en el efecto regulatorio de este esteroide sobre sistemas de neurotransmisión entre las hembras utilizadas en ambos. Apoyando esta idea, Miryala y colaboradores (2013) observaron un efecto diferente del inhibidor selectivo de la recaptura de serotonina, fluoxetina, sobre el comportamiento sexual de ratas ovariectomizadas tratadas con E y Pen comparación con ciclantes en proestro tardío; requiriendo estas últimas una dosis mayor de fluoxetina que las primeras para afectar su comportamiento sexual.

Si bien son contrarios a nuestra hipótesis inicial, nuestros resultados que indican un efecto negativo de este psicoestimulante sobre el comportamiento sexual de las hembras, concuerdan con lo reportado por Kohtz y colaboradores (2010). Trabajando con las mismas dosis de cocaína, en forma aguda, en hembras ciclantes, los autores encontraron que este tratamiento redujo la intensidad de la lordosis, lo que sugiere una reducción del comportamiento sexual. Sin embargo, la ausencia en ese trabajo de otras variables relevantes para entender el comportamiento sexual como el cociente de lordosis o la presencia/ausencia de conductas proceptivas dificulta la interpretación de este resultado.

Por otro lado, se ha estudiado el efecto agudo de la anfetamina en el comportamiento sexual. La anfetamina es un psicoestimulante con algunas características de acción similares a la cocaína, ya que ambos fármacos aumentan la disponibilidad de catecolaminas (Meyer and Quenzer 2005). Guarraci y Clark (2003) reportaron una disminución del comportamiento sexual de ratas hembra ovariectomizadas tratadas con E y P, tras el tratamiento agudo con anfetaminas, al mismo tiempo de un aumento en el comportamiento locomotor; resultado similar al encontrado en esta pasantía. En conjunto los resultados de estos estudios y los de esta pasantía indican que psicoestimulantes que aumenten la disponibilidad de DA pueden afectar negativamente la expresión del comportamiento sexual de la rata hembra.

La cocaína aumenta la disponibilidad de la DA en varias regiones del cerebro, incluidas áreas de los circuitos que median la motivación sexual (Breiter, Gollub et al. 1997). Este aumento podría ser parte de los mecanismos que subyacen a los resultados que encontramos. Dentro de estos circuitos, distintos trabajos señalan la relevancia de la neurotransmisión dopaminérgica en el NAcc, como parte de un sistema motivacional general (figura 1 de la introducción, Berridge and Robinson 1998) y en el área preóptica media (APOM), estructura relevante para la expresión de la motivación sexual de la hembra que inerva al circuito mesocorticolímbico (Graham and Pfaus, 2012, Pfaus et al., 2015). Se ha propuesto que un aumento de DA en el NAcc regularía o promovería el valor de incentivo sexual del macho (Pfaus, Damsma et al. 1995, Becker, Rudick et al. 2001, Afonso, Mueller et al. 2009), sin

embargo, Guarraci et al. (2008) reportaron que la administración de anfetamina intracraneal directamente en el NAcc, aumenta la locomoción sin afectar el comportamiento sexual en una arena de *pace mating*. De igual forma, la administración de agonistas dopaminérgicos en el NAcc afecta la locomoción más que la expresión de motivación sexual en ratas machos (Moses, Loucks et al. 1995). Estos estudios sugieren que tal vez otras vías dopaminérgicas, como la incertotalámica que inerva APOm (Miller and Lonstein, 2009), medien la inhibición del comportamiento sexual inducida con psicoestimulantes.

Graham y Pfau realizaron una serie de trabajos (2010, 2012, 2015) a partir de los cuales proponen un rol importante de la DA en el APOm en el comportamiento sexual de ratas hembra. A partir de estos, proponen que la relación de la activación de los receptores dopaminérgicos de las familias D1 y D2 en esta área es crítica para la expresión de comportamientos precopulatorios motivados, como las solicitudes sexuales y los *hops & darts*, teniendo los receptores D1 un efecto activador y los D2 inhibitorio. Graham et al. (2015) reportan que el bloqueo de los receptores D1 en el APOm disminuye la motivación sexual en ratas ovariectomizadas tratadas con E y P, mientras que el bloqueo de receptores D2 la incrementa. Dado que existiría un efecto facilitador e inhibitorio sobre el comportamiento sexual de la DA en APOm, es posible especular que un exceso de DA, como consecuencia de la administración de cocaína, promueva su inhibición. Si bien desconocemos la funcionalidad de los receptores D1 y D2 en APOm, trabajos en el NAcc muestran mayor afinidad de los receptores D2 a la dopamina y a agonistas y un predominio del estado de baja afinidad de los receptores D1 (Richfield, Penney et al. 1989). Si este fuera el caso en el APOm, el aumento de DA podría generar un efecto predominante de activación de los receptores D2. Sin embargo, esta hipótesis debería ser explorada.

Por otra parte, la cocaína impacta en otros sistemas de neurotransmisión, además de afectar las vías dopaminérgicas, como el serotoninérgico y el noradrenérgico (Pontieri, Tanda et al. 1995, Meyer and Quenzer 2005, Nestler 2005). La afectación de ambos sistemas podría mediar el efecto de la cocaína sobre el comportamiento sexual. Asociado a esta idea, se ha propuesto que el aumento de noradrenalina tiene un efecto activador mientras que el aumento de serotonina tiene un efecto inhibitorio sobre la expresión del comportamiento sexual (Kim, Schenck et al. 2013). De forma interesante, inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina, como la fluoxetina, administrados de forma aguda disminuyen el comportamiento sexual, *hops & darts* y cociente de lordosis, pero en particular este efecto sería notorio a dosis altas (Uphouse 2014). Sería interesante explorar si el efecto de la cocaína sobre el comportamiento sexual se asocia a su efecto serotoninérgico, por ejemplo realizando un estudio en el cual simultáneamente a la administración de cocaína se reduzca la liberación de serotonina a través de intervenir en los núcleos del *raphe* con un inhibidor de la síntesis o un fármaco neurotóxico para neuronas serotoninérgicas.

Menor sensibilidad de las hembras en adolescencia tardía al efecto de la cocaína

En esta pasantía hipotetizamos que las ratas adolescentes son más sensibles que las adultas a un efecto potenciador de la cocaína sobre la expresión de conductas sexualmente motivadas, sobre la base de que en la adolescencia las ratas serían más sensibles a los efectos reforzadores de la cocaína en comparación con las adultas (Caster, Walker et al. 2005, Badanich, Adler et al. 2006, Zakharova, Leoni et al. 2009) y que el comportamiento sexual es altamente motivado. Contrariamente a lo esperado, no solo las dosis de cocaína administradas redujeron la expresión de la motivación sexual en hembras adultas, sino que este efecto fue menor en las adolescentes. A su vez, las hembras adolescentes fueron menos sensibles con respecto a las adultas al efecto psicoestimulante de la cocaína en la locomoción.

De forma similar a lo observado, otros autores han encontrado una menor sensibilidad al efecto locomotor de la cocaína en ratas adolescentes. En este sentido, Parylak et al. (2008) reportaron que la administración de cocaína indujo una hiperlocomoción mayor en ratas hembras adultas que en adolescentes. Estos autores atribuyen un papel de los esteroides gonadales en esta sensibilidad diferencial a este psicoestimulante a lo largo del desarrollo, ya que la respuesta a la cocaína fue opuesta en hembras y en machos, siendo los machos adolescentes más, y las hembras menos, sensibles que los individuos adultos. Estos resultados, a su vez, se invirtieron tras gonadectomizar a los individuos (Parylak, Caster et al. 2008). Si bien, a diferencia de esta pasantía, el estudio de Parylak y colaboradores fue realizado con ratas durante la adolescencia media (de 28 a 42 días de vida aproximadamente), el mismo ilustra cómo el efecto diferencial de la cocaína de acuerdo a la edad depende, al mismo tiempo, del sexo de los individuos y de su perfil endócrino.

Son numerosos los trabajos que estudian la influencia de la edad de los individuos sobre el efecto motor estimulante de la cocaína, y estos arrojan resultados aparentemente contradictorios. Sin embargo, como se muestra en la tabla 3, muchos factores –que difieren entre estos estudios- pueden influir en los resultados, como la edad, el sexo, la manipulación previa y el perfil endócrino. A su vez, tanto la hora del día como la fase del ciclo estral en la que se encuentran las hembras al momento de ser probadas pueden modular el efecto de este psicoestimulante. A partir de lo descrito en esta tabla, en términos generales se observa un efecto menor en la locomoción de la cocaína en la adolescencia temprana y media (28-44 días de vida) que en la etapa adulta. En esta pasantía estudiamos hembras en adolescencia tardía (aproximadamente 50 días de vida), de forma similar al protocolo experimental utilizado por Maldonado y colaboradores (2005), quienes observaron mayor efecto estimulante en hembras adolescentes que en adultas, contrario a lo que encontramos. Si bien los autores utilizan ratas previamente manipuladas (lo cual concuerda con nuestro trabajo), existe una diferencia en las edades (45 días vs 50 días), en la fase de luz (pruebas durante el día vs. durante la noche) y en el

período del ciclo estral (diferentes fases del ciclo a la mañana vs noche del proestro) entre estos estudios.

El tiempo transcurrido entre la administración del fármaco y la realización de la prueba locomotora, también puede influir los resultados observados. En este sentido, a diferencia de los estudios reportados en la tabla 3, que registran la locomoción inmediatamente luego de administrado el psicoestimulante, en esta pasantía, la prueba ambulatoria se realizó 60 min luego de la inyección. Sin embargo, es importante mencionar que el mayor efecto locomotor de la cocaína en las hembras adultas respecto a las adolescentes fue detectado ya 10 min pos-inyección en el laberinto en forma de Y, como se muestran en el anexo II.

El efecto diferencial de la cocaína que observamos en las hembras de acuerdo a la edad, puede deberse a que a lo largo del desarrollo el sistema dopaminérgico sufre modificaciones, incluyendo número de receptores y de transportadores de DA en diferentes regiones del cerebro (Teicher, Andersen et al. 1995, Coulter, Happe et al. 1996, Andersen, Thompson et al. 2000, Tarazi and Baldessarini 2000, Andersen, Thompson et al. 2002, Cao, Lotfipour et al. 2007). Se han reportado diferencias entre ratas adolescentes y adultas en los niveles basales de DA en el NAcc (Badanich, Adler et al. 2006), que podrían deberse a diferencias ontogénicas tanto en su liberación como en su recaptación. Así, Badanich y colaboradores (2006) observaron un aumento en los niveles basales de DA desde la adolescencia temprana a la tardía, seguido de una disminución hacia la etapa adulta. De forma interesante, observaron, a su vez, que el aumento de DA en el NAcc por efecto de la administración de cocaína fue menor en las ratas de 45 días (adolescencia tardía) que en las que se encontraban en adolescencia media y las adultas. Este resultado, si bien fue reportado en machos, sugiere que en la adolescencia tardía la cocaína puede producir una estimulación menor del sistema dopaminérgico mesocorticolímbico, lo que podría explicar el resultado obtenido en esta pasantía.

Tabla 3. Reportes del efecto de la cocaína sobre la locomoción de ratas adolescentes en relación al efecto observado en adultas.

Artículo	Cepa	Sexo	Edad adol.	Fármaco	Efecto vs. adult.	Hora	Manip.
Bauer & Duncan 1975	SD	M	28-33	Anfeta.	menos	?	?
Lanier & laasacson 1977	LE	M	34-38 y 45-49	Anfeta.	menos	?	?
Spear et al. 1980	SD	M y H	28-33	Anfeta.	menos	?	?
Mathews et al. 2007	LE	M y H	45-52	Anfeta.	menos	?	
Frantz et al. 2007	W	M	37-50	Coca.	menos	Luz	Sí
Caster et al. 2005	SD	M	28 y 42	Coca.	igual	Luz	
Delgado et al., 2019	W	H*	35-37	Coca.	igual	Luz	Sí
Maldonado et al. 2005	SD	H*	45	Coca.	más	Luz	Sí
"	SD	H*	45	Coca.	igual	Luz	No
Catlow et al. 2005	SD	H*	35	Coca.	más	?	Sí
Bandanich et al. 2008	SD	M	35 y 45	Coca.	más (35) e igual (45)	?	
Caster et al. 2007	SD	M	28 y 42	Coca.	más (28) e igual (42)	Luz	?
Parylak et al. 2008	SD	M y H**	28 y 42	Coca.	más M y menos H	?	?

SD: Sprague-Dawley, LE: Long Evans, W: Wistar, M: machos, H: hembras. * Hembras sobre las que hay información indicando que son ciclantes. **Algunas hembras ciclantes y otras ovariectomizadas. La edad o rango de edades se presenta en días. En todos los estudios presentados, la locomoción comienza a registrarse inmediatamente luego de la administración, de forma intraperitoneal, del fármaco.

Por otra parte, Frantz et al. (2007) observaron un menor efecto locomotor de la cocaína en machos Wistar adolescentes en relación a adultos, sin detectar diferencias en la elevación en los niveles de DA en NAcc inducidos por esta droga, por lo que sugieren que las respuestas motoras diferenciales entre ratas de distintas edades no estarían mediadas por variaciones en los niveles de DA en el NAcc. Por lo tanto, el efecto diferencial de la cocaína de acuerdo a la edad podría deberse a diferencias en la densidad de receptores dopaminérgicos. En este sentido, la densidad de receptores D1 y D2, varía a lo largo de la adolescencia tanto en el estriado dorsal y el NAcc como en la CPFm (Teicher, Andersen et al. 1995, Tarazi and Baldessarini 2000). Durante la pubertad, hay un aumento de los receptores dopaminérgicos, que es mayor en machos que en hembras. De igual forma, la poda de receptores en la transición hacia la etapa adulta es mayor en machos que en hembras (Andersen, Rutstein et al. 1997, Andersen and Teicher 2000, Andersen, Thompson et al. 2002). Si bien, durante la adolescencia tardía Andersen y Teicher (2000) no observaron diferencias significativas en la densidad de receptores D1 y D2 en el NAcc de las hembras en relación a la etapa adulta, los autores trabajaron con hembras en diestro. En nuestro

laboratorio, a partir de estudios de autoradiografía, observamos que las hembras adolescentes tardías (aproximadamente 50 días de edad) durante el proestro tardío presentan densidad de receptores D1 similar, pero menor densidad de receptores D2 en el *Shell* del NAcc en comparación a hembras adultas (de 90 días de edad) (Fig. 1 Anexo). Asimismo, no encontramos diferencias en la densidad de receptores D1 y D2 en el APOm (Figura 2 Anexo). Dado que la activación de receptores D1 y D2 en el *Shell* del NAcc tiene un rol en el efecto estimulante de la cocaína (Ushijima, Carino et al. 1995, Kita, Shiratani et al. 1999, Di Ciano and Everitt 2004, Holmes and Fam 2013), y también se asocia a la expresión de conductas motivadas (Becker, Berkley et al. 2007, Clithero, Reeck et al. 2011, Bergamini, Sigrist et al. 2016, Li, Zhang et al. 2018), el menor efecto de la cocaína en adolescentes podría deberse a la diferencia etaria en la densidad de receptores en esta región. Sería interesante explorar si durante el proestro tardío, existe una sensibilidad diferencial al efecto de agonistas o antagonistas D1 y D2 entre hembras adultas y adolescentes.

Si bien el efecto diferencial de la cocaína entre hembras adultas y adolescentes podría deberse a que menor cantidad de cocaína accede al cerebro por diferencias de metabolización de este fármaco de acuerdo a la edad, no creemos que este sea el caso, ya que reportes previos que detectan un efecto diferencial de psicoestimulantes entre adolescentes y adultos no observan diferencias en los niveles de éstos en el cerebro. Así, Frantz y colaboradores (2007) observaron un menor efecto locomotor de la cocaína en machos Wistar adolescentes en relación a adultos, sin detectar diferencias en los niveles de cocaína en el NAcc. En el trabajo de Caster et al. (2005) los niveles de cocaína en la sangre y en el cerebro luego de un tratamiento intraperitoneal fueron similares entre ratas adolescentes y adultas, y estas concentraciones equivalentes de cocaína cerebral se asociaron a efectos distintos sobre el comportamiento dependiendo de la edad.

CONCLUSIONES

La presente pasantía muestra que la administración sistémica aguda de cocaína afecta de forma negativa la expresión del comportamiento sexual en hembras adultas en proestro tardío y que las hembras en adolescencia tardía poseen una menor sensibilidad a los efectos agudos de este fármaco.

PERSPECTIVAS

Sería interesante profundizar en distintas variables que podrían estar implicadas en los resultados encontrados. Por ejemplo, podríamos intentar dilucidar si los efectos inhibitorios de drogas psicoestimulantes sobre el comportamiento sexual se deben a la afectación de otras vías dopaminérgicas como la incertotalámica que proyecta al APOm, o si existe una diferencia etaria en la sensibilidad a fármacos dopaminérgicos que afecten los receptores D1 y D2. A su vez, podríamos profundizar sobre los efectos de la manipulación de los animales en la acción de la cocaína de acuerdo a la edad de las hembras.

REFERENCIAS

Aberman, J. and J. D. Salamone (1999). "Nucleus accumbens dopamine depletions make rats more sensitive to high ratio requirements but do not impair primary food reinforcement." Neuroscience**92**(2): 545-552.

Afonso, V. M., et al. (2009). "Amphetamine pretreatment facilitates appetitive sexual behaviors in the female rat." Psychopharmacology**205**(1): 35-43.

Agrati, D., et al. (2019). "Sexual behaviour of the female rat during late adolescence: effect of chronic cocaine treatment." Behavioural pharmacology**30**(5): 396-404.

Andersen, S. L., et al. (1997). "Sex differences in dopamine receptor overproduction and elimination." Neuroreport**8**(6): 1495-1497.

Andersen, S. L. and M. H. Teicher (2000). "Sex differences in dopamine receptors and their relevance to ADHD." Neuroscience & Biobehavioral Reviews**24**(1): 137-141.

Andersen, S. L., et al. (2002). "Pubertal changes in gonadal hormones do not underlie adolescent dopamine receptor overproduction." Psychoneuroendocrinology**27**(6): 683-691.

Andersen, S. L., et al. (2000). "Dopamine receptor pruning in prefrontal cortex during the periadolescent period in rats." Synapse (New York, NY)**37**(2): 167-169.

Badanich, K. A., et al. (2006). "Adolescents differ from adults in cocaine conditioned place preference and cocaine-induced dopamine in the nucleus accumbens septi." European journal of pharmacology**550**(1-3): 95-106.

Badanich, K. A., et al. (2008). "Early adolescents show enhanced acute cocaine-induced locomotor activity in comparison to late adolescent and adult rats." Developmental Psychobiology**50**(2), 127-133.

Bauer, R. H. and D. L. Duncan (1975). "Differential effects of d-amphetamine in mature and immature rats." Psychobiology**3**: 312-316.

Beach, F. A. (1976). "Sexual attractivity, proceptivity, and receptivity in female mammals." Hormones and behavior**7**(1): 105-138.

Becker, J. B., et al. (2007). Sex differences in the brain: from genes to behavior, Oxford university press.

Becker, J. B., et al. (2001). "The role of dopamine in the nucleus accumbens and striatum during sexual behavior in the female rat." Journal of Neuroscience**21**(9): 3236-3241.

Benes, F. M., et al. (2000). "Convergence and plasticity of monoaminergic systems in the medial prefrontal cortex during the postnatal period: implications for the development of psychopathology." Cerebral Cortex**10**(10): 1014-1027.

Bergamini, G., et al. (2016). "Depletion of nucleus accumbens dopamine leads to impaired reward and aversion processing in mice: Relevance to motivation pathologies." Neuropharmacology**109**: 306-319.

Berridge, K. C. and T. E. Robinson (1998). "What is the role of dopamine in reward: hedonic impact, reward learning, or incentive salience?" Brain research reviews**28**(3): 309-369.

Blaustein, J. D. and M. S. Erskine (2002). Feminine sexual behavior: cellular integration of hormonal and afferent information in the rodent forebrain. Hormones, brain and behavior, Elsevier: 139-214.

Blaustein, J.D., Farrell, S., Ghavami, G., Laroche, J., and G. Mohan (2009). Non-intromissive mating stimuli are sufficient to enhance sexual behaviors in ovariectomized female rats. Hormones and Behavior**55**(3): 404-411.

Breiter, H. C., et al. (1997). "Acute effects of cocaine on human brain activity and emotion." Neuron**19**(3): 591-611.

Brenhouse, H. C. and S. L. Andersen (2008). "Delayed extinction and stronger reinstatement of cocaine conditioned place preference in adolescent rats, compared to adults." Behavioral neuroscience**122**(2): 460.

Brenhouse, H. C., et al. (2008). "Transient D1 dopamine receptor expression on prefrontal cortex projection neurons: relationship to enhanced motivational salience of drug cues in adolescence." Journal of Neuroscience**28**(10): 2375-2382.

Brom, M., et al. (2014). "The role of conditioning, learning and dopamine in sexual behavior: A narrative review of animal and human studies." Neuroscience & Biobehavioral Reviews**38**: 38-59.

Cailhol, S. and P. Mormède (1999). "Strain and sex differences in the locomotor response and behavioral sensitization to cocaine in hyperactive rats." Brain research**842**(1): 200-205.

Cao, J., et al. (2007). "Adolescent maturation of cocaine-sensitive neural mechanisms." Neuropsychopharmacology**32**(11): 2279-2289.

Caster, J. M., et al. (2005). "Enhanced behavioral response to repeated-dose cocaine in adolescent rats." Psychopharmacology**183**(2): 218-225.

Catlow B. J., and C.L. Kirstein (2005). "Heightened cocaine-induced locomotor activity in adolescent compared to adult female rats." Journal of Psychopharmacology**19**(5): 443-447.

Clithero, J. A., et al. (2011). "Nucleus accumbens mediates relative motivation for rewards in the absence of choice." Frontiers in human neuroscience**5**: 87.

Coria-Avila, G. and J. Pfaus (2007). "Neuronal activation by stimuli that predict sexual reward in female rats." Neuroscience**148**(3): 623-632.

Coria-Avila, G. A., et al. (2008). "Neurochemical basis of conditioned partner preference in the female rat: II. Disruption by flupenthixol." Behavioral neuroscience**122**(2): 396.

