

2016

# Motivación y comportamiento sexual durante la adolescencia en ratas hembras: efecto del tratamiento crónico con cocaína



**Luna Machado Vera**

**Tutora: Daniella Agrati**

**Co-tutora: Annabel Ferreira**

## Índice

Resumen .....	3
Introducción .....	4
Comportamiento sexual en la rata .....	4
Adolescencia en la rata .....	6
Planteamiento del problema e hipótesis.....	8
Objetivos.....	8
Metodología.....	8
Animales .....	8
Obtención de los grupos experimentales.....	8
Tratamiento crónico con cocaína.....	9
Prueba locomotora .....	10
Modelo de preferencia macho-hembra .....	10
Prueba de comportamiento sexual .....	11
Protocolo experimental.....	11
Análisis estadístico.....	12
Resultados.....	12
Efecto locomotor de la cocaína .....	12
Valor del incentivo del macho.....	13
Comportamiento sexual.....	15
Discusión .....	19
Bibliografía.....	25

## Resumen

El comportamiento sexual de la rata hembra es altamente motivado; dependiendo su expresión de la actividad del sistema dopaminérgico mesocorticolímbico. Debido a que durante la adolescencia este sistema se encuentra aún en desarrollo y es más sensible al efecto de drogas de abuso que en la etapa adulta, es posible suponer que tanto el comportamiento sexual de hembras adolescentes, como el efecto de fármacos que afectan al sistema dopaminérgico sobre el mismo, difieran a lo observado en hembras adultas. En base a esta hipótesis comparamos la motivación sexual -en un modelo de preferencia macho vs hembra- y el comportamiento en una arena con un macho sexualmente activo de hembras adolescentes y adultas 3-8 días luego de finalizado un tratamiento crónico con vehículo o 15, 0 mg/kg de cocaína. La clara preferencia de las hembras sexualmente activas por un macho no difirió en función de la edad. Sin embargo, durante la interacción sexual, las hembras adolescentes expresaron un patrón diferencial de conductas motivadas y exhibieron más olfateos corporales del macho en comparación a las hembras adultas. Por otro lado, si bien el tratamiento crónico con cocaína indujo sensibilización comportamental, no afectó de forma evidente ni el valor de incentivo del macho ni el comportamiento sexual de las hembras adolescentes y adultas. Estos resultados indican que durante la adolescencia el macho posee un valor de incentivo similar al observado en la etapa adulta para hembras en proestro, sin embargo la expresión de la motivación sexual durante la interacción con un macho parece integrar componentes del repertorio conductual típico de este período, sugiriendo la co-expresión de los comportamientos sexual y de juego. Estas diferencias conductuales junto con la mayor sensibilidad de las hembras adolescentes a los efectos motores de la cocaína evidencian el proceso de maduración de los sistemas neurales implicados en la regulación de comportamientos sociales.

## Introducción

### **Comportamiento sexual en la rata**

En la rata, la atracción sexual de la hembra hacia el macho ocurre en momentos específicos del ciclo reproductivo como consecuencia del efecto activacional de las hormonas ováricas. Así, las hembras ciclantes se encuentran sexualmente activas durante las fases del proestro tardío y estro temprano del ciclo estral, luego de la ocurrencia de los picos pre-ovulatorios de estrógenos y progestágenos (Beