

Licenciatura en Ciencias Biológicas

El bloqueo de los receptores dopaminérgicos D2 en el Núcleo Accumbens Shell no afecta la motivación sexual de ratas hembra

2023



Ainara Turnes
Orientadora: Daniella Agrati
Co-orientadora: Natalia Uriarte

Índice

Resumen.....	1
Introducción.....	2
Comportamiento sexual de la rata hembra.....	2
Motivación sexual y su regulación por el sistema dopaminérgico mesolímbico.....	3
Planteamiento de problema e Hipótesis.....	7
Objetivos.....	7
Materiales y Métodos.....	7
Animales.....	7
Determinación de la fase del ciclo estral.....	8
Cirugía estereotáxica.....	8
Inyección del fármaco.....	8
Extracción y procesamiento de encéfalos.....	8
Pruebas comportamentales.....	9
Prueba de preferencia sexual.....	9
Prueba de comportamiento sexual.....	10
Prueba de actividad locomotora.....	11
Protocolo experimental.....	12
Análisis estadístico.....	13
Resultados.....	14
Prueba de preferencia sexual.....	14
Comportamiento sexual.....	18
<i>Receptividad sexual de las hembras</i>	18
<i>Proceptividad sexual de las hembras</i>	18
<i>Comportamiento sexual de los machos</i>	21
Prueba de locomoción.....	21
Discusión.....	22
El bloqueo de los RD2 en el NAcc shell no tuvo efecto sobre la expresión de la motivación sexual de las hembras.....	23
Reducción de la actividad locomotora de las hembras en la prueba de preferencia por el bloqueo de los RD2 en el NAcc shell.....	26
Conclusiones y perspectivas.....	28
Bibliografía.....	29

Resumen

En ratas hembra, el comportamiento sexual presenta un fuerte componente motivacional, estando involucrado en su regulación el sistema dopaminérgico mesolímbico. La acción de la dopamina sobre sus receptores D2 (RD2) ha sido implicada en la motivación general, y la administración sistémica de antagonistas de RD2 disminuye el comportamiento sexual de la hembra. Sobre esta base hipotetizamos que el bloqueo selectivo de los RD2 en el shell del núcleo accumbens (NAcc shell) de ratas hembra sexualmente activas reduce la expresión de la motivación sexual frente a un macho. Para probar esta hipótesis se implantaron cánulas bilaterales dorsales a la porción dorsomedial del NAcc shell de hembras adultas, vírgenes y ciclantes. Cinco días después, en la fase de proestro tardío del ciclo estral, se les administró el antagonista selectivo de los RD2 raclopride (0,0; 2,5µg o 5,0µg/0,5µl/lado) e inmediatamente después se les realizó una prueba de preferencia sexual —macho vs hembra— seguida de una prueba de comportamiento sexual en una arena de dos niveles. Finalmente, se realizó una prueba de actividad locomotora. Determinamos que el bloqueo de los RD2 disminuyó la actividad motora y el acicalamiento durante la prueba de preferencia sexual, sin afectar la preferencia por el macho y los intentos por acceder a éste. A su vez, la administración de raclopride no afectó la expresión de lordosis en respuesta a las montas del macho y de *hops & darts* y solicitudes sexuales de las hembras. Sin embargo, la dosis alta de raclopride redujo los olfateos anogenitales de las hembras. No detectamos diferencias entre los grupos experimentales en la prueba locomotora realizada 35 min luego de la administración del fármaco. En conjunto, estos resultados indican que las dosis utilizadas de raclopride no afectan la expresión de la motivación sexual de hembras ciclantes sexualmente activas, a pesar de reducir su actividad motora en los primeros 15 minutos pos-inyección, relativizando el papel de los RD2 en el NAcc shell en la regulación de la motivación sexual de la hembra.

Palabras clave: motivación sexual; dopamina; receptor D2; núcleo accumbens shell; rata hembra

Introducción

Comportamiento sexual de la rata hembra

La rata hembra se encuentra sexualmente activa, de forma natural, en momentos específicos del ciclo estral como consecuencia de los efectos activacionales de los esteroides ováricos. Es entonces en la fase de proestro tardío, luego de la ocurrencia de los picos preovulatorios de estrógenos y progesterona, que la hembra exhibe atracción sexual hacia el macho y expresa comportamiento sexual durante la interacción con éste. Este comportamiento se caracteriza por la expresión de dos tipos de conductas distintivas: receptivas y proceptivas (Beach, 1976).

El comportamiento receptivo más conspicuo es la postura de lordosis, una postura corporal refleja que adoptan las hembras en respuesta al contacto físico (p. ej., la monta de una rata macho que estimula la región perivaginal y los flancos, Figura 1), e implica la flexión dorsal de la espalda (Beach, 1976). Esta postura, que permite la intromisión, se utiliza como índice de la disposición de la hembra a la cópula, es decir, de su receptividad sexual. Los comportamientos proceptivos son conductas voluntarias y flexibles cuya expresión difiere de acuerdo al contexto, y se han utilizado como índices de la motivación sexual de las hembras, dado que promueven el acercamiento y la monta por parte del macho (Beach, 1976; Agrati, 2022).

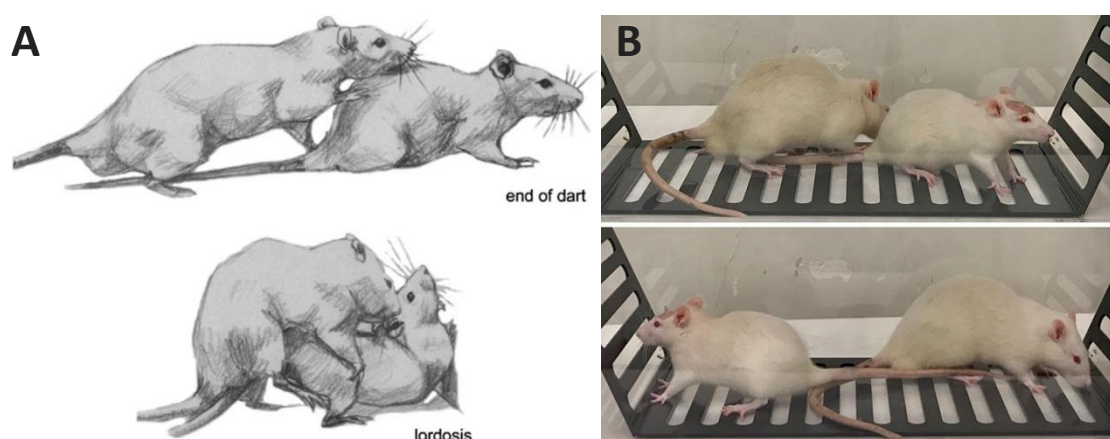


Figura 1 | Comportamiento sexual de ratas hembra. (A) Dibujos de P.J.A. Timmermans (Snoeren et al., 2014), representan la postura corporal que las hembras adoptan al finalizar un *dart* (mitad superior) y realizar una lordosis (mitad inferior). (B) Hembras experimentales sexualmente activas realizando la postura de presentación o *crouch* en respuesta al olfateo y/o a la presencia del macho.

Estos comportamientos incluyen desplazamientos y cambios posturales típicos como *hops & darts* (carreras cortas y rápidas, y saltos frente al macho, que pueden originarse de forma espontánea o como respuesta a un olfateo de la región anogenital por parte del macho), postura de presentación o *crouch* (postura corporal rígida con el dorso arqueado y cabeza y orejas tiesas, Figura 1B) y *ear wiggings* (movimientos rápidos de la cabeza, que dan la

aparición de vibraciones rápidas de las orejas), así como acercamientos y alejamientos del macho a través de los cuales las hembras regulan el ritmo de la cópula (Paredes & Vazquez, 1999; Blaustein & Erskine, 2002). Estas conductas también se denominan paracopulatorias porque ocurren de forma casi exclusiva durante la interacción sexual en respuesta a la estimulación sensorial producida por el macho o por estimulación manual de los investigadores, por lo que se ha sugerido que tienen cierto componente reflejo (Blaustein, 2009). Las solicitudes sexuales son otro tipo de conducta proceptiva que puede observarse al estudiar el comportamiento sexual de las hembras en modelos semi-naturales o ambientes más complejos que una arena sexual (McClintock, 1984; Erskine, 1989). Se trata de desplazamientos más largos realizados por la hembra, que suelen finalizar en un *hop & dart* o un *crouch*, en los que se aleja del macho y provocan que éste las persiga (Pfaus et al., 2015).

Motivación sexual y su regulación por el sistema dopaminérgico mesolímbico

Si bien el carácter estereotipado de la expresión del comportamiento sexual de la hembra durante la interacción con un macho sugiere cierta rigidez en su control, es un comportamiento fuertemente motivado (Guarraci & Frohardt, 2019; Agrati, 2022). En este sentido, las hembras sexualmente activas prefieren a un macho frente a una hembra (Clarck et al., 2004; Agrati et al., 2008), incrementan su emisión de ultravocalizaciones luego de la exposición a un macho en relación a una hembra (McGinnis & Vakulenko, 2003; Armas et al., 2021), aprenden a apretar una palanca para obtener acceso a un macho (Bermant et al., 1961) y exhiben preferencia por un lugar asociado a la cópula (Paredes & Vazquez, 1999). El comportamiento de las hembras sexualmente activas en estas pruebas específicas para evaluar motivación, da cuenta del fuerte valor de incentivo que un macho tiene para ellas. La motivación sexual es diferente a otros tipos de motivaciones fundamentales para la supervivencia del individuo, como las vinculadas a la ingesta de alimentos y agua. Sin embargo, ésta representaría un impulso poderoso fundamental para la supervivencia de las especies (Guarraci & Frohardt, 2019) dado que permite el mantenimiento de la cópula, al ser éste un comportamiento recompensante.

Diversas áreas del sistema nervioso central han sido implicadas en la regulación neural del comportamiento sexual de la rata hembra, tales como el área preóptica media, el núcleo ventromedial del hipotálamo y la amígdala mediodorsal posterior (Bitran et al., 1988; Erskine & Hanrahan, 1997; Coria-Avila & Pfaus, 2007; Figura 2). Dado que este es un comportamiento motivado, se le ha atribuido un papel en el control del comportamiento sexual a la conexión de estas áreas con sistemas de regulación de procesos motivacionales generales (Ventura-Aquino et al., 2018). En este sentido, el sistema dopaminérgico mesolímbico ha sido propuesto como un sistema motivacional general, implicado en la asignación de valor motivacional o de incentivo a estímulos con relevancia biológica, promoviendo conductas de búsqueda y acercamiento a éstos (Kelley & Berridge, 2002; Kringelbach & Berridge, 2009; Berridge & Kringelbach, 2011). Este sistema está conformado

por las proyecciones dopaminérgicas (DAérgicas) desde el área tegmental ventral (VTA), origen de esta vía, hacia el núcleo accumbens (NAcc) (Melis & Argiolas, 1995), importante región de salida de este circuito (Figura 2).

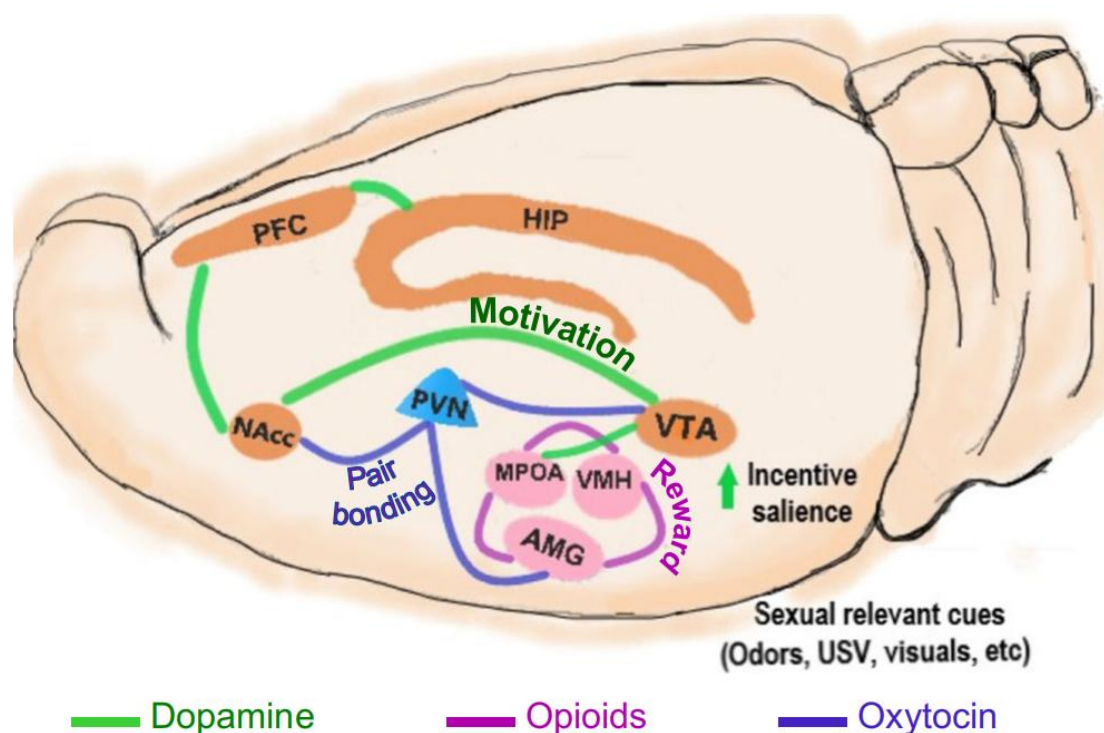


Figura 2 | Esquema de las principales áreas neurales implicadas en la regulación de diferentes aspectos del comportamiento sexual de la hembra y sus conexiones. Las conexiones de color rosa unen a las áreas encargadas de atribuirle valor sexual al macho, de volver a la cópula un estímulo recompensante. Las conexiones de color azul han sido involucradas en la formación de vínculo (de pareja, especialmente en especies monógamas), y las verdes conectan a las áreas responsables de la motivación sexual. PFC: Corteza prefrontal; HIP: hipocampo; NAcc: núcleo accumbens; PVN: núcleo paraventricular del hipotálamo; MPOA: área preóptica medial; VMH: hipotálamo ventromedial; AMG: amígdala. Tomado de Ventura-Aquino et al., 2018.

Mogenson et al. (1980) propusieron que el NAcc actúa como una interfase "límbico-motora", proporcionando un vínculo entre las áreas límbicas vinculadas en la emoción y la cognición y los circuitos neuronales que regulan la salida del comportamiento. Evidencia creciente sostiene que el aumento de dopamina (DA) en el NAcc es clave para dar el paso que va de la motivación a la acción, mediando el esfuerzo y el gasto energético que los individuos están dispuestos a invertir por obtener determinadas metas, como alimento o una pareja sexual (Berridge & Robinson, 1998; Salamone & Correa, 2012). Dichos efectos son mediados a través de la DA actuando sobre las dos familias de sus receptores: D1 y D2 (Kebabian & Calne, 1979), en las dos subregiones principales del NAcc: *shell* y *core* (Salamone et al., 1991; Ikemoto et al., 1997; Nowend et al., 2001; Baldo et al., 2002; Schmidt et al., 2006; Schmidt & Pierce, 2006). En este sentido, dosis bajas a moderadas de antagonistas de los receptores de DA RD1 o RD2 tanto en NAcc core como en NAcc shell reducen el esfuerzo -entendido como los intentos por acceder a los estímulos- que los animales realizan por obtener un alimento más reforzador en relación a uno con menor valor (Salamone et al., 1991; 2002).

Sin embargo, estas dosis no afectan la ingesta total de alimentos, ni alteran la preferencia entre dos tipos de alimentos con distinto valor reforzador en pruebas de elección libre de alimentación (Salamone et al., 1991; Nowend et al., 2001; Nunes et al., 2013). Tomados en conjunto, estos estudios le atribuyen al aumento de DA en el NAcc un papel en la toma de decisión basada en análisis de costo/beneficio, donde se evalúa la capacidad propia de superar los costos asociados a la ejecución de una respuesta. Es decir, un papel en la regulación del esfuerzo que los individuos están dispuestos a hacer para acceder a estímulos significativos (reforzadores), más que en la dirección de la motivación (Salamone et al., 1994; 1997; 2009; 2018).

En relación a la motivación sexual, se ha implicado a la neurotransmisión DAérgica en el NAcc en la regulación del valor de incentivo de la pareja sexual y de la cópula principalmente, utilizando ratas macho como modelo (Everitt, 1990; Pfaus, 2009; Guadarrama-Bazante & Rodríguez-Manzo, 2018). Estos estudios muestran que la activación de receptores DAérgicos -fundamentalmente los D2- mediante agonistas en este núcleo facilita la expresión de la conducta sexual en animales con una motivación disminuida (pos-eyaculación). En el caso de la motivación sexual de las hembras, los resultados no son concluyentes y algunos autores relativizan su importancia (Paredes & Ågmo, 2004). Mientras que depletar la DA del NAcc no elimina la expresión de *hops & darts* (Hansen et al., 1991), las lesiones en el NAcc alteran el patrón de comportamiento de cópula de las hembras: aumentan los rechazos hacia el macho y eliminan la preferencia por éste (Rivas & Mir, 1991; 1990). A su vez, Pfaus et al. (1995) reportaron un aumento en los niveles de DA en el NAcc de hembras sexualmente activas tanto cuando están ante un macho como durante la cópula. En hembras ovariectomizadas tratadas hormonalmente, la administración sistémica del antagonista mayoritariamente D2 haloperidol (Kebabian & Calne, 1979) reduce la expresión de conductas proceptivas (Ismail et al., 2010). De forma interesante, Meisel et al. (1996) observaron que la administración sistémica de antagonistas de RD2, raclopride y sulpirida, evita la adquisición de una preferencia de lugar condicionada por la cópula en hembras, sugiriendo un rol para este subtipo de receptores en los aspectos apetitivos del comportamiento sexual femenino. Asimismo, en un análisis de la literatura, Melis & Argiolas (1995) postulan que, a pesar de la existencia de una interacción sinérgica u opuesta entre los RD1 y RD2, el control DAérgico de la conducta sexual estaría mediado principalmente por los RD2.

Con respecto a la participación del NAcc en la regulación del comportamiento sexual de la hembra, se ha postulado que el NAcc shell modula selectivamente los componentes proceptivos de este comportamiento. Así, la administración intracraneal en NAcc shell de 3 α -Diol (metabolito de la testosterona cuyos niveles sistémicos se encuentran elevados durante el proestro tardío en ratas ciclantes) aumenta la frecuencia y duración de las conductas proceptivas, sin afectar el cociente de lordosis (Sánchez Montoya et al., 2010). A

su vez, se ha visto que cuando este compuesto es administrado sistémicamente genera condicionamiento de lugar, haciendo que pasen más tiempo en el lado del modelo donde recibieron la inyección, únicamente si el NAcc shell está intacto, sin depender del NAcc core (Frye et al., 2002; Frye, 2007).

En base a la relación de aferencias-eferencias específica de cada subregión del NAcc se les ha asignado un rol funcional diferente, involucrando más a la región del *core* en las funciones motoras y al *shell* en aspectos motivacionales y emocionales (Heimer et al., 1991). En este sentido, la actividad DAérgica específicamente en el NAcc shell se ha asociado con la valencia motivacional y la novedad de los estímulos (Bassareo et al., 2002), participando en la codificación de señales predictivas y de los estímulos recompensantes (Cacciapaglia et al., 2012).

La evidencia mencionada previamente propone, por tanto, un rol para el sistema DAérgico mesolímbico en el control de la motivación sexual, en particular de los RD2 y del NAc shell (Melis & Argiolas, 1995; Meisel et al., 1996; Bassareo et al., 2002; Pfaus, 2009; Ismail et al., 2010; Sánchez Montoya et al., 2010; Stolzenberg & Numan, 2011; Cacciapaglia et al., 2012; Pfaus et al., 2015; Coria-Avila et al., 2016; Ventura-Aquino et al., 2018). No obstante, hasta el momento no hay estudios que aborden el efecto de bloquear de forma específica y selectiva la neurotransmisión DAérgica en el NAcc sobre la expresión de la motivación sexual de ratas hembra. En particular, en base a la evidencia que vincula a la DA con los aspectos energizantes de los comportamientos motivados (Salamone & Correa, 2012), resulta fundamental estudiar el efecto de esta manipulación sobre aquellos componentes motivados del comportamiento sexual que impliquen esfuerzo.

Para estudiar el comportamiento sexual y poder distinguir aspectos motivacionales de la ejecución es importante usar modelos motivacionales específicos, como el de preferencia macho vs. hembra, y modelos de ejecución que le permitan a la hembra expresar más elementos comportamentales, como la arena de dos niveles (Pfaus et al., 1999; Guarraci & Frohardt, 2019; Agrati et al., 2022). Si bien la mayoría de los estudios emplean hembras ovariectomizadas tratadas con esteroides sexuales (para facilitar las condiciones de trabajo y homogeneizar el perfil hormonal entre las hembras), no deja de ser una condición inducida farmacológicamente (Mondino et al., 2019). A pesar de que logren evocar una expresión de conducta sexual similar a la observada en la fase de proestro tardío natural. Probablemente, el sistema DAérgico al ser sensible al efecto de los esteroides ováricos (Becker, 1990; 1999; 2000; Becker & Rudick, 1999; Quinlan et al., 2013) difiera. Por tanto, dado que este trabajo se centra en la motivación sexual, consideramos importante trabajar con condiciones fisiológicas, por lo que en este estudio empleamos hembras ciclantes en proestro tardío.

Planteamiento de problema e Hipótesis

Si bien la evidencia disponible a la fecha indica que el sistema DAérgico mesolímbico, como sistema motivacional general, está implicado en la regulación del valor de incentivo sexual del macho y de la interacción sexual para las ratas hembra (Everitt, 1990; Berridge & Robinson, 1998; Nowend et al., 2001; Pfaus, 2009; Salamone & Correa, 2012; Guadarrama-Bazante & Rodríguez-Manzo, 2018), los resultados no son concluyentes y algunos autores relativizan su importancia (Paredes & Agmo, 2004).

Existe evidencia que apunta a un rol de los receptores DAérgicos D2 (Melis & Argiolas, 1995; Meisel et al., 1996; Ismail et al., 2010) y al NAcc shell (Heimer et al., 1991; Bassareo et al., 2002; Sánchez Montoya et al., 2010) como parte del sistema regulatorio de la motivación sexual de la hembra. Sin embargo, hasta el momento no se ha bloqueado la neurotransmisión DAérgica en el NAcc, en particular en la región shell, con el fin de estudiar sus efectos sobre la expresión de la motivación sexual de ratas hembra. Sobre esta base hipotetizamos que la acción de la DA sobre los RD2 en el NAcc shell de ratas hembra sexualmente activas está implicada en la modulación de su motivación sexual, de forma tal que el bloqueo de dichos receptores produciría una disminución de la misma.

Objetivos

Objetivo general

Determinar si el bloqueo de los receptores DAérgicos D2 en el NAcc shell afecta la motivación sexual de las hembras.

Objetivo específico

Evaluar el efecto de la administración del antagonista de los RD2 raclopride en la porción dorsomedial del NAcc shell sobre la expresión de la motivación sexual en una prueba de preferencia macho vs. hembra y en la interacción con el macho en la arena de dos niveles de hembras vírgenes en proestro tardío.

Materiales y métodos

Animales

Se utilizaron ratas (*Rattus norvegicus*), hembras y machos adultos (a partir del día 85 de vida) de la cepa Wistar alojadas en el Laboratorio de Experimentación Animal (LEA) de la Facultad de Ciencias. Los animales se mantienen bajo temperatura ($21\pm 1^{\circ}\text{C}$) y humedad (65%) controladas, con un ciclo de luz-oscuridad invertido 12:12 hrs (luces encendidas 03:00 hrs) y tienen acceso libre a agua y ración. Se usó un N=9-10 por grupo. El protocolo experimental

realizado fue aprobado por el CEUA de la Facultad de Ciencias (número de expediente 24001-000941-17) en concordancia con la Ley Nacional de Experimentación Animal.

Determinación de la fase del ciclo estral

Se determinó la fase del ciclo estral de las hembras (a partir del día 85 de vida) mediante el análisis de los tipos de células y su abundancia encontradas en el exudado vaginal, realizado con solución salina (Monies & Luque, 1988). Este procedimiento se realizó una vez al día durante las mañanas.

Cirugía estereotáxica

Las hembras fueron anestesiadas (75 mg/kg de Ketamina, 7,5 mg/kg de Xilacina y 1,5 mg/kg de Acepromazina maleato, i.p.) y fijadas en un aparato estereotáxico para la implantación de cánulas guía bilaterales en la porción dorsomedial del NAcc shell (coordenadas seleccionadas de acuerdo a la literatura y usando Paxinos 6^{ta} edición¹: DV 7,8 mm (6,8 mm del largo de la cánula + 1 mm que protruye el inyector); AP +2,5 mm de bregma; ML 1,6 mm (± 0.8 mm) de la línea media). Las cánulas (28G de acero inoxidable) se anclaron al cráneo conacrílico dental y tornillos. Una vez finalizada la cirugía se administró analgésico (1 ml/kg a 1 mg/ml de Meloxicam, s.c.) y se aplicó antibiótico y anti-inflamatorio local en la herida. Luego de la cirugía, las hembras se alojaron en cajas individuales y se manipularon diariamente (aproximadamente durante 5 días, que comprenden el lapso de tiempo entre la cirugía y el día de las pruebas) para habituarlas y facilitar la microinyección del fármaco.

Inyección del fármaco

Se utilizó el antagonista de los receptores D2 raclopride (Sigma-Aldrich) diluido en solución salina y se administró en dosis de 0,0 $\mu\text{g}/0,5\mu\text{l}/\text{lado}$ (grupo control), 2,5 $\mu\text{g}/0,5\mu\text{l}/\text{lado}$ y 5,0 $\mu\text{g}/0,5\mu\text{l}/\text{lado}$ (grupos experimentales) de acuerdo a Nowend et al., 2001. Se utilizaron inyectores bilaterales que protruyen 1mm debajo de la cánula guía. La velocidad de infusión fue de 0,25 $\mu\text{g}/\text{min}$ (durante 2 minutos), y se mantuvieron los inyectores un minuto extra de reposo para permitir la difusión correcta.

Extracción y procesamiento de encéfalos

Para este paso, los animales fueron anestesiados con tiopental sódico (120 mg/kg, i.p.) y se perfundieron de forma transcardíaca con solución salina heparinizada, seguida de formol al 4%. Los cerebros extraídos fueron posfijados por 24 hs en la misma solución.

Al día siguiente, una vez cumplidas las 24 hs, comenzó la criopreservación de los mismos (se realiza una serie de pasajes por concentraciones ascendentes de sacarosa diluida en PBS: 15% durante 24 horas, 30% durante 48 horas). Finalmente los cerebros se congelaron y cortaron en criostato para obtener cortes de 50 μm . Las rodajas de interés fueron almacenadas en solución *antifreeze* a -20 °C hasta su procesamiento histológico.

Los cortes obtenidos de las regiones cercanas al NAcc shell (aquellos que contienen trazos de la cánula) se montaron en portaobjetos previamente cubiertos con poli-L-lisina (0,01% en agua destilada), se dejaron secar *overnight* y luego fueron sometidos a la tinción de Nissl para corroborar la localización de la cánula y del sitio de inyección (Figura 3).

Pruebas comportamentales

Prueba de preferencia sexual

La prueba de preferencia en un laberinto en forma de Y (Figura 3) es ampliamente utilizada por nuestro laboratorio para estudiar el valor de incentivo de dos estímulos presentados de manera simultánea (Agrati, 2022; Agrati & Uriarte, 2023). El modelo consiste en un laberinto de acrílico transparente en forma de Y, con 3 cámaras de igual tamaño (25x30x18cm) al final de cada brazo (10x60x10cm). Dos de las cámaras contienen los estímulos, mientras que la tercera cámara permanece vacía (cámara neutra). A su vez, cada cámara contiene una división de acrílico transparente perforada, que permite que la rata experimental pueda ver, oler y oír a los estímulos, sin posibilitar contacto físico con ellos.

Previo a las pruebas se coloca a la rata experimental en el centro del modelo y se le permite explorarlo por 10 minutos para que se habitúe. Luego de este período se retira al animal del modelo y se procede a la microinyección intracraneal. Una vez finalizada la inyección se devuelve a la hembra al modelo, se colocan los estímulos -macho sexualmente activo y hembra sexualmente activa- y durante 15 minutos se registra el tiempo de permanencia en cada cámara, la exploración olfatoria de los estímulos a través de la barrera divisoria perforada y, el número de intentos realizados para acceder a los estímulos (mordidas y rasguños de la pared divisoria). También se evalúa la conducta de acicalamiento y la actividad locomotora, medida como el número total de entradas a cada compartimiento más el número total de entradas a los 3 brazos. Las pruebas fueron registradas en vivo de forma manual en base a una planilla preestablecida que contenía los ítems recién mencionados, así como también se grabaron con cámara de video como respaldo.

Mientras que la diferencia entre el tiempo de permanencia en los 3 compartimientos nos permite determinar la preferencia de las hembras, el número de intentos para acceder a cada estímulo, es considerado un índice de esfuerzo, ya que la misma es sensible a variaciones en la neurotransmisión DAérgica y a cambios en la motivación (Agrati et al., 2016; Ferreño et al., 2018).

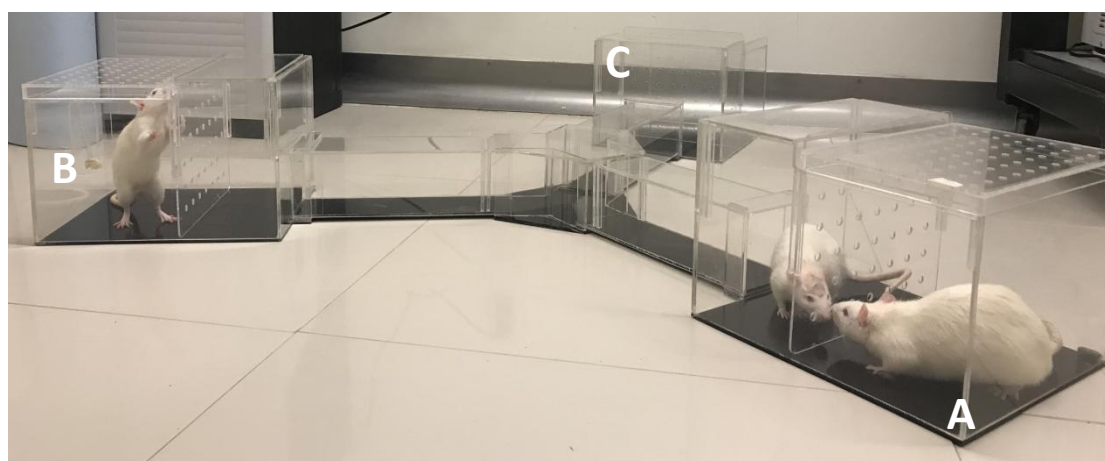


Figura 3 | Modelo de preferencia macho vs. hembra. Se observa (A) una hembra experimental en el compartimiento del macho, olfateando a este mismo a través de la división perforada de acrílico, (B) hembra sexualmente activa, que junto con el macho representan los compartimientos con estímulos, y (C) compartimiento neutro.

A su vez, a partir de los tiempos de permanencia en los compartimientos con estímulos calculamos un índice de preferencia como el cociente entre el tiempo total que la hembra permaneció en el compartimiento del macho y el tiempo total que la hembra permaneció en ambos compartimientos (macho y hembra). Este índice refleja la existencia de preferencia por la hembra (valores $<0,5$), la ausencia de preferencia por los dos estímulos ($=0,5$) y la preferencia por el macho (valores $>0,5$) (Guarraci & Clark, 2003).

Prueba de comportamiento sexual

Seleccionamos la arena de dos niveles como modelo para evaluar el comportamiento sexual ya que la misma permite registrar de forma óptima la expresión de componentes del comportamiento sexual altamente motivados, como lo son las solicitudes sexuales (Pfaus et al. 1999). Tanto las hembras como los machos se habitúan al modelo 3 veces por semana durante 2 semanas previas al inicio del experimento, 15 minutos cada vez. Esto se hace en grupos de máximo 3 animales para permitir que exploren el modelo de manera más cómoda y óptima, separados según el sexo y caja de origen.

Al momento de la prueba se introduce a la hembra en una arena sexual de acrílico de dos niveles (Figura 4). Luego de un período de habituación, en nuestro caso de 2 minutos, se introduce a un macho sexualmente activo y se registra durante 15 minutos el número de las siguientes conductas de la hembra: *hops & darts*, posturas de presentación, solicitudes sexuales, lordosis, rechazos y olfateos anogenitales y corporales del macho, así como la latencia a la primera conducta proceptiva, a la primera lordosis y a ejercer rechazo hacia el macho. A su vez, se registró la duración de cada postura de lordosis y se calculó la media de la duración de la lordosis por hembra (suma de la duración de todas las lordosis/número total de lordosis). Se registran las siguientes conductas del macho: número de olfateos de la hembra, de montas (con y sin intromisión) y de eyaculaciones, así como la latencia a la primera monta y a la eyaculación. Las pruebas fueron registradas en vivo de forma manual en base a una planilla preestablecida que contenía los ítems recién mencionados. A su vez, se grabaron con cámara de video y estos fueron procesados utilizando el software JWatcher. Se calcula 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 (Hardy & DeBold, 1973). La proceptividad sexual de las hembras se evalúa a partir de la exhibición de conductas paracopulatorias como *hops & darts* y posturas de presentación, y de solicitudes sexuales (desplazamientos largos con cambio de nivel previo o posterior a una postura de presentación o un *hop & dart*).



Figura 4 | Arena sexual de dos niveles. Se observa a un macho montando a una hembra sexualmente activa, la cual se encuentra realizando lordosis en respuesta a dicha monta, en el nivel inferior del modelo.

Prueba de actividad locomotora

Dado que se ha evidenciado que inyecciones de antagonistas DAérgicos en el NAcc core o shell producen una alteración de la actividad motora espontánea, disminuyendo significativamente la actividad ambulatoria y el despliegue de posturas erguidas (Baldo et al., 2002), se realizó una prueba locomotora de 10 minutos en una caja de 53 x 36 x 25 cm, cuyo piso se encuentra dividido en cuadrantes de 10 cm (Figura 5). En esta prueba se registra el número de cruces totales y de posturas erguidas (*rearings*) realizadas por las hembras, así como también su conducta de acicalamiento (de acuerdo a Delgado et al., 2019). Las pruebas fueron registradas en vivo de forma manual en base a una planilla preestablecida que contenía los ítems recién mencionados, así como también se grabaron con cámara de video como respaldo.

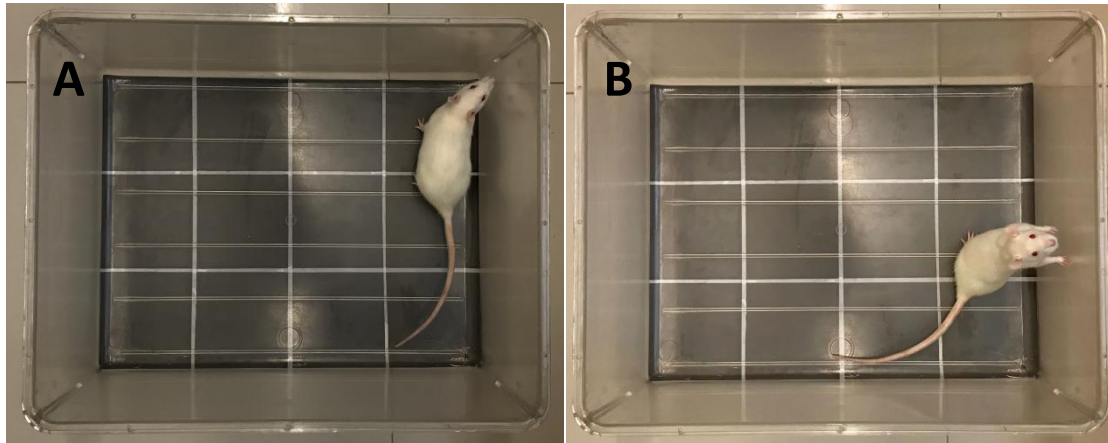


Figura 5 | Prueba de locomoción. Se observa una hembra experimental (A) recorriendo el interior de la caja, cruzando de un cuadrante al siguiente, (B) elevada en dos apoyos, manteniendo una postura erguida.

Protocolo experimental

Con el fin de determinar si el bloqueo selectivo de los receptores DAérgicos D2 en la porción dorsomedial del NAcc shell tiene un efecto sobre la motivación sexual de hembras vírgenes adultas sexualmente activas, seguimos el ciclo estral de hembras adultas -de aproximadamente 85-100 días de edad- a través de exudados vaginales matutinos diarios. Simultáneamente, en el correr de los días previos al inicio de los experimentos, realizamos la habituación a la arena sexual de dos niveles de las potenciales hembras y machos a utilizar. Aquellas hembras que presentaron dos ciclos estrales regulares, en la siguiente fase de diestro fueron sometidas a cirugía esterotáxica para la implantación de una cánula bilateral. Dejamos transcurrir un ciclo estral completo pos-cirugía, luego del cual tuvieron lugar las pruebas comportamentales.

Realizamos las pruebas en el primer proestro detectado, durante la fase de oscuridad (2 a 3 hs luego de apagadas las luces), debido a que éste es el momento del ciclo y del día en que las hembras expresan actividad sexual (Kuehn and Beach, 1963). Las hembras fueron colocadas con un macho durante 1 minuto para corroborar si estaban sexualmente activas. Luego se habituaron por 10 minutos al modelo de preferencia e inmediatamente después se procedió a la inyección intracraneal con raclopride (0,0, solución salina/0,5µl/lado (n=9), 2,5µg/0,5µl/lado, n=10; 5,0µg/0,5µl/lado, n=10). Finalizada la inyección, las hembras se colocaron nuevamente en el modelo y luego de 2 minutos se introdujeron los estímulos en los respectivos compartimentos para iniciar la prueba de preferencia macho vs. hembra.

Inmediatamente, realizamos una prueba de comportamiento sexual en la arena de 2 niveles y finalmente evaluamos la actividad locomotora. Al día siguiente, las hembras fueron anestesiadas (tiopental sódico, 120 mg/kg, i.p.) y perfundidas con solución salina heparinizada seguida de formol al 4%. Los cerebros se procesaron para la verificación histológica de los sitios de inyección. El protocolo experimental se muestra en la Figura 6.

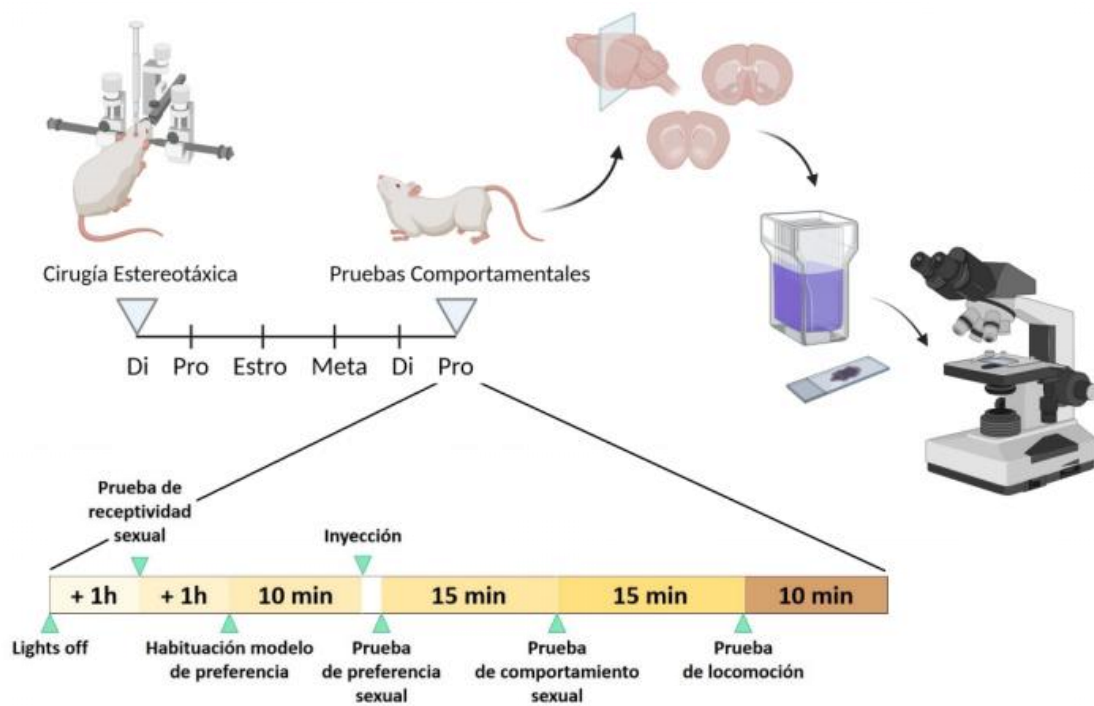


Figura 6 | Esquema del protocolo experimental. En la fase de diestro (Di) del ciclo estral se realiza la cirugía estereotáxica para la implantación de cánulas bilaterales. Las pruebas comportamentales se llevan a cabo luego de ocurrir un ciclo entero postoperatorio, en la fase de proestro (Pro) tardío. La secuencia de eventos que tiene lugar el día de la prueba se encuentra detallada a modo de línea temporal. Al día siguiente se realiza la perfusión transcardiaca de las hembras y la colecta de encéfalos. Estos son procesados para la verificación histológica del sitio de inyección. Di: diestro; Pro: proestro; E: estro; Meta: metaestro.

Análisis estadístico

Debido a que la mayoría de los datos comportamentales no se ajustan a una distribución normal, éstos se expresan como medianas (rango intercuartiles, RIQ) y se analizaron mediante pruebas no-paramétricas (Gibbons & Chakraborti, 2020). Las comparaciones dentro de un grupo experimental (dependientes) se realizaron mediante el análisis de varianzas de Friedman seguido de la prueba pareada de Wilcoxon, mientras que las comparaciones entre grupos experimentales (independientes) se realizaron mediante el análisis de varianza de Kruskal-Wallis seguido de la prueba de Dunn's (Dinno, 2015).

Resultados

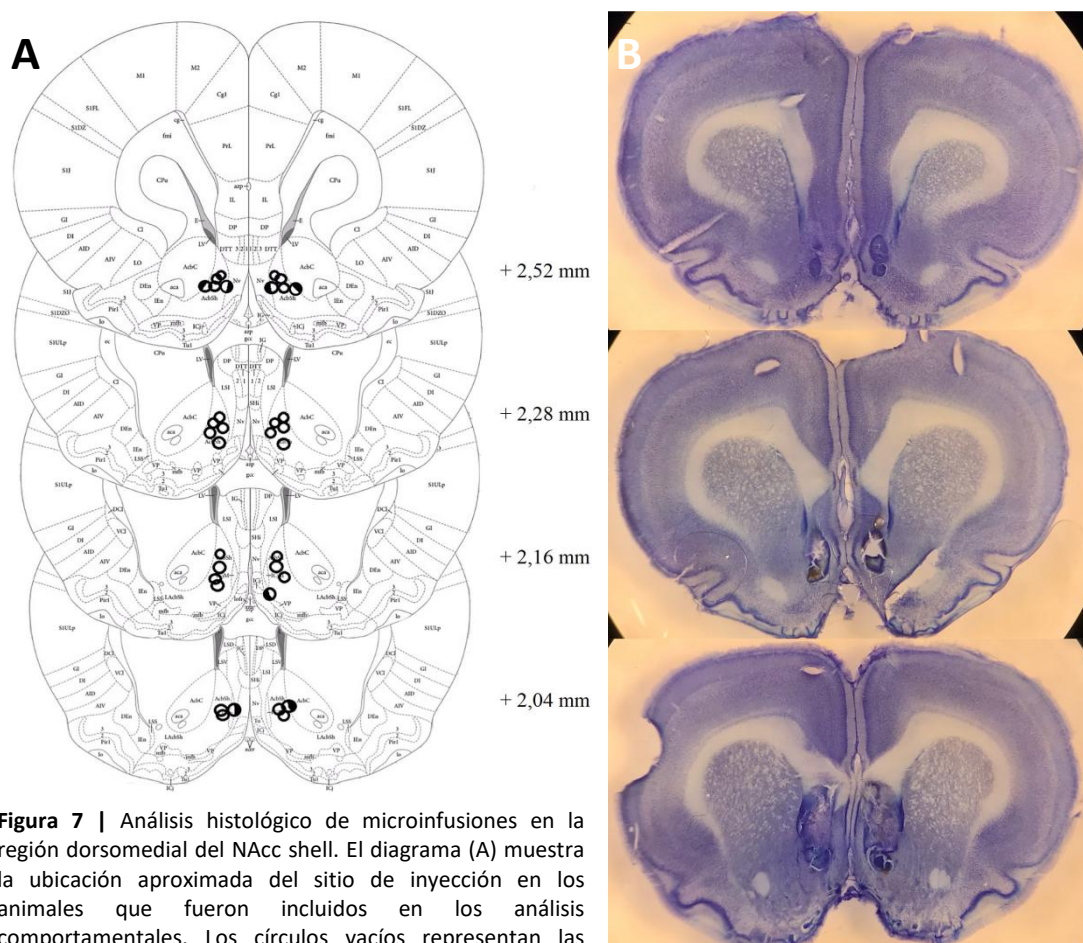


Figura 7 | Análisis histológico de microinfusiones en la región dorsomedial del NAcc shell. El diagrama (A) muestra la ubicación aproximada del sitio de inyección en los animales que fueron incluidos en los análisis comportamentales. Los círculos vacíos representan las inyecciones en el shell y los círculos semi rellenos representan inyecciones que abarcaron el shell y regiones adyacentes. Las coordenadas AP en mm se expresan respecto a Bregma (0,0 mm). Este diagrama de las secciones coronales del cerebro fue adaptado de Paxinos y Watson (6ta edición, 2007). Cortes representativos sometidos a la tinción de Nissl (B) de tres hembras representativas diferentes. AP: anteriposterior.

Prueba de preferencia sexual

Como se muestra en las figuras 8 y 9, los tres grupos exhibieron preferencia por el macho. Esta preferencia se evidenció en el mayor tiempo de permanencia en el compartimiento del macho que en el de la hembra, observado en los tres grupos (raclopride 0,0 μ g: $T(9)=3,0$, $p=0,0209$; raclopride 2,5 μ g: $T(10)=4,0$, $p=0,0166$ y raclopride 5,0 μ g: $T(10)=$, $p=0,0467$, prueba pareada de Wilcoxon). El tiempo de permanencia en los compartimientos con ambos estímulos fue mayor al tiempo en el compartimiento neutro (macho vs neutro: raclopride 0,0 μ g: $T(9)=0$, $p=0,0077$; raclopride 2,5 μ g: $T(10)=0$, $p=0,0051$ y raclopride 5,0 μ g: $T(10)=0$, $p=0,0051$; y hembra vs neutro: raclopride 0,0 μ g: $T(9)=0$, $p=0,0077$; raclopride 2,5 μ g: $T(10)=0$, $p=0,0051$ y raclopride 5,0 μ g: $T(10)=1$, $p=0,0070$).

A su vez, no se detectaron diferencias entre los grupos en el tiempo de permanencia en los comportamientos de elección (macho: $H(3)=0,2848$, $p=0,8673$; hembra: $H(3)=2,350$,

$p=0,3089$ y neutro: $H_{(3)}=1,727$, $p=0,4217$, ANOVA de Kruskal-Wallis), ni en el índice de preferencia sexual (Figura 9, $H_{(3)}=1,246$, $p=0,5364$).

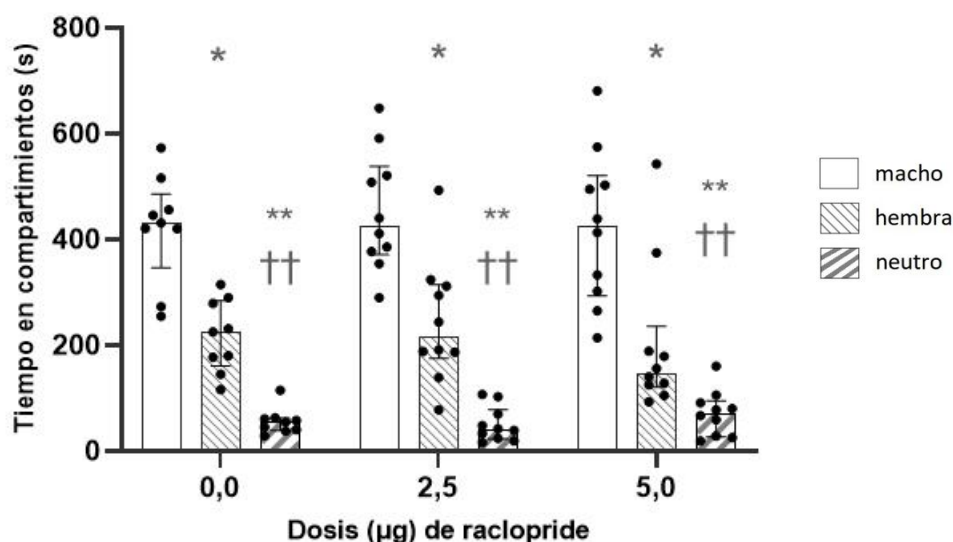


Figura 8 | Tiempo total (s) de permanencia en los compartimientos del macho, la hembra y neutro de las hembras tratadas con raclopride 0,0µg, 2,5µg y 5,0µg. Datos expresados en medianas (RIQ). Los puntos representan a cada individuo. ** $p<0,01$ y * $p<0,05$ vs macho y †† $p<0,01$ vs hembra, prueba pareada de Wilcoxon dentro de cada grupo.

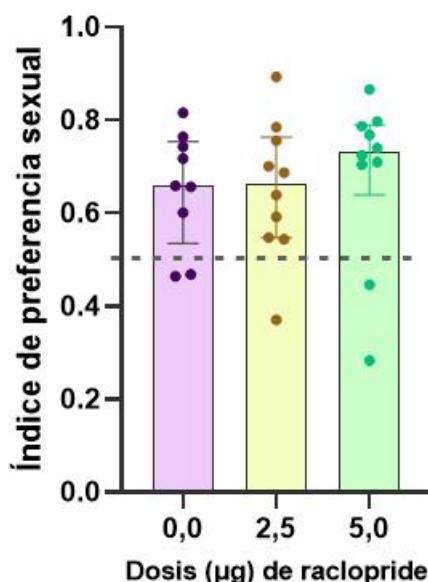


Figura 9 | Índice de preferencia sexual (tiempo en compartimiento del macho/(tiempo en compartimiento del macho y de la hembra)) de hembras tratadas con raclopride 0,0µg, 2,5µg y 5,0µg. La línea punteada señala un índice de 0,5 que representa la ausencia de preferencia. Datos expresados en medianas (RIQ). Los puntos representan a cada valor individual. $P=NS$, análisis de varianza de Kruskal Wallis.

Los tres grupos de hembras realizaron más olfateos del macho que de la hembra (Figura 10A, raclopride 0,0µg: $T_{(9)}=0$, $p=0,0077$; raclopride 2,5µg: $T_{(10)}=4$, $p=0,0166$; raclopride 5,0µg:

$T_{(10)}=1$, $p=0,0069$). Sin embargo, las hembras tratadas con raclopride 5,0 μ g, a diferencia de las tratadas con 2,5 μ g, olfatearon menos a la hembra respecto a las tratadas con 0,0 μ g (0,0 μ g vs 5,0 μ g: $Z_{(9,10)}=2,842$, $p=0,0045$ y 0,0 μ g vs 2,5 μ g: $Z_{(9,10)}=1,751$, $p=0,0800$, prueba de Dunn).

Similar a esto, se observó que las hembras del grupo control (0,0 μ g de raclopride) y las que recibieron 2,5 μ g realizaron significativamente más intentos por acceder al compartimiento del macho respecto al de la hembra (Figura 10B, raclopride 0,0 μ g: $T_{(9)}=0$, $p=0,0117$; raclopride 2,5 μ g: $T_{(10)}=0$, $p=0,0180$), mientras que las hembras que recibieron la dosis mayor de raclopride tendieron a realizar más intentos frente al macho que a la hembra ($T_{(10)}=7$, $p=0,0663$). Los intentos por acceder al macho ($H_{(3)}=4,4491$, $p=0,1059$) o a la hembra ($H_{(3)}=0,9385$, $p=0,6255$) no difirieron entre los grupos de acuerdo al tratamiento.

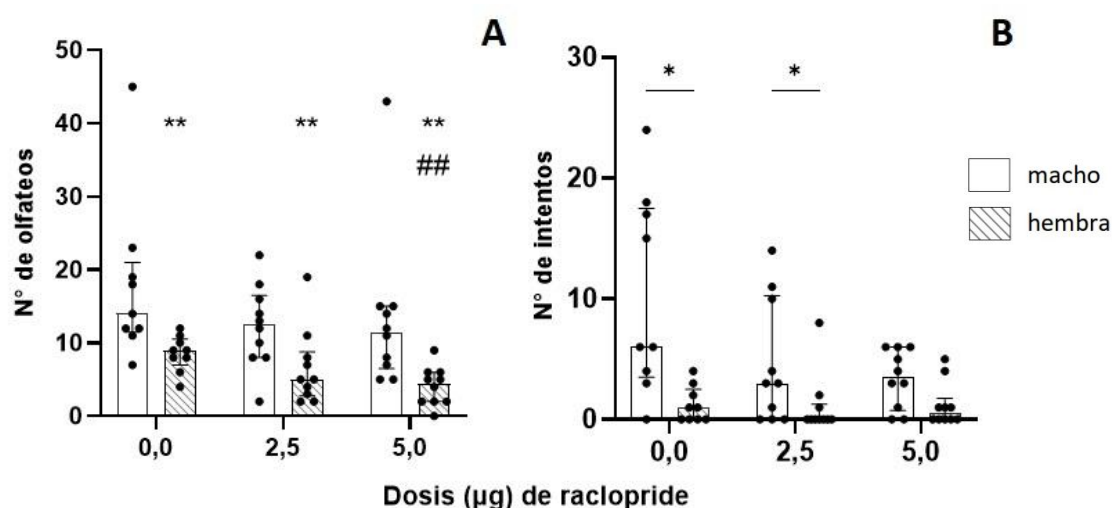


Figura 10 | Número de olfateos (panel A) y de intentos por acceder (panel B) al macho y a la hembra por las hembras tratadas con raclopride 0,0 μ g, 2,5 μ g y 5,0 μ g. Datos expresados en medianas (RIQ). ** $p<0,01$ y * $p<0,05$ vs macho, prueba pareada de Wilcoxon dentro de la misma dosis y ## $p<0,01$ vs 0,0 μ g, prueba de Dunn entre dosis.

La movilidad de las hembras en el modelo (Figura 11A) fue menor en los grupos tratados con raclopride 2,5 μ g y 5,0 μ g respecto al grupo control (0,0 μ g vs 2,5 μ g: $Z_{(9,10)}=2,169$, $p=0,0301$ y 0,0 μ g vs 5,0 μ g: $Z_{(9,10)}=2,527$, $p=0,0115$). De igual forma, la conducta de acicalamiento (Figura 11B), disminuyó en el grupo raclopride 5,0 μ g respecto a los demás grupos (vs 0,0 μ g: $Z_{(9,10)}=2,792$, $p=0,0052$ y vs 2,5 μ g: $Z_{(10,10)}=2,206$, $p=0,0274$). Si bien detectamos una reducción de la movilidad en el modelo en las hembras tratadas con raclopride 2,5 μ g y 5,0 μ g, no se afectó el tiempo total de permanencia en los compartimientos de elección (raclopride 0,0 μ g: 697,0 (646,5 - 734,5); raclopride 2,5 μ g: 778,5 (662,8 - 816,3) y raclopride 5,0 μ g: 721,0 (658,5 - 793,8); $H_{(3)}=1,969$, $p=0,3736$).

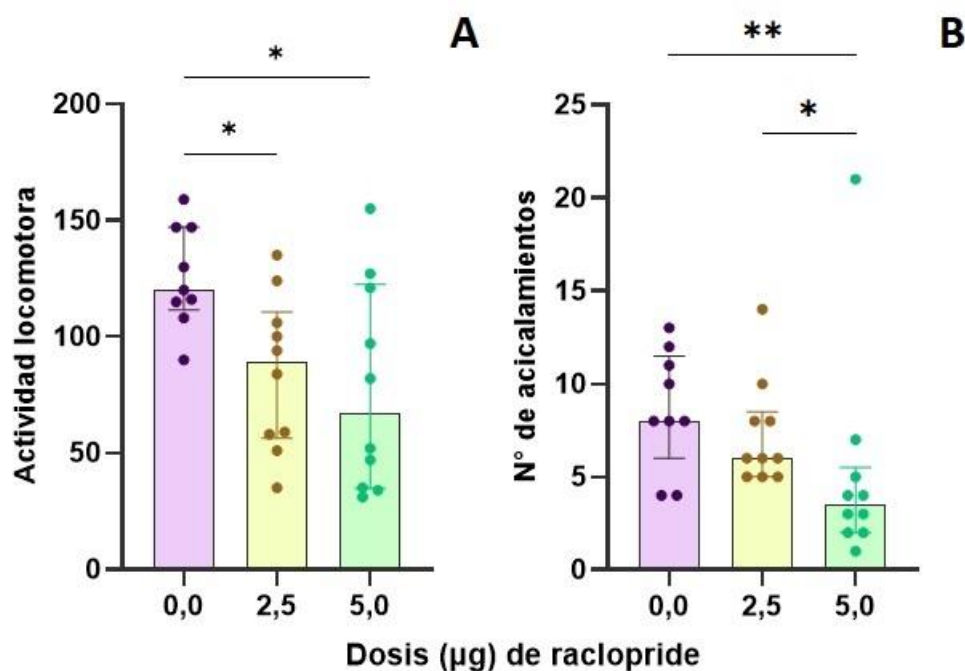


Figura 11 | Locomoción total en el modelo de preferencia (panel A), calculada como la suma del total de entradas a los brazos y a los compartimientos del modelo, y número total de veces que las hembras se acicalaron (panel B), para hembras tratadas con raclopride 0,0µg, 2,5µg y 5,0µg. Datos expresados en medianas (RIQ). Los círculos representan los valores individuales dentro de cada grupo. **p<0,01 y *p<0,05 prueba de Dunn.

El número de entradas totales a los tres compartimientos disminuyó significativamente en el grupo de hembras que recibió la dosis mayor de raclopride respecto al grupo control (raclopride 0,0µg: 41,0 (36,0-48,5) y raclopride 5,0µg: 17,0 (11,0-39,0), $Z_{(9,10)} = 2,765$, $p = 0,0057$), y presentó una tendencia a decaer en las que recibieron la dosis de 2,5µg (raclopride 2,5µg: 30,0 (20,0-37,25), raclopride 0,0µg vs raclopride 2,5µg: $Z_{(9,10)} = 1,933$, $p = 0,0532$). En base a estas diferencias, para comparar las visitas a los tres compartimientos entre los grupos de hembras utilizamos el porcentaje de entradas a cada compartimiento del número total de entradas para el cálculo.

Como se muestra en la Tabla 1, el porcentaje de entradas a los compartimientos con estímulos fue mayor respecto al de entradas al compartimiento neutro en todos los grupos de hembras (macho vs neutro: raclopride 0,0µg: $T_{(9)} = 1$, $p = 0,01086$; raclopride 2,5µg: $T_{(10)} = 0$, $p = 0,0077$; raclopride 5,0µg: $T_{(10)} = 0$, $p = 0,0051$, y hembra vs neutro: raclopride 0,0µg: $T_{(9)} = 1$, $p = 0,01729$; raclopride 2,5µg: $T_{(10)} = 0$, $p = 0,0117$; raclopride 5,0µg: $T_{(10)} = 0$, $p = 0,0077$). Se observó, además, que únicamente las hembras que recibieron la dosis de 2,5µg de raclopride tuvieron un porcentaje significativamente mayor de entradas al compartimiento del macho respecto al de la hembra (Tabla 1, raclopride 2,5µg: $T_{(10)} = 3$, $p = 0,0357$; raclopride 0,0µg: $T_{(9)} = 12$, $p = 0,2135$ y raclopride 5,0µg: $T_{(10)} = 11,5$, $p = 0,1925$).

Tabla 1. Porcentaje de entradas a los compartimientos en el modelo de preferencia

	Dosis ($\mu\text{g}/0,5\mu\text{L}/\text{lado}$)		
	0	2,5	5
Compartimiento			
Macho	41% (36%-44%)	43% (38%-46%)	40% (36%-46%)
Hembra	36% (33%-41%)	36% (30%-40%)*	36% (31%-41%)
Neutro	24% (20%-29%)**†	22% (18%-26%)**†	23% (20%-25%)**††

Datos expresados en medianas (Q1-Q3). ** $p < 0,01$ y * $p < 0,05$ vs macho, †† $p < 0,01$ y † $p < 0,05$ vs hembra, prueba pareada de Wilcoxon, dentro de un grupo.

Comportamiento sexual

Receptividad sexual de las hembras

La receptividad sexual de las hembras, evaluada a través del cociente de lordosis (LQ), no varió de acuerdo al tratamiento (Figura 12A, $H_{(3)} = 0,8474$ $p = 0,6546$) y fue máxima en los tres grupos. A su vez, no se observaron diferencias en la duración de la postura de lordosis entre los tres grupos (Figura 12B, $H_{(3)} = 1,940$, $p = 0,3791$).

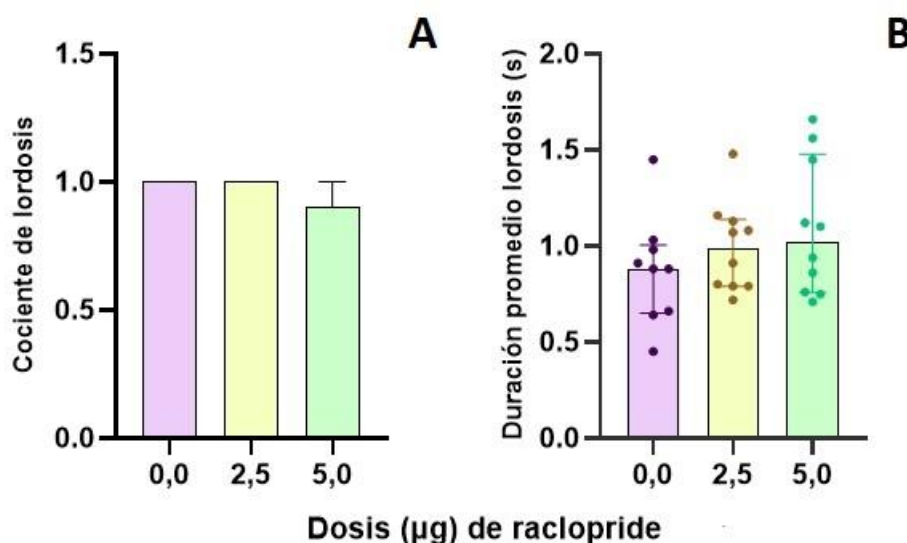


Figura 12 | Cociente de lordosis (número de lordosis/(número total de montas + eyaculaciones)) (panel A) y duración (s) promedio de las posturas de lordosis (panel B) de hembras tratadas con raclopride 0,0 μg , 2,5 μg y 5,0 μg . Datos expresados en medianas (RIQ). Los puntos representan valores individuales dentro de los grupos. $p = \text{NS}$, análisis de varianza Kruskal-Wallis.

Proceptividad sexual de las hembras

Como se observa en las figuras 13 y 14, tanto las conductas proceptivas paracopulatorias (*hops & darts* y *posturas de presentación*) como las solicitudes sexuales, no difirieron entre los grupos (*hops & darts*: $H_{(3)} = 0,2224$, $p = 0,8947$; *posturas de presentación*: $H_{(3)} = 3,092$, $p = 0,2131$ y solicitudes sexuales $H_{(3)} = 3,940$, $p = 0,1395$).

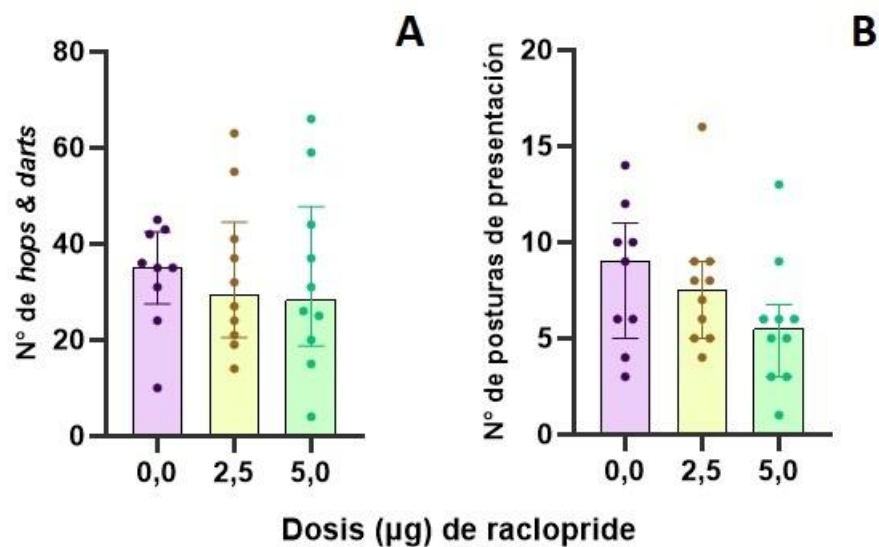


Figura 13 | Número de *hops & darts* (panel A) y de posturas de presentación (panel B) expresados por las hembras tratadas con raclopride 0,0µg, 2,5µg y 5,0µg. Datos expresados en medianas (RIQ). Los puntos representan valores individuales dentro de cada grupo. p=NS, análisis de varianza de Kruskal-Wallis.

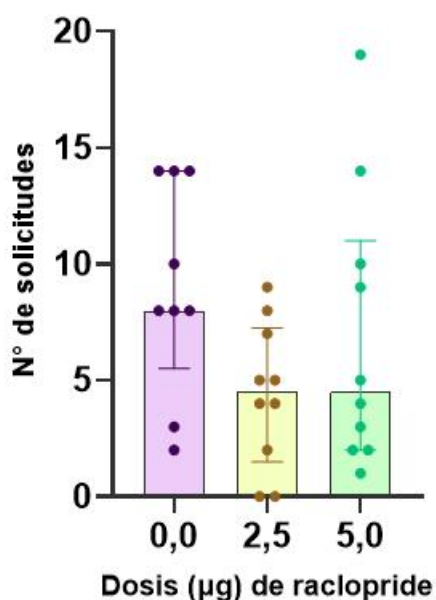


Figura 14 | Número de solicitudes sexuales realizadas por las hembras tratadas con raclopride 0,0µg, 2,5µg y 5,0µg. Datos expresados en medianas (RIQ). Los puntos representan valores individuales dentro de cada grupo. p=NS, análisis de varianza de Kruskal-Wallis.

Las latencias a desplegar conductas proceptivas (Tabla 2, $H_{(3)} = 0,8999$, $p = 0,6377$), a realizar lordosis (Tabla 2, $H_{(3)} = 0,1574$, $p = 0,9243$) o rechazos en respuesta a la monta del macho (Tabla 2, $H_{(3)} = 0,0634$, $p = 0,9688$) no se vieron afectadas según el tratamiento.

Tabla 2. Latencias (en segundos) a la expresión de conductas copulatorias por las hembras

	Dosis ($\mu\text{g}/0,5\mu\text{L}/\text{lado}$)		
	0	2,5	5
Conducta			
Proceptiva	41,60 (33,55-85,95)	56,90 (43,83-75,63)	50,70 (41,03-95,55)
Lordosis	47,80 (40,95-153,7)	68,65 (38,98-92,33)	56,35 (42,35-103,7)
Rechazo	714,0 (332,8-900,0)	770,2 (112,3-900,0)	777,4 (233,3-900,0)

Datos expresados en medianas (Q1-Q3). P=NS para las diferentes comparaciones, análisis de varianza de Kruskal Wallis.

En la figura 15A se muestra que el grupo de hembras que recibió la dosis de $5,0\mu\text{g}$ de raclopride realizó menos olfateos anogenitales del macho con respecto al grupo control ($Z_{(9,10)}=2,567$, $p=0,0103$) y a la dosis de $2,5\mu\text{g}$ ($Z_{(10,10)}=2,036$, $p=0,0417$). Por otro lado, como se muestra en la figura 15B los olfateos corporales hacia el macho mostraron una tendencia a disminuir ($H_{(3)}=5,252$, $p=0,0724$).

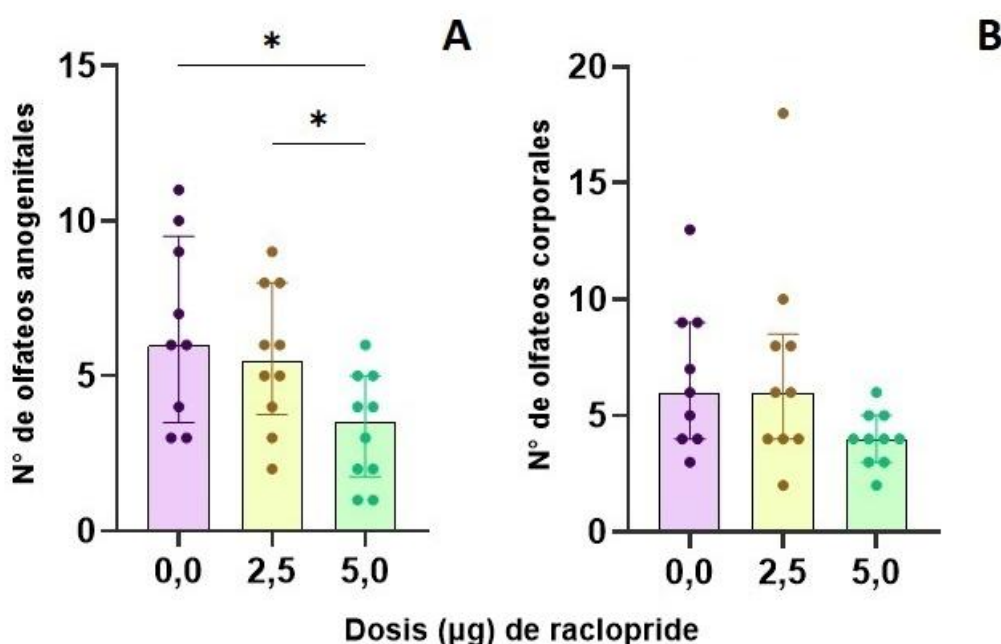


Figura 15 | Número de olfateos anogenitales (panel A) y corporales (panel B) efectuados hacia el macho por las hembras tratadas con raclopride $0,0\mu\text{g}$, $2,5\mu\text{g}$ y $5,0\mu\text{g}$. Datos expresados en medianas (RIQ). Los puntos representan los valores individuales dentro de cada grupo. * $p<0,05$, prueba de Dunn.

La locomoción en la arena sexual de dos niveles, evaluada como el número total de cambios de nivel, no difirió entre los grupos (raclopride $0,0\mu\text{g}$: 74,00 (52,50-123,5); raclopride $2,5\mu\text{g}$: 59,50 (38,00-97,50); raclopride $5,0\mu\text{g}$: 49,00 (27,50-73,75); $H_{(3)}=3,690$, $p=0,1580$).

Comportamiento sexual de los machos

Como se muestra en la Tabla 3, el número de olfateos hacia la hembra ($H_{(3)} = 2,109$, $p = 0,3483$), montas ($H_{(3)} = 1,112$, $p = 0,5735$) y eyaculaciones ($H_{(3)} = 1,741$, $p = 0,4188$) realizadas por los machos no difirió entre los grupos. De igual forma, no detectamos diferencias en las latencias a la expresión de estas conductas (monta: $H_{(3)} = 0,1374$, $p = 0,9336$; eyaculación: $H_{(3)} = 3,497$, $p = 0,1740$, Tabla 3).

Tabla 3. Comportamiento sexual del macho

	Dosis ($\mu\text{g}/0,5\mu\text{L}/\text{lado}$)		
	0	2,5	5
Latencias (s)			
Monta	47,50 (40,70-153,5)	68,40 (38,55-91,95)	55,85 (42,00-103,4)
Eyaculación	449,7 (264,8-702,4)	516,5 (347,9-696,7)	340,6 (290,4-458,4)
Número			
Monta	24,00 (17,50-28,50)	20,50 (14,75-23,25)	21,00 (18,25-26,25)
Eyaculación	1,00 (1,00-2,00)	1,00 (1,00-2,00)	2,00 (1,00-2,00)
Olfateo hacia la hembra	10,00 (4,50-18,00)	12,00 (9,25-16,50)	8,50 (5,50-12,25)

Datos expresados en medianas (Q1-Q3). $p = \text{NS}$ para las diferentes comparaciones, análisis de varianza de Kruskal-Wallis.

Prueba de locomoción

No se detectaron diferencias en el número de cruces (Figura 16A, $H_{(3)} = 1,941$, $p = 0,3790$), ni en el número de posturas erguidas (Figura 16B, $H_{(3)} = 0,2278$, $p = 0,8924$) realizadas por las hembras entre los grupos experimentales. De igual forma, la conducta de acicalamiento de las hembras no difirió de acuerdo al tratamiento (número de acicalamientos de raclopride 0,0 μg : 7,00 (5,00-17,00); raclopride 2,5 μg : 9,50 (7,75-12,25) y raclopride 5,0 μg : 10,00 (8,50-13,00); $H_{(3)} = 0,2137$, $p = 0,8987$).

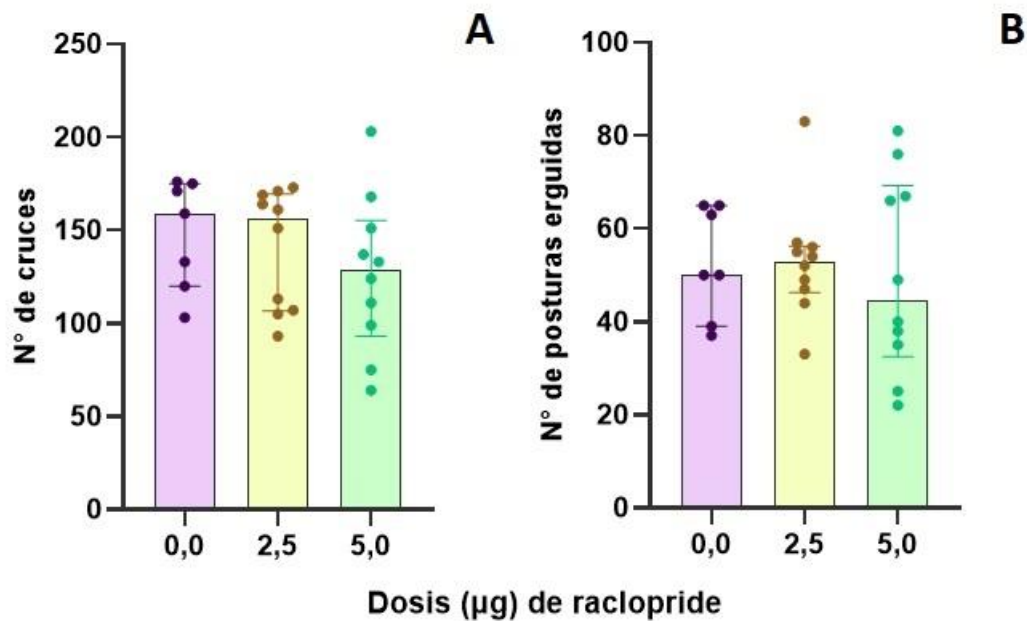


Figura 16 | Número de cruces (panel A) y de posturas erguidas (panel B) ejecutados en la prueba locomotora de hembras tratadas con raclopride 0,0µg, 2,5µg y 5,0µg. Datos expresados en medianas (RIQ). Los puntos representan valores individuales dentro de cada grupo. p=NS para los análisis de varianza de Kruskal-Wallis.

Discusión

Los principales resultados de este trabajo muestran que:

- El bloqueo selectivo de los receptores D2 en el NAcc shell no afectó la expresión de la motivación sexual en la prueba de preferencia, ni la expresión de la receptividad sexual y de las conductas proceptivas en la prueba de comportamiento sexual.
- Sin embargo, la administración de raclopride en el NAcc shell disminuyó la locomoción de las hembras en proestro tardío, afectando la dosis más alta también la conducta de acicalamiento, únicamente en la prueba de preferencia. Asimismo, la dosis más alta de este fármaco redujo la exploración olfativa de las hembras en la prueba de comportamiento sexual.

El bloqueo de los RD2 en el NAcc shell no tuvo efecto sobre la expresión de la motivación sexual de las hembras

En este trabajo hipotetizamos que el bloqueo de los RD2 en el Nacc shell de ratas hembra sexualmente activas reduce su motivación sexual. Contrariamente a lo esperado, la preferencia por el macho y el esfuerzo por acceder al mismo no se vieron afectados. Si bien en las hembras que recibieron la dosis de 5,0µg de raclopride detectamos una tendencia, y no un aumento significativo, a realizar más intentos por acceder al macho en comparación con la hembra, este grupo exhibió el mayor efecto motor -reducción de la movilidad y del acicalamiento- de la administración de este antagonista dopaminérgico. En este sentido, se observó una correlación entre la movilidad en el modelo y los intentos por acceder al macho en los grupos que mostraron disminución de la movilidad, raclopride 2,5µg y 5,0µg (salina: $r_{(9)}=0,18$, $p=0,6$, raclopride 2,5µg: $r_{(10)}=0,610$, $p=0,060$, raclopride 5,0µg: $r_{(10)}=0,700$, $p=0,025$, prueba de correlación de Spearman). Teniendo en cuenta que los intentos representan un acto motor complejo, esta correlación apoyaría la explicación de que la ausencia de significancia entre los intentos por acceder al macho y por acceder a la hembra, con la dosis de raclopride 5,0µg, están más asociadas a una reducción de la actividad motora que a una motivacional.

A partir de los resultados obtenidos en la prueba de preferencia sexual, en conjunto con la ausencia de diferencias entre los grupos en la expresión de los componentes receptivos y proceptivos del comportamiento sexual durante la interacción con un macho, concluimos que bloquear de forma selectiva los RD2 de DA en el NAcc shell no afecta la expresión de la motivación o del comportamiento sexual de ratas hembra adultas.

El contraste de nuestros resultados con los de trabajos previos que muestran que la administración sistémica del antagonista de los RD2 haloperidol reduce la expresión de solicitudes (Ismail et al., 2010; Ferreño, 2014) puede deberse principalmente a las distintas vías de administración, sistémica vs. local. En este sentido, el efecto de antagonizar los RD2 de manera sistémica sobre el comportamiento sexual probablemente sea debido a un efecto motor, dado que los fármacos administrados por esta vía no solo impactan en el sistema dopaminérgico mesocorticolímbico sino también en el nigroestriatal. Este último se encuentra comprendido por aferencias desde la sustancia nigra hacia el estriado dorsal principalmente, y ha sido implicado fuertemente en el control motor (Dunnett, 2005). Por lo tanto, la afectación de varias vías dopaminérgicas a través de la administración sistémica, tendrá un impacto motor mayor que el ocasionado por la afectación local del Nacc shell. Esto puede resultar en un enmascaramiento de la expresión de la motivación debido a una reducción observable de actos motores complejos como lo son las solicitudes que implican largos desplazamientos.

De forma interesante, nuestros resultados concuerdan con lo descrito por Numan et al. (2005) y por Numan & Stolzenberg (2009) para comportamiento maternal, que no detectan una disrupción del mismo cuando se administra el antagonista selectivo de RD2 (D2-D3-D4) eticlopride en el NAcc. Los autores sugieren, sin embargo, que dosis mayores a 3,0µg/0,5µl/lado podrían haber ocasionado efectos significativos. Mientras que el antagonizar los RD1 sí afectó el comportamiento maternal de forma dosis dependiente. Amplia bibliografía apoya el rol de los RD1 en la mediación de los efectos de estímulos recompensantes sobre el comportamiento (Self & Nestler, 1995; Ikemoto et al., 1997; Beninger, 1998; Sutton & Beninger, 1999). Teniendo en cuenta esto y, que tanto el comportamiento maternal como el sexual son comportamientos afiliativos fuertemente motivados, que comparten características y circuitos comunes (Hansen, 1994; Numan, 2006; Stolzenberg & Numan, 2011; Numan, 2012), sería interesante determinar si el bloqueo selectivo de los RD1 en el NAcc shell impacta en la expresión de la motivación y el comportamiento sexual de la rata hembra.

Si bien nuestros resultados, en relación al papel de los RD2 en el NAcc shell en la motivación sexual de las hembras, se alinean con lo observado en el caso del comportamiento maternal, discrepan aparentemente con resultados vinculados a motivación alimenticia y teoría general motivacional. En este sentido, numerosa evidencia muestra que las neuronas DAérgicas de la vía mesolímbica participan en aspectos específicos de la motivación como el esfuerzo, la activación del comportamiento, el acercamiento guiado por pistas y los procesos de aprendizaje condicionado (Berridge & Robinson, 1998; Berridge, 2006; Salamone & Correa, 2012; Peciña & Berridge, 2013; Salamone et al., 2016a,b). Nowend et al. (2001) mostraron que antagonizar los RD1 o los RD2 tanto en el NAcc core como en el shell reduce el número de veces que los animales apretan una palanca para obtener un alimento preferido (altamente reforzador) si hay otro de menor valor reforzador disponible en la caja, y no afecta la ejecución de apretar la palanca en sí, ni la cantidad de comida total que consumen. De forma similar, Baldo et al. (2002) reportaron que antagonizar los RD2 en el NAcc core o shell, si bien afecta la estructura de la alimentación, no altera la cantidad de comida total consumida. Estos estudios en conjunto indican que reducir la neurotransmisión DAérgica en el NAcc no afectaría la motivación alimenticia primaria, sino el esfuerzo que están dispuestos a hacer los individuos cuando tienen opciones. En apoyo a esta teoría otros experimentos de Salamone y colaboradores muestran que la administración sistémica de haloperidol produce un cambio en el comportamiento de los animales, pasando de consumir un alimento más gustoso (preferido) o elegir un brazo -de un laberinto en forma de T- con mayor densidad de alimento a elegir mayormente la opción menos favorita de comida o el brazo con menor densidad, únicamente cuando aumentan los costos (entendido en estos casos como trabajo físico) por acceder a dichos estímulos preferidos (alimento) (Salamone et al. 1991; 1994; 1997).

Tomando en cuenta estos trabajos, si bien nuestros resultados relativizan la participación de la familia de RD2 (bajo dosis de 2,5µg y 5,0µg del antagonista raclopride) en el NAcc shell en la regulación de la expresión de la motivación sexual, cabe la posibilidad de que tengan un rol en situaciones que fuercen a la hembra a elegir entre esta (sexual) y otra motivación que le requiera menos esfuerzo. Por ejemplo, Ferreño et al. (2018) hallaron que el antagonizar la neurotransmisión DAérgica de forma sistémica en hembras sexualmente activas y maternas (en estro posparto) produce una reducción de la preferencia por las crías ante un macho cuando son expuestas a ambos estímulos simultáneamente (es decir, estos dos “compiten”), pero no afecta la preferencia por las cría o por el macho cuando estos se enfrentan a un estímulo social. Sería interesante desafiar el comportamiento sexual con pruebas que otorguen más de una opción con valor de incentivo, en donde se mida expresamente qué tanto esfuerzo está dispuesta a hacer la hembra para acceder al estímulo que más reforzador le resulta, manipulando la neurotransmisión DAérgica en el NAcc.

La investigación social/sexual, reflejada en los olfateos hacia las hembras en la prueba de preferencia y hacia el macho durante la interacción sexual, se vió afectada por la dosis de 5,0µg de raclopride, indicando un rol de los RD2 en el NAcc shell en este comportamiento. Debido a que la exploración de estímulos mediante olfateos en ratas se puede interpretar como la transición entre las fases más apetitiva, de búsqueda, y aquellas más consumatorias de interacción con un estímulo con valor de incentivo, estos pueden reflejar momentos iniciales de interés hacia estímulos atractivos (Mahler & Berridge, 2009). Sin embargo, la clara preferencia por el macho y el mayor número de olfateos del mismo en la prueba de preferencia de las hembras tratadas con 5,0µg de raclopride, así como la expresión de conductas proceptivas durante la interacción sexual, no apoyan una reducción de la motivación sexual. Por otra parte, se le ha atribuido un rol a los RD2 en el NAcc en la investigación social y la formación de vínculos afectivos en roedores. Por ejemplo, la administración sistémica de haloperidol a ratones hembras reduce su investigación social en una prueba de libre interacción con un macho sin olfato (Redolat et al., 1991). Asimismo, se ve en ratas macho que aumentar la actividad de los RD2 con el agonista quinpirol en simultáneo a la cohabitación e interacción social con un macho marcado con un aroma, genera una preferencia (condicionada) por el olor de este macho en relación al de una hembra (Coria-Avila et al., 2018). Sin embargo, no se vio efecto de este tratamiento en hembras ovariectomizadas tratadas con estrógeno y progesterona (Triana-Del Rio et al., 2011). De modo interesante, en *prairie voles* (una especie monógama de roedores), antagonizar los RD2 con eticlopride durante la cópula evita la formación de preferencia de pareja, mientras que potenciar estos receptores con quinpirol, la facilita (aún en ausencia de cópula) (Gingrich et al., 2000). Estos trabajos sugieren que el bloqueo selectivo de los RD2 puede estar afectando la investigación social y su impacto en procesos de asociación y futuras preferencias.

Reducción de la actividad locomotora de las hembras en la prueba de preferencia por el bloqueo de los RD2 en el NAcc shell

La afectación locomotora observada en los grupos que recibieron raclopride se corrobora fuertemente con los patrones descritos por otros autores cuando se administra de forma sistemática (tanto subcutánea, s.c., como intraperitoneal, i.p.) haloperidol (Buus Lassen, 1976; Bardo et al., 1990; Emerich et al., 1991). Starr & Starr (1986) describieron que cuando ratones macho tratados con haloperidol se desplazaban por una caja de acrílico, sus movimientos corporales se diferenciaban levemente de aquellos ejecutados por los del grupo control, no obstante, estos eran intermitentes y estaban separados por largos períodos de inactividad, similar a lo que observamos en este trabajo. Dichos momentos de quiescencia han sido descritos como estados de catalepsia, y se intensifican por la administración de haloperidol tanto de forma sistémica (s.c.: Honma & Fukushima, 1976; i.p.: Campbell et al., 1980) como intracraneal en la región ventro-rostral del cuerpo estriado y en el NAcc (Ossowska et al., 1990). Ossowska et al. (1990) hallaron también que al inyectar bilateralmente otro antagonista de los RD2, sulpirida, así como el antagonista de los RD1, SCH 23390, en el NAcc, se induce catalepsia de modo dosis dependiente. Esta evidencia sobre la inducción de catalepsia por antagonistas de RD2 en el NAcc podría apoyar nuestras observaciones, aunque, al no haber llevado a cabo pruebas específicas que permitieran discriminar un estado de inmovilidad respecto a uno de catalepsia propiamente dicho, no podemos afirmarlo.

Si bien detectamos una afectación locomotora, ésta fue de menor intensidad a la esperada en función a las dosis administradas en relación a estudios previos (Nowend et al., 2001; Guadarrama-Bazante & Rodríguez-Manzo, 2018; Baldo et al., 2002). De hecho, varias de estas investigaciones muestran que la dosis de 1,0µg/lado de raclopride en el NAcc shell genera efectos motores (Nowend et al., 2001; Baldo et al., 2002) y afectaciones motivacionales (Lex & Hauber, 2008; Guadarrama-Bazante & Rodríguez-Manzo, 2018), mientras que nosotras, en estudios pilotos, no detectamos efecto de las dosis de 1,0µg/lado en el comportamiento de hembras ciclantes en proestro tardío. En dichos estudios sobre actividad motora, así como en otras investigaciones sobre el efecto de la neurotransmisión DAérgica en el NAcc en el comportamiento sexual y procesos motivacionales, se han utilizado como sujeto de estudio mayoritariamente a machos. A su vez, diversos trabajos donde administran de forma sistémica fármacos que afectan la neurotransmisión de DAérgica, reportan diferencias entre machos y hembras (Craft & Startmann, 1996; Schindler & Carmona, 2002; Walker et al., 2005; Wiley & Evans, 2008; Georgiou et al., 2017).

Un efecto diferencial de este antagonista de los RD2 de acuerdo al sexo del individuo, podría deberse a diferencias sexuales en la neurotransmisión DAérgica en el NAcc, e incluso a

diferencias asociadas a determinadas fases del ciclo estral como consecuencia del efecto de los esteroides sexuales sobre este sistema. En este sentido, si bien Andersen & Teicher (2000) no detectaron diferencias significativas en la densidad de RD2 en el estriado dorsal y en el NAcc entre ratas macho y hembra en la adultez, dichas comparaciones fueron realizadas con hembras en la fase de diestro del ciclo estral, sin estudiar las demás fases. Por otro lado, a pesar de que Di Paolo et al. (1988) no encontraron variación en la densidad de sitios de unión a RD2 en el estriado a lo largo del ciclo estral, sí observaron cambios en la afinidad de los sitios de unión, produciéndose un cambio de estado de alta afinidad a baja afinidad durante las fases de proestro (temprano y tardío), estro y metaestro, respecto a la fase de diestro. Contrariamente, sí ocurren cambios en la densidad pero no en el estado de afinidad de RD1 a lo largo del ciclo estral, encontrándose una mayor densidad durante la fase de diestro respecto al proestro tardío en el estriado (Lévesque et al., 1989). Estos mismos autores, a su vez, evidencian que ratas macho presentan mayor densidad de RD1 respecto de las hembras en el estriado, resultado que contradice lo observado por Andersen & Teicher (2000) quienes no detectaron diferencias entre machos y hembras. Esto puede deberse a que Lévesque et al. (1989) seleccionaron hembras en etapas aleatorias del ciclo para hacer las comparaciones con machos, mientras que Andersen & Teicher (2000) utilizaron únicamente hembras en la fase de diestro. Adicionalmente, Xiao & Becker (1994) observaron que los niveles de DA extracelular en el estriado dorsolateral difieren entre machos castrados y hembras ovariectomizadas, y que, a su vez, las hembras en las fases de proestro y estro presentan mayores niveles de DA extracelular con respecto a la fase de diestro y a hembras ovariectomizadas. En concordancia con los mayores niveles de DA reportados por Xiao y Becker (1994) en proestro, Becker (1999) propone que el estrógeno aumenta la liberación de DA desde la terminal presináptica a través de mecanismos directos, regulando a la baja a los autorreceptores D2, e indirectos, disminuyendo la actividad de neuronas GABAérgicas estriatales. En síntesis, diversos estudios han reportado diferencias asociadas al sexo, así como un efecto del estrógeno, sobre el sistema DAérgico en el estriado y, de mayor interés para nosotras, en el NAcc. Estos factores podrían estar mediando efectos diferenciales, menores en nuestro caso, de fármacos antagonistas DAérgicos en la actividad locomotora en proestro tardío.

La reducción del acicalamiento observada en el grupo de hembras que recibió la mayor dosis de raclopride, concuerda con estudios previos que demostraron que la administración sistémica (i.p. y s.c.) e intracerebroventricular de haloperidol disminuye tanto el tiempo total (Starr & Starr, 1986) como la frecuencia de acicalamiento, ya sea inducido por un entorno novedoso o por efecto de péptidos (ACTH, beta-endorfina, somatostatina, bombesina, TRH y sustancia P) administrados vía i.c.v. (Van Wimersma Greidanus et al., 1987; 1988a,b; Van Wimersma Greidanus & Maigret, 1988).

Sin embargo, la bibliografía es controversial cuando se comparan los efectos de distintos fármacos DAérgicos respecto al acicalamiento. Starr & Starr (1986) determinaron que la

administración del agonista DAérgico de los RD2 RU 24213 a ratones macho producía una disminución dosis dependiente del tiempo total de acicalamiento, efecto que observaron también pero menos potenciado al administrar haloperidol, un antagonista. Otros artículos relativizan el rol de los RD2 sobre la modulación del acicalamiento proponiendo a los RD1 como los principales receptores involucrados en su regulación. En este sentido, Van Wimersma Greidanus et al., (1989) observaron que la administración del agonista de los RD1 SK&F 38393 y del antagonista SCH 23390, induce y suprime el acicalamiento respectivamente, mientras que no detectaron efecto del agonista de los RD2 quinpirol y del antagonista sulpirida en este comportamiento. A su vez, raclopride *per se* no parece tener un efecto específico sobre esta conducta. Protais et al. (1994) hallaron que el raclopride era capaz de producir una reducción parcial de la conducta de acicalamiento en ratones macho que presentan acicalamiento exacerbado por la administración de SK&F 38393. Por el contrario, raclopride permitió que re-apareciera esta conducta, de modo dosis dependiente, tanto en ratones como en ratas macho que presentaban un acicalamiento reducido por la administración de apomorfina. Las discrepancias entre todos estos estudios, incluyendo el presente trabajo, podrían deberse a el fármaco DAérgico seleccionado, las dosis y las vías de administración utilizadas, al intervalo entre la administración del fármaco y el inicio de la prueba del comportamiento, así como al sexo y estado endócrino de los individuos utilizados.

Conclusiones y perspectivas

El presente trabajo muestra que la administración intracraneal de raclopride en dosis de 2,5 y 5,0µg/0,5µl/lado en el NAcc shell no afecta la expresión de la motivación y del comportamiento sexual de hembras adultas en proestro tardío, incluso a dosis capaces de reducir la actividad locomotora.

A su vez, el análisis de los resultados de nuestro trabajo en conjunto con los de estudios anteriores, demuestra la importancia de utilizar individuos de ambos sexos y tener especial consideración a las fases del ciclo estral de las hembras y su *background* hormonal característico al estudiar el efecto de fármacos que afectan el sistema de neurotransmisión DAérgico.

En base a los resultados obtenidos y a la bibliografía del área, proponemos explorar:

- 1- la implicancia de la otra familia de receptores, D1, para poder discriminar la contribución de ambas familias de receptores DAérgicos en el NAcc shell en procesos tan complejos como son los comportamientos motivados afiliativos.
- 2- el comportamiento de las hembras sexualmente activas en situaciones desafiantes que impliquen la toma de decisión basada en el esfuerzo para acceder a un macho y a otros

estímulos con valor de incentivo, así como la posible implicancia de los RD1 y RD2 en el NAcc en su respuesta.

Bibliografía

Agrati, D. (2022). Adolescence and Postpartum: Two Life Periods to Deepen Our Understanding of the Complexity of Female Rat Sexual Behavior. *Sexes*, 3(2), 282–297. doi:10.3390/sexes3020022

Agrati, D., & Uriarte, N. (2023) What can challenging reproductive contexts tell us about the rat's maternal behavior?. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 17, 1239681.

Agrati, D., Fernández-Guasti, A., & Ferreira, A. (2008). The reproductive stage and experience of sexually receptive mothers alter their preference for pups or males. *Behavioral neuroscience*, 122(5), 998.

Agrati, D., Ferreño, M., Marin, G., Uriarte, N., Zuluaga, M. J., Fernández-Guasti, A., & Ferreira, A. (2016). Previous and recent maternal experiences modulate pups' incentive value relative to a male without affecting maternal behavior in postpartum estrous rats. *Journal of Physiology-Paris*, 110(3), 140–148. doi:10.1016/j.jphysparis.2016.11.002

Andersen, S. L., & Teicher, M. H. (2000). Sex differences in dopamine receptors and their relevance to ADHD. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 24(1), 137–141. doi:10.1016/s0149-7634(99)00044-5

Armas, M., Marín, G., Uriarte, N., & Agrati, D. (2021). Increase in sexual motivation throughout adolescence in the cycling female rat. *Developmental Psychobiology*, 63(6). doi:10.1002/dev.22162

Baldo, B. A., Sadeghian, K., Basso, A. M., & Kelley, A. E. (2002). Effects of selective dopamine D1 or D2 receptor blockade within nucleus accumbens subregions on ingestive behavior and associated motor activity. *Behavioural Brain Research*, 137(1-2), 165–177. doi:10.1016/s0166-4328(02)00293-0

Bardo, M. T., Bowling, S. L., & Pierce, R. C. (1990). Changes in locomotion and dopamine neurotransmission following amphetamine, haloperidol, and exposure to novel environmental stimuli. *Psychopharmacology*, 101(3), 338–343. doi:10.1007/bf02244051

Bassareo, V., De Luca, M. A., & Di Chiara, G. (2002). Differential Expression of Motivational Stimulus Properties by Dopamine in Nucleus Accumbens Shell versus Core and Prefrontal Cortex. *The Journal of Neuroscience*, 22(11), 4709–4719. doi:10.1523/jneurosci.22-11-04709.2002

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

Becker, J. B. (1990). Estrogen rapidly potentiates amphetamine-induced striatal dopamine release and rotational behavior during microdialysis. *Neuroscience Letters*, 118(2), 169–171.

Becker, J. B. (1999). Gender Differences in Dopaminergic Function in Striatum and Nucleus Accumbens. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 64(4), 803–812. doi:10.1016/s0091-3057(99)00168-9

Becker, J. B. (2000). Oestrogen effects on dopaminergic function in striatum. *Novartis Foundation Symposium*, 230, 134–145 (discussion 145–54).

Becker, J. B., & Rudick, C. N. (1999). Rapid effects of estrogen or progesterone on the amphetamine-induced increase in striatal dopamine are enhanced by estrogen priming: A microdialysis study. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 64(1), 53–57.

Beninger, R. (1998). Dopamine D1-like Receptors and Reward-related Incentive Learning. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 22(2), 335–345. doi:10.1016/s0149-7634(97)00019-5

Bermant, G. (1961). Response Latencies of Female Rats during Sexual Intercourse. *Science*, 133(3466), 1771–1773. doi:10.1126/science.133.3466.1771

Berridge, K. C. (2006). The debate over dopamine's role in reward: the case for incentive salience. *Psychopharmacology*, 191(3), 391–431. doi:10.1007/s00213-006-0578-x

Berridge, K. C., & Kringelbach, M. L. (2011). Building a neuroscience of pleasure and well-being. *Psychology of Well-Being: Theory, Research and Practice*, 1(1), 3. doi:10.1186/2211-1522-1-3

Berridge, K. C., & Robinson, T. E. (1998). What is the role of dopamine in reward: hedonic impact, reward learning, or incentive salience? *Brain Research Reviews*, 28(3), 309–369. doi:10.1016/s0165-0173(98)00019-8

Bitran, D., Hull, E. M., Holmes, G. M., & Lookingland, K. J. (1988). Regulation of male rat copulatory behavior by preoptic incertohypothalamic dopamine neurons. *Brain Research Bulletin*, 20(3), 323–331. doi:10.1016/0361-9230(88)90062-7

Blaustein, J. D. (2009). Feminine reproductive behavior and physiology in rodents: integration of hormonal, behavioral, and environmental influences. *Hormones, brain and behavior*, 2, 67-107.

Blaustein, J. D., & Erskine, M. S. (2002). Feminine Sexual Behavior. *Hormones, Brain and Behavior*, 139–214. doi:10.1016/b978-012532104-4/50004-4

Buus Lassen, J. (1976). Inhibition and potentiation of apomorphine-induced hypermotility in rats by neuroleptics. *European Journal of Pharmacology*, 36(2), 385–393. doi:10.1016/0014-2999(76)90092-3

Cacciapaglia, F., Saddoris, M. P., Wightman, R. M., & Carelli, R. M. (2012). Differential dopamine release dynamics in the nucleus accumbens core and shell track distinct aspects of goal-directed behavior for sucrose. *Neuropharmacology*, 62(5-6), 2050–2056. doi:10.1016/j.neuropharm.2011.12.027

Campbell, A., Herschel, M., Cohen, B. M., & Baldessarini, R. J. (1980). Tissue levels of haloperidol by radioreceptor assay and behavioral effects of haloperidol in the rat. *Life Sciences*, 27(8), 633–640. doi:10.1016/0024-3205(80)90002-8

Clark, A. S., Kelton, M. C., Guarraci, F. A., & Clyons, E. Q. (2004). Hormonal status and test condition, but not sexual experience, modulate partner preference in female rats. *Hormones and Behavior*, 45(5), 314–323. doi:10.1016/j.yhbeh.2003.12.010

Coria-Avila, G. A., & Pfaus, J. G. (2007). Neuronal activation by stimuli that predict sexual reward in female rats. *Neuroscience*, 148(3), 623–632. doi:10.1016/j.neuroscience.2007.05.052

Coria-Avila, G. A., Cibrian-Llenderal, T., Díaz-Estrada, V. X., García, L. I., Toledo-Cárdenas, R., Pfaus, J. G., & Manzo, J. (2018). Brain activation associated to olfactory conditioned same-sex partner preference in male rats. *Hormones and Behavior*, 99, 50–56. doi:10.1016/j.yhbeh.2018.02.005

Coria-Avila, G. A., Herrera-Covarrubias, D., Ismail, N., & Pfaus, J. G. (2016). The role of orgasm in the development and shaping of partner preferences. *Socioaffective Neuroscience & Psychology*, 6(1), 31815. doi:10.3402/snp.v6.31815

Craft, R. M., & Stratmann, J. A. (1996). Discriminative stimulus effects of cocaine in female versus male rats. *Drug and Alcohol Dependence*, 42(1), 27–37. doi:10.1016/0376-8716(96)01259-8

De Ryck, M., Hruska, R. E., & Silbergeld, E. K. (1982). Estrogen and haloperidol-induced versus handling-related catalepsy in male rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 17(5), 1027–1035. doi:10.1016/0091-3057(82)90489-0

Delgado, H., Agrati, D., Machado, L., Reyes, L., Savio, E., Engler, H., & Ferreira, A. (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*, 112070. doi:10.1016/j.bbr.2019.112070

Di Paolo, T., Falardeau, P., & Morissette, M. (1988). Striatal D-2 dopamine agonist binding sites fluctuate during the rat estrous cycle. *Life Sciences*, 43(8), 665–672. doi:10.1016/0024-3205(88)90137-3

Dinno, A. (2015). Nonparametric Pairwise Multiple Comparisons in Independent Groups using Dunn's Test. *The Stata Journal: Promoting Communications on Statistics and Stata*, 15(1), 292–300. doi:10.1177/1536867x1501500117).

Dunnett, S. B. (2005). Chapter V Motor function(s) of the nigrostriatal dopamine system: Studies of lesions and behavior. *Dopamine*, 237–301. doi:10.1016/s0924-8196(05)80009-0

Emerich, D. F., Zanol, M. D., Norman, A. B., McConville, B. J., & Sanberg, P. R. (1991). Nicotine potentiates haloperidol-induced catalepsy and locomotor hypoactivity. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 38(4), 875–880. doi:10.1016/0091-3057(91)90256-2

Erskine, M. S. (1989). Solicitation behavior in the estrous female rat: A review. *Hormones and Behavior*, 23(4), 473–502. doi:10.1016/0018-506x(89)90037-8

Erskine, M. S., & Hanrahan, S. B. (2003). Effects of Paced Mating on c-fos Gene Expression in the Female Rat Brain. *Journal of Neuroendocrinology*, 9(12), 903–912. doi:10.1046/j.1365-2826.1997.00660.x

Everitt, B. J. (1990). Sexual motivation: A neural and behavioural analysis of the mechanisms underlying appetitive and copulatory responses of male rats. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 14(2), 217–232. doi:10.1016/s0149-7634(05)80222-2

Ferreño, M. (2014). Influencia del sistema de neurotransmisión dopaminérgico en aspectos motivacionales de los comportamientos maternal y sexual de la rata durante el estro posparto. [Tesis de Maestría, PEDECIBA]. Colibrí, Repositorio institucional de la Universidad de la República. <https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/5138/1/uy24-17150.pdf>

Ferreño, M., Uriarte, N., Zuluaga, M. J., Ferreira, A., & Agrati, D. (2018). Dopaminergic activity mediates pups' over male preference of postpartum estrous rats. *Physiology & Behavior*, 188, 134–139. doi:10.1016/j.physbeh.2018.02.002

Frye, C. A. (2007). Some rewarding effects of androgens may be mediated by actions of its 5 α -reduced metabolite 3 α -androstenediol. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 86(2), 354–367. doi:10.1016/j.pbb.2006.10.003

Frye, C. ., Rhodes, M. ., Rosellini, R., & Svare, B. (2002). The nucleus accumbens as a site of action for rewarding properties of testosterone and its 5 α -reduced metabolites. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 74(1), 119–127. doi:10.1016/s0091-3057(02)00968-1

Georgiou, P., Zanos, P., Bhat, S., Tracy, J. K., Merchanthaler, I. J., McCarthy, M. M., & Gould, T. D. (2017). Dopamine and Stress System Modulation of Sex Differences in Decision Making. *Neuropsychopharmacology*, 43(2), 313–324. doi:10.1038/npp.2017.161

Gibbons, J. D., & Chakraborti, S. (2020). *Nonparametric Statistical Inference*, 6th ed. Boca Raton, FL, USA: Chapman & Hall/CRC Press.

Gingrich, B., Liu, Y., Cascio, C., Wang, Z., & Insel, T. R. (2000). Dopamine D2 receptors in the nucleus accumbens are important for social attachment in female prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Behavioral Neuroscience*, 114(1), 173–183. doi:10.1037/0735-7044.114.1.173

Guadarrama-Bazante, I. L., & Rodríguez-Manzo, G. (2018). Nucleus accumbens dopamine increases sexual motivation in sexually satiated male rats. *Psychopharmacology*, 236(4), 1303–1312. doi:10.1007/s00213-018-5142-y

Guarraci, F. A., & Clark, A. S. (2003). Amphetamine modulation of paced mating behavior. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 76(3-4), 505–515. doi:10.1016/j.pbb.2003.09.003

Guarraci, F. A., & Frohardt, R. J. (2019). “What a Girl Wants”: What Can We Learn From Animal Models of Female Sexual Motivation? *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 13. doi:10.3389/fnbeh.2019.00216

Hansen, S. (1994). Maternal behavior of female rats with 6-OHDA lesions in the ventral striatum: Characterization of the pup retrieval deficit. *Physiology & Behavior*, 55(4), 615–620. doi:10.1016/0031-9384(94)90034-54

Hansen, S., Harthorn, C., Wallin, E., Löfberg, L., & Svensson, K. (1991). Mesotelencephalic dopamine system and reproductive behavior in the female rat: Effects of ventral tegmental 6-hydroxydopamine lesions on maternal and sexual responsiveness. *Behavioral Neuroscience*, 105(4), 588–598. doi:10.1037/0735-7044.105.4.588

Hardy, D. F., & DeBold, J. F. (1973). Effects of repeated testing on sexual behavior of the female rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 85(1), 195–202. doi:10.1037/h0034895

Heimer, L., Olmos, J. de, Alheid, G. F., & Záborszky, L. (1991). "Perestroika" in the basal forebrain: Opening the border between neurology and psychiatry. *Role of The Forebrain in Sensation and Behavior*, 109–165. doi:10.1016/s0079-6123(08)63050-2

Honma, T., & Fukushima, H. (1976). Correlation between catalepsy and dopamine decrease in the rat striatum induced by neuroleptics. *Neuropharmacology*, 15(10), 601–607. doi:10.1016/0028-3908(76)90015-0

Ikemoto, S., Glazier, B. S., Murphy, J. M., & McBride, W. J. (1997). Role of Dopamine D1 and D2 Receptors in the Nucleus Accumbens in Mediating Reward. *The Journal of Neuroscience*, 17(21), 8580–8587. doi:10.1523/jneurosci.17-21-08580.1997

Ismail, N., Laroche, C., Girard-Bériault, F., Ménard, S., Greggain-Mohr, J. A., & Pfaus, J. G. (2010). Conditioned ejaculatory preference in male rats paired with haloperidol-treated females. *Physiology & Behavior*, 100(2), 116–121. doi:10.1016/j.physbeh.2010.02.007

Kebabian, J. W., & Calne, D. B. (1979). Multiple receptors for dopamine. *Nature*, 277(5692), 93–96. doi:10.1038/277093a0

Kelley, A. E., & Berridge, K. C. (2002). The Neuroscience of Natural Rewards: Relevance to Addictive Drugs. *The Journal of Neuroscience*, 22(9), 3306–3311. doi:10.1523/jneurosci.22-09-03306.2002

Kringelbach, M. L., & Berridge, K. C. (2009). Towards a functional neuroanatomy of pleasure and happiness. *Trends in Cognitive Sciences*, 13(11), 479–487. doi:10.1016/j.tics.2009.08.006

Kuehn, R. E., & Beach, F. A. (1963). Quantitative measurement of sexual receptivity in female rats 1. *Behaviour*, 21(3-4), 282-299.