Coria-Avila, G. A., et al. (2014). "Neurobiology of social attachments." Neuroscience & Biobehavioral Reviews**43**: 173-182.

Coulter, C. L., et al. (1996). "Postnatal development of the dopamine transporter: a quantitative autoradiographic study." Developmental Brain Research**92**(2): 172-181.

Delgado, H., et al. (2019). "Cocaine treatment before pregnancy differentially affects the anxiety and brain glucose metabolism of lactating rats if performed during adulthood or adolescence." Behavioural brain research**372**: 112070.

Di Ciano, P. and B. J. Everitt (2004). "Contribution of the ventral tegmental area to cocaine-seeking maintained by a drug-paired conditioned stimulus in rats." European Journal of Neuroscience**19**(6): 1661-1667.

Ellingsen, E. and A. Ågmo (2004). "Sexual-incentive motivation and paced sexual behavior in female rats after treatment with drugs modifying dopaminergic neurotransmission." Pharmacology Biochemistry and Behavior**77**(3): 431-445.

Ernst, M., et al. (2009). "Neurobiology of the development of motivated behaviors in adolescence: a window into a neural systems model." Pharmacology Biochemistry and Behavior**93**(3): 199-211.

Erskine, M. S. (1989). "Solicitation behavior in the estrous female rat: a review." Hormones and behavior**23**(4): 473-502.

Francis, T. C., et al (2009). "High-frequency activation of nucleus accumbens D1-MSNs drives excitatory potentiation on D2-MSNs." Neuron**103**(3): 432-444.

Frantz, K. J., et al. (2007). "Behavioral and neurochemical responses to cocaine in periadolescent and adult rats." Neuropsychopharmacology**32**(3): 625-637.

Gladwin, T. E., et al. (2011). "Addiction, adolescence, and the integration of control and motivation." Developmental cognitive neuroscience**1**(4): 364-376.

Graham, M. D., et al. (2015). "Ovarian steroids alter dopamine receptor populations in the medial preoptic area of female rats: implications for sexual motivation, desire, and behaviour." European Journal of Neuroscience**42**(12): 3138-3148.

Graham, M. D. and J. G. Pfaus (2010). "Differential regulation of female sexual behaviour by dopamine agonists in the medial preoptic area." Pharmacology Biochemistry and Behavior**97**(2): 284-292.

Graham, M. D. and J. G. Pfaus (2012). "Differential effects of dopamine antagonists infused to the medial preoptic area on the sexual behavior of female rats primed with estrogen and progesterone." Pharmacology Biochemistry and Behavior**102**(4): 532-539.

Guarraci, F. A. and J. L. Bolton (2014). "'Sexy stimulants': The interaction between psychomotor stimulants and sexual behavior in the female brain." Pharmacology Biochemistry and Behavior**121**: 53-61.

Guarraci, F. A. and A. S. Clark (2003). "Amphetamine modulation of paced mating behavior." Pharmacology Biochemistry and Behavior**76**(3-4): 505-515.

Guarraci, F. A., et al. (2008). "Intracranial infusions of amphetamine into the medial preoptic area but not the nucleus accumbens affect paced mating behavior in female rats." Pharmacology Biochemistry and Behavior**89**(3): 253-262.

Hashizume, K. and K. Ōhashi (1984). "Timing of sexual receptivity and the release of gonadotrophins during puberty in female rats." Reproduction**72**(1): 87-91.

Holder, M. K. and J. D. Blaustein (2014). "Puberty and adolescence as a time of vulnerability to stressors that alter neurobehavioral processes." Frontiers in neuroendocrinology**35**(1): 89-110.

Holmes, N. M. and J. Fam (2013). "How does dopamine release in the nucleus accumbens core relate to encoding of a Pavlovian incentive stimulus?" Journal of Neuroscience**33**(25): 10191-10192.

Ismail, N., et al. (2010). "Conditioned ejaculatory preference in male rats paired with haloperidol-treated females." Physiology & behavior**100**(2): 116-121.

Jackson, L. R., et al. (2006). "Sex differences and hormonal influences on acquisition of cocaine self-administration in rats." Neuropsychopharmacology**31**(1): 129-138.

Kalivas, P. W. and N. D. Volkow (2005). "The neural basis of addiction: a pathology of motivation and choice." American Journal of Psychiatry**162**(8): 1403-1413.

Kelley, A. E. and K. C. Berridge (2002). "The neuroscience of natural rewards: relevance to addictive drugs." Journal of Neuroscience**22**(9): 3306-3311.

Kim, S. W., et al. (2013). "Neurobiology of sexual desire." NeuroQuantology**11**(2).

Kippin, T. E., et al. (2005). "Potentiation of cocaine-primed reinstatement of drug seeking in female rats during estrus." Psychopharmacology**182**(2): 245-252.

Kita, K., et al. (1999). "Effects of D1 and D2 dopamine receptor antagonists on cocaine-induced self-stimulation and locomotor activity in rats." European neuropsychopharmacology**9**(1-2): 1-7.

Kohtz, A. S., et al. (2010). "Low doses of cocaine decrease, and high doses increase, anxiety-like behavior and brain progesterone levels among intact rats." Hormones and behavior**57**(4-5): 474-480.

Koob, G. F. and N. D. Volkow (2010). "Neurocircuitry of addiction." Neuropsychopharmacology**35**(1): 217-238.

Kosten, T. A., et al. (1994). "Fischer and Lewis rat strains show differential cocaine effects in conditioned place preference and behavioral sensitization but not in locomotor activity or conditioned taste aversion." Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**269**(1): 137-144.

Lanier, L. P. and R. L. Isaacson (1977). "Early developmental changes in the locomotor response to amphetamine and their relation to hippocampal function." Brain Research**126**(3): 567-575.

Laviola, G., et al. (2003). "Risk-taking behavior in adolescent mice: psychobiological determinants and early epigenetic influence." Neuroscience & Biobehavioral Reviews**27**(1-2): 19-31.

Li, Z., et al. (2018). "Improving motivation through real-time fMRI-based self-regulation of the nucleus accumbens." Neuropsychology**32**(6): 764.

Maldonado, A. M. and C. L. Kirstein (2005). "Cocaine-induced locomotor activity is increased by prior handling in adolescent but not adult female rats." Physiology & behavior**86**(4): 568-572.

Mathews, I. Z. and C. M. McCormick (2007). "Female and male rats in late adolescence differ from adults in amphetamine-induced locomotor activity, but not in conditioned place preference for amphetamine." Behavioural Pharmacology**18**(7): 641-650.

McClintock, M. K. (1984). "Group mating in the domestic rat as a context for sexual selection: Consequences for the analysis of sexual behavior and neuroendocrine responses." Advances in the Study of Behavior, Elsevier. **14**: 1-50.

Mermelstein, P. G. and J. B. Becker (1995). "Increased extracellular dopamine in the nucleus accumbens and striatum of the female rat during paced copulatory behavior." Behavioral neuroscience**109**(2): 354.

Meyer, J. S. and L. F. Quenzer (2005). Psychopharmacology: Drugs, the brain, and behavior, Sinauer Associates.

Micevych, P. E., & Meisel, R. L. (2017). "Integrating neural circuits controlling female sexual behavior". Frontiers in systems neuroscience**11**, 42.

Millera, S. M and Lonstei, J.S. (2009). "Dopaminergic projections to the medial preoptic area of postpartum rats". Neuroscience **159** (4): 1384-1396.

Miryala, C. S. J., et al. (2013). "Sprague-Dawley and Fischer female rats differ in acute effects of fluoxetine on sexual behavior." The journal of sexual medicine**10**(2): 350-361.

Mogenson, G. J., et al. (1980). "From motivation to action: functional interface between the limbic system and the motor system." Progress in neurobiology**14**(2-3): 69-97.

Monies, G. and E. Luque (1988). "Effects of ovarian steroids on vaginal smears in the rat." Cells Tissues Organs**133**(3): 192-199.

Morrell, J. I., et al. (2011). "Both high and low doses of cocaine derail normal maternal caregiving—lessons from the laboratory rat." Frontiers in psychiatry**2**: 30.

Moses, J., et al. (1995). "Dopaminergic drugs in the medial preoptic area and nucleus accumbens: effects on motor activity, sexual motivation, and sexual performance." Pharmacology Biochemistry and Behavior**51**(4): 681-686.

Nestler, E. J. (2005). "The neurobiology of cocaine addiction." Science & practice perspectives**3**(1): 4.

Numan, M. (2006). "Hypothalamic neural circuits regulating maternal responsiveness toward infants." Behavioral and cognitive neuroscience reviews**5**(4): 163-190.

Numan, M., & Stolzenberg, D. S. (2009). "Medial preoptic area interactions with dopamine neural systems in the control of the onset and maintenance of maternal behavior in rats". Frontiers in neuroendocrinology, **30**(1), 46-64.

Parylak, S. L., et al. (2008). "Gonadal steroids mediate the opposite changes in cocaine-induced locomotion across adolescence in male and female rats." Pharmacology Biochemistry and Behavior**89**(3): 314-323.

Pfaus, J., et al. (1995). "Sexual activity increases dopamine transmission in the nucleus accumbens and striatum of female rats." Brain research**693**(1-2): 21-30.

Pfaus, J. G., et al. (2015). "Female sexual behavior." Physiology of Reproduction. Elsevier: New York, NY, USA: 2287-2370.

Pfaus, J. G., et al. (1999). "Appetitive and consummatory sexual behaviors of female rats in bilevel chambers: I. A correlational and factor analysis and the effects of ovarian hormones." Hormones and behavior**35**(3): 224-240.

Pfaus, J. G., et al. (2010). "Inhibitory and disinhibitory effects of psychomotor stimulants and depressants on the sexual behavior of male and female rats." Hormones and behavior**58**(1): 163-176.

Phillips, A. G., et al. (2008). "A top-down perspective on dopamine, motivation and memory." Pharmacology Biochemistry and Behavior**90**(2): 236-249.

Pontieri, F., et al. (1995). "Intravenous cocaine, morphine, and amphetamine preferentially increase extracellular dopamine in the " shell" as compared with the " core" of the rat nucleus accumbens." Proceedings of the National Academy of Sciences**92**(26): 12304-12308.

Quiñones-Jenab, V., et al. (2000). "Ovarian hormone replacement affects cocaine-induced behaviors in ovariectomized female rats." Pharmacology Biochemistry and Behavior**67**(3): 417-422.

Richfield, E. K., et al. (1989). "Anatomical and affinity state comparisons between dopamine D1 and D2 receptors in the rat central nervous system." Neuroscience**30**(3): 767-777.

Salamone, J. D. and M. Correa (2012). "The mysterious motivational functions of mesolimbic dopamine." Neuron**76**(3): 470-485.

Salamone, J. D., et al. (2007). "Effort-related functions of nucleus accumbens dopamine and associated forebrain circuits." Psychopharmacology**191**(3): 461-482.

Sell, S. L., et al. (2000). "Influence of ovarian hormones and estrous cycle on the behavioral response to cocaine in female rats." Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**293**(3): 879-886.

Sircar, R. and D. Kim (1999). "Female gonadal hormones differentially modulate cocaine-induced behavioral sensitization in Fischer, Lewis, and Sprague-Dawley rats." Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**289**(1): 54-65.

Sisk, C. L. and D. L. Foster (2004). "The neural basis of puberty and adolescence." Nature neuroscience**7**(10): 1040-1047.