Lévesque, D., Gagnon, S., & Di Paolo, T. (1989). Striatal D1 dopamine receptor density fluctuates during the rat estrous cycle. *Neuroscience Letters*, 98(3), 345–350. doi:10.1016/0304-3940(89)90426-6

Lex, A., & Hauber, W. (2008). Dopamine D1 and D2 receptors in the nucleus accumbens core and shell mediate Pavlovian-instrumental transfer. *Learning & Memory*, 15(7), 483–491. doi:10.1101/lm.978708

Mahler, S. V., & Berridge, K. C. (2009). Which Cue to "Want?" Central Amygdala Opioid Activation Enhances and Focuses Incentive Salience on a Prepotent Reward Cue. *Journal of Neuroscience*, 29(20), 6500–6513. doi:10.1523/jneurosci.3875-08.2009

- 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*, 1–50. doi:10.1016/s0065-3454(08)60298-3
- McGinnis, M. Y., & Vakulenko, M. (2003). Characterization of 50-kHz ultrasonic vocalizations in male and female rats. *Physiology & Behavior*, 80(1), 81–88. doi:10.1016/s0031-9384(03)00227-0
- Meisel, R. L., Joppa, M. A., & Rowe, R. K. (1996). Dopamine receptor antagonists attenuate conditioned place preference following sexual behavior in female Syrian hamsters. *European Journal of Pharmacology*, 309(1), 21–24. doi:10.1016/0014-2999(96)00389-5
- Melis, M. R., & Argiolas, A. (1995). Dopamine and sexual behavior. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 19(1), 19–38. doi:10.1016/0149-7634(94)00020-2
- Mogenson, G., Jones, D., & Yim, C. (1980). From motivation to action: Functional interface between the limbic system and the motor system. *Progress in Neurobiology*, 14(2-3), 69–97. doi:10.1016/0301-0082(80)90018-0
- Mondino, A., Fernandez, S., Garcia-Carnelli, C., Castro, M. J., Umpierrez, E., Torterolo, P., Falconi, A., & Agrati, D. (2019). Vaporized Cannabis differentially modulates sexual behavior of female rats according to the dose. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 172814. doi:10.1016/j.pbb.2019.172814
- Monies, G. S., & Luque, E. H. (1988). Effects of Ovarian Steroids on Vaginal Smears in the Rat. *Cells Tissues Organs*, 133(3), 192–199. doi:10.1159/000146639
- Nowend, K. L., Arizzi, M., Carlson, B. B., & Salamone, J. D. (2001). D1 or D2 antagonism in nucleus accumbens core or dorsomedial shell suppresses lever pressing for food but leads to compensatory increases in chow consumption. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 69(3-4), 373–382. doi:10.1016/s0091-3057(01)00524-x
- Numan, M. (2006). Motivational systems and the neural circuitry of maternal behavior in the rat. *Developmental Psychobiology*, 49(1), 12–21. doi:10.1002/dev.20198
- Numan, M. (2012). Maternal Behavior: Neural Circuits, Stimulus Valence, and Motivational Processes. *Parenting*, 12(2-3), 105–114. doi:10.1080/15295192.2012.680406
- 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. doi:10.1016/j.yfrne.2008.10.002

- Numan, M., Numan, M. J., Pliakou, N., Stolzenberg, D. S., Mullins, O. J., Murphy, J. M., & Smith, C. D. (2005). The effects of D1 or D2 dopamine receptor antagonism in the medial preoptic area, ventral pallidum, or nucleus accumbens on the maternal retrieval response and other aspects of maternal behavior in rats. *Behavioral Neuroscience*, 119(6), 1588–1604. doi:10.1037/0735-7044.119.6.1588
- Nunes, E. J., Randall, P. A., Hart, E. E., Freeland, C., Yohn, S. E., Baqi, Y., ... Salamone, J. D. (2013). Effort-Related Motivational Effects of the VMAT-2 Inhibitor Tetrabenazine: Implications for Animal Models of the Motivational Symptoms of Depression. *Journal of Neuroscience*, 33(49), 19120–19130. doi:10.1523/jneurosci.2730-13.2013
- Ossowska, K., Karcz, M., Wardas, J., & Wolfarth, S. (1990). Striatal and nucleus accumbens D1/D2 dopamine receptors in neuroleptic catalepsy. *European Journal of Pharmacology*, 182(2), 327–334. doi:10.1016/0014-2999(90)90291-d
- Paredes, R. G., & Ågmo, A. (2004). Has dopamine a physiological role in the control of sexual behavior? *Progress in Neurobiology*, 73(3), 179–225. doi:10.1016/j.pneurobio.2004.05.001
- Paredes, R. G., & Vazquez, B. (1999). What do female rats like about sex? Paced mating. *Behavioural Brain Research*, 105(1), 117–127. doi:10.1016/s0166-4328(99)00087-x
- Peciña, S., & Berridge, K. C. (2013). Dopamine or opioid stimulation of nucleus accumbens similarly amplify cue-triggered “wanting” for reward: entire core and medial shell mapped as substrates for PIT enhancement. *European Journal of Neuroscience*, 37(9), 1529–1540. doi:10.1111/ejn.12174
- Pfaus, J. G. (2009). REVIEWS: Pathways of Sexual Desire. *The Journal of Sexual Medicine*, 6(6), 1506–1533. doi:10.1111/j.1743-6109.2009.01309.x
- Pfaus, J. G., Damsma, G., Wenkstern, D., & Fibiger, H. C. (1995). Sexual activity increases dopamine transmission in the nucleus accumbens and striatum of female rats. *Brain research*, 693(1-2), 21-30. doi:10.1016/0006-8993(95)00679-k
- Pfaus, J. G., Jones, S. L., Flanagan-Cato, L. M., & Blaustein, J. D. (2015). Female sexual behavior. *Knobil and Neill’s physiology of reproduction*, 2, 2287-2370.
- Pfaus, J. G., Smith, W. J., & Coopersmith, C. B. (1999). Appetitive and Consummatory Sexual Behaviors of Female Rats in Bilevel Chambers. *Hormones and Behavior*, 35(3), 224–240. doi:10.1006/hbeh.1999.1516
- Protais, P., Chagraoui, A., Arbaoui, J., & Mocaër, E. (1994). Dopamine receptor antagonist properties of S 14506, 8-OH-DPAT, raclopride and clozapine in rodents. *European Journal of Pharmacology*, 271(1), 167–177. doi:10.1016/0014-2999(94)90277-1

- Quinlan, M. G., Almey, A., Caissie, M., LaChappelle, I., Radiotis, G., & Brake, W. G. (2013). Estradiol and striatal dopamine receptor antagonism influence memory system bias in the female rat. *Neurobiology of Learning and Memory*, 106, 221–229. doi:10.1016/j.nlm.2013.08.018
- Redolat, R., Miñarro, J., Simón, V. M., & Brain, P. F. (1991). Influences of haloperidol and sulpiride on social behavior of female mice in interactions with anosmic males. *Psicothema*, 3(1), 79-85.
- Rivas, F. J., & Mir, D. (1990). Effects of nucleus accumbens lesion on female rat sexual receptivity and proceptivity in a partner preference paradigm. *Behavioural Brain Research*, 41(3), 239–249. doi:10.1016/0166-4328(90)90111-q
- Rivas, F. J., & Mir, D. (1991). Accumbens lesion in female rats increases mount rejection without modifying lordosis. *Revista Espanola de Fisiologia*, 47(1), 1-6.
- Salamone, J. D., Arizzi, M., Sandoval, M., Cervone, K., & Aberman, J. (2002). Dopamine antagonists alter response allocation but do not suppress appetite for food in rats: contrast between the effects of SKF 83566, raclopride, and fenfluramine on a concurrent choice task. *Psychopharmacology*, 160(4), 371–380. doi:10.1007/s00213-001-0994-x
- Salamone, J. D., & Correa, M. (2012). The Mysterious Motivational Functions of Mesolimbic Dopamine. *Neuron*, 76(3), 470–485. doi:10.1016/j.neuron.2012.10.021
- Salamone, J. D., Correa, M., Farrar, A. M., Nunes, E. J., & Pardo, M. (2009). Dopamine, behavioral economics, and effort. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 3, 764. doi:10.3389/neuro.08.013.2009
- Salamone, J. D., Correa, M., Yang, J.-H., Rotolo, R., & Presby, R. (2018). Dopamine, Effort-Based Choice, and Behavioral Economics: Basic and Translational Research. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 12. doi:10.3389/fnbeh.2018.00052
- Salamone, J. D., Correa, M., Yohn, S., Lopez Cruz, L., San Miguel, N., & Alatorre, L. (2016a). The pharmacology of effort-related choice behavior: Dopamine, depression, and individual differences. *Behavioural Processes*, 127, 3–17. doi:10.1016/j.beproc.2016.02.008
- Salamone, J. D., Cousins, M., & Bucher, S. (1994). Anhedonia or anergia? Effects of haloperidol and nucleus accumbens dopamine depletion on instrumental response selection in a T-maze cost/benefit procedure. *Behavioural Brain Research*, 65(2), 221-229. doi:10.1016/0166-4328(94)90108-2
- Salamone, J. D., Cousins, M., & Snyder, B. (1997). Behavioral functions of nucleus accumbens dopamine: Empirical and conceptual problems with the anhedonia hypothesis. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 21(3), 341–359. doi:10.1016/s0149-7634(96)00017-6

Salamone, J. D., Steinpreis, R., McCullough, L., Smith, P., Grebel, D., & Mahan, K. (1991). Haloperidol and nucleus accumbens dopamine depletion suppress lever pressing for food but increase free food consumption in a novel food choice procedure. *Psychopharmacology*, 104(4), 515–521. doi:10.1007/bf02245659

Salamone, J. D., Yohn, S. E., López-Cruz, L., San Miguel, N., & Correa, M. (2016b). Activational and effort-related aspects of motivation: neural mechanisms and implications for psychopathology. *Brain*, 139(5), 1325–1347. doi:10.1093/brain/aww050

Sánchez Montoya, E. L., Hernández, L., Barreto-Estrada, J. L., Ortiz, J. G., & Jorge, J. C. (2010). The Testosterone Metabolite 3 α -Diol Enhances Female Rat Sexual Motivation When Infused in the Nucleus Accumbens Shell. *The Journal of Sexual Medicine*, 7(11), 3598–3609. doi:10.1111/j.1743-6109.2010.01937.x

Schindler, C. W., & Carmona, G. N. (2002). Effects of dopamine agonists and antagonists on locomotor activity in male and female rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 72(4), 857–863. doi:10.1016/s0091-3057(02)00770-0

Schmidt, H. D., & Pierce, R. C. (2006). Cooperative activation of D1-like and D2-like dopamine receptors in the nucleus accumbens shell is required for the reinstatement of cocaine-seeking behavior in the rat. *Neuroscience*, 142(2), 451–461. doi:10.1016/j.neuroscience.2006.06.004

Schmidt, H. D., Anderson, S. M., & Pierce, R. C. (2006). Stimulation of D1-like or D2 dopamine receptors in the shell, but not the core, of the nucleus accumbens reinstates cocaine-seeking behaviour in the rat. *European Journal of Neuroscience*, 23(1), 219–228. doi:10.1111/j.1460-9568.2005.04524.x

Self, D. W., & Nestler, E. J. (1995). Molecular Mechanisms of Drug Reinforcement and Addiction. *Annual Review of Neuroscience*, 18(1), 463–495. doi:10.1146/annurev.ne.18.030195

Snoeren, E. M. S., Veening, J. G., Olivier, B., & Oosting, R. S. (2014). Serotonin 1A receptors and sexual behavior in male rats: A review. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 121, 102–114. doi:10.1016/j.pbb.2013.11.007

Starr, B. S., & Starr, M. S. (1986). Differential effects of dopamine D1 and D2 agonists and antagonists on velocity of movement, rearing and grooming in the mouse. *Neuropharmacology*, 25(5), 455–463. doi:10.1016/0028-3908(86)90168-1

Stolzenberg, D. S., & Numan, M. (2011). Hypothalamic interaction with the mesolimbic DA system in the control of the maternal and sexual behaviors in rats. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 35(3), 826–847. doi:10.1016/j.neubiorev.2010.10.003

Sutton, M. A., & Beninger, R. J. (1999). Psychopharmacology of conditioned reward: evidence for a rewarding signal at D₁-like dopamine receptors. *Psychopharmacology*, 144(2), 95–110. doi:10.1007/s002130050982

Triana-Del Rio, R., Montero-Domínguez, F., Cibrian-Llenderal, T., Tecamachaltzi-Silvaran, M. B., Garcia, L. I., Manzo, J., ... Coria-Avila, G. A. (2011). Same-sex cohabitation under the effects of quinpirole induces a conditioned socio-sexual partner preference in males, but not in female rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 99(4), 604–613. doi:10.1016/j.pbb.2011.06.006

Van Wimersma Greidanus, Tj. B., Maigret, C., & Krechting, B. (1987). Excessive grooming induced by somatostatin or its analog SMS 201-995. *European Journal of Pharmacology*, 144(3), 277–285. doi:10.1016/0014-2999(87)90380-3

Van Wimersma Greidanus, Tj. B., & Maigret, C. (1988). Grooming behavior induced by substance P. *European Journal of Pharmacology*, 154(2), 217–220. doi:10.1016/0014-2999(88)90102-1

Van Wimersma Greidanus, Tj. B., Maigret, C., Rinkel, G. J. E., Metzger, P., Panis, M., Van Zinnicq Bergmann, F. E. M., Poelman, P. J. I. M., & Colbern, D. L. (1988a). Some characteristics of TRH-induced grooming behavior in rats. *Peptides*, 9(2), 283–288. doi:10.1016/0196-9781(88)90261-6

Van Wimersma Greidanus, Tj. B., Van de Brug, F., De Bruijckere, L. M., Pabst, P. H. M. A., Ruesink, R. W., Hulshof, R. L. E., Van Berckel, B. N. M., Arissen, S. M., De Koning E. J. P., & Donker, D.K. (1988b). Comparison of bombesin-, ACTH-, and beta-endorphin-induced grooming. Antagonism by haloperidol, naloxone, and neurotensin. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 525(1 Neural Mechan), 219–227. doi:10.1111/j.1749-6632.1988.tb38607.x

Van Wimersma Greidanus, Tj. B., Maigret, C., Torn, M., Ronner, E., Van der Kracht, S., Van der Wee, N. J. A., & Versteeg, D. H. G. (1989). Dopamine D-1 and D-2 receptor agonists and antagonists and neuropeptide-induced excessive grooming. *European Journal of Pharmacology*, 173(2-3), 227–231. doi:10.1016/0014-2999(89)90527-x

Ventura-Aquino, E., Portillo, W., & Paredes, R. G. (2018). Sexual Motivation: A Comparative Approach in Vertebrate Species. *Current Sexual Health Reports*, 10(3), 114–123. doi:10.1007/s11930-018-0156-3

Walker, Q. D., Ray, R., & Kuhn, C. M. (2005). Sex Differences in Neurochemical Effects of Dopaminergic Drugs in Rat Striatum. *Neuropsychopharmacology*, 31(6), 1193–1202. doi:10.1038/sj.npp.1300915

Wiley, J., & Evans, R. (2008). Evaluation of age and sex differences in locomotion and catalepsy during repeated administration of haloperidol and clozapine in adolescent and adult rats. *Pharmacological Research*, 58(3-4), 240–246. doi:10.1016/j.phrs.2008.08.002

Xiao, L., & Becker, J. B. (1994). Quantitative microdialysis determination of extracellular striatal dopamine concentration in male and female rats: effects of estrous cycle and gonadectomy. *Neuroscience Letters*, 180(2), 155–158. doi:10.1016/0304-3940(94)90510-x