Spear, L. P., and S. C. Brake (1983). "Periadolescence: age-dependent behavior and psychopharmacological responsivity in rats." Developmental Psychobiology: The Journal of the International Society for Developmental Psychobiology**16**(2): 83-109.

Spear, L. P. (2011). "Rewards, aversions and affect in adolescence: emerging convergences across laboratory animal and human data." Developmental cognitive neuroscience**1**(4): 390-403.

Tarazi, F. I. and R. J. Baldessarini (2000). "Comparative postnatal development of dopamine D1, D2 and D4 receptors in rat forebrain." International Journal of Developmental Neuroscience**18**(1): 29-37.

Teicher, M. H., et al. (1995). "Evidence for dopamine receptor pruning between adolescence and adulthood in striatum but not nucleus accumbens." Developmental Brain Research**89**(2): 167-172.

Tirelli, E., et al. (2003). "Ontogenesis of behavioral sensitization and conditioned place preference induced by psychostimulants in laboratory rodents." Neuroscience & Biobehavioral Reviews**27**(1-2): 163-178.

Tobiansky, D. J., et al. (2016). "Estradiol in the preoptic area regulates the dopaminergic response to cocaine in the nucleus accumbens." Neuropsychopharmacology**41**(7): 1897-1906.

Uphouse, L. (2014). "Pharmacology of serotonin and female sexual behavior." Pharmacology Biochemistry and Behavior**121**: 31-42.

Ushijima, I., et al. (1995). "Involvement of D1 and D2 dopamine systems in the behavioral effects of cocaine in rats." Pharmacology Biochemistry and Behavior**52**(4): 737-741.

Volkow, N. D., et al. (2000). "Effects of route of administration on cocaine induced dopamine transporter blockade in the human brain." Life sciences**67**(12): 1507-1515.

Xiao, K., Kondo, Y., & Sakuma, Y. (2005). Differential regulation of female rat olfactory preference and copulatory pacing by the lateral septum and medial preoptic area. Neuroendocrinology, **81**(1), 56-62.

Zakharova, E., et al. (2009). "Differential effects of methamphetamine and cocaine on conditioned place preference and locomotor activity in adult and adolescent male rats." Behavioural brain research**198**(1): 45-50.

Zakharova, E., et al. (2009). "Sensitivity to cocaine conditioned reward depends on sex and age." Pharmacology Biochemistry and Behavior**92**(1): 131-134.

ANEXO I

Expresión de receptores dopaminérgicos D1 y D2 en el estriado dorsal, el NAcc y el APOM de hembras adolescentes y adultas en proestro tardío

Con el fin de evaluar si la expresión de receptores dopaminérgicos en áreas relevantes para la expresión de la motivación sexual difiere entre hembras sexualmente activas en adolescencia tardía y adultas cuantificamos, a través de autoradiografía (utilizando los antagonistas D1 SCH 23390 y D2 nemonapride tritizados), la expresión de estos receptores en el estriado dorsal, el NAcc, y el APOM (Fig. 1) de hembras en proestro tardío (4 hs luego de apagadas las luces) en adolescencia tardía (aprox. día 50 de vida, n=6) y adultas (aprox. día 110 de vida, n=6).

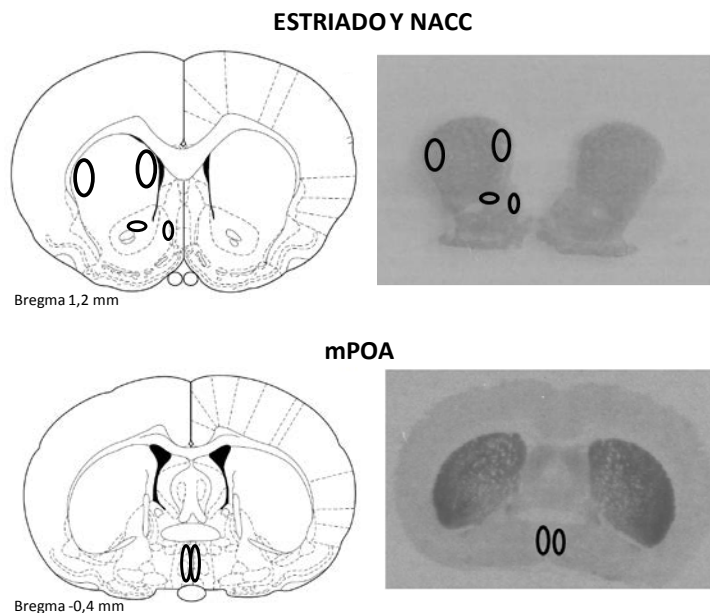


Figura 1. Representación de la altura del corte coronal y de las regiones de interés (óvalos negros) en las cuales se cuantificó la densidad óptica en el estriado dorsal y núcleo accumbens (NAcc) en el panel superior y en el área preóptica media (APOM) en el panel inferior. A la izquierda se ilustran las alturas de Paxino & Watson (1996) y a la derecha el escaneo de un corte de la placa de revelado.

Como se muestra en la Fig. 2A, la unión de SCH 23390 [H^3], antagonista de los receptores D1 no difirió entre hembras adolescentes y adultas ni en el estriado dorsal (regiones medial y lateral) ni en el NAcc (regiones *corey shell*). La unión a nemonapride [H^3], antagonista de los receptores D2, en el estriado dorsal y en el *core* del NAcc no difirió entre ambas edades. Sin embargo, las hembras adolescentes exhibieron una menor densidad de receptores D2 en el *shell* del NAcc en relación a las hembras adultas (Fig. 2B).

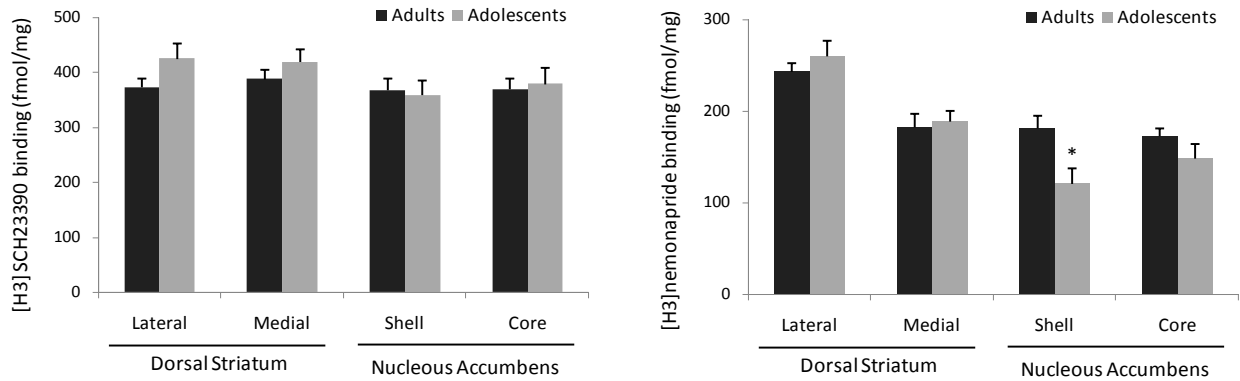


Figura 2. Unión de SCH 23390 [H^3] (panel izquierdo) y de nemonapride [H^3] (panel derecho) en las regiones lateral y medial del estriado dorsal y en las regiones de *shell* y *core* del NAcc de hembras en proestro tardío adultas (en negro) y adolescentes tardías (en gris). Los datos se expresan en medias \pm error estándar. *: $p < 0,05$, prueba t de Student.

No hallamos diferencias de acuerdo a la edad de las hembras en la unión de ambos antagonistas dopaminérgicos tritizados en el APOM (Fig. 3).

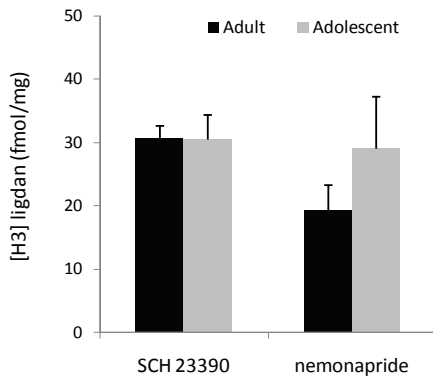


Figura 3. Unión de SCH 23390 [H^3] y de nemonapride [H^3] en el APOM de hembras en proestro tardío adultas (en negro) y adolescentes tardías (en gris). Los datos se expresan en medias \pm error estándar. Prueba t de Student $p = NS$.

ANEXO II

Locomoción de hembras en adolescencia tardía y adultas en proestro tardío durante la prueba de preferencia macho-hembra en el laberinto en Y

Diez minutos luego de la inyección de solución salina o cocaína (10 o 20 mg/kg de forma intraperitoneal) las hembras fueron sometidas a una prueba de preferencia entre macho sexualmente activo y hembra receptiva en un laberinto en forma de Y. Durante la prueba se cuantificó el número de entradas a los 3 comportamientos y a los 3 brazos del modelo como índice de locomoción durante la prueba (Agrati et al., 2016; Ferreño et al., 2018). Como se muestra en la figura 1, la locomoción en el modelo no difirió entre hembras adolescentes y adultas tratadas con solución salina. Ambas dosis de cocaína incrementaron la locomoción tanto de hembras adolescentes como de adultas en comparación con el grupo control. Este incremento en la locomoción fue mayor en hembras adultas que en adolescentes luego de la administración de ambas dosis de cocaína.

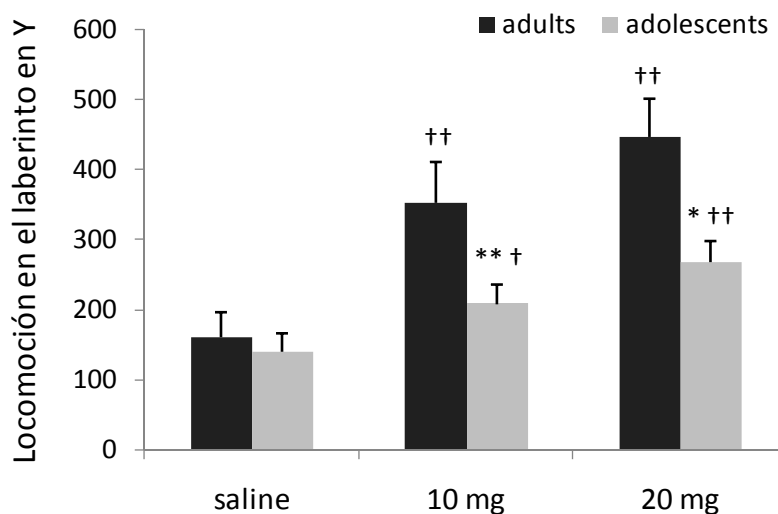


Figura 1. Locomoción en el laberinto en Y. Número de entradas a los compartimientos y a los brazos del laberinto en Y realizadas por hembras en proestro tardío adultas (en negro) y adolescentes tardías (en gris) luego de la administración de solución salina y 10 y 20 mg/kg de clorhidrato de cocaína ip (10 min antes). Los datos se expresan como medianas (rango semi inter cuartil). *:p<0.05 y **:p<0.01 vs. adultas entre grupos etarios, y †:p<0.05 y ††:p<0.01 vs. salino dentro de un grupo etario entre dosis, Mann Whitney U test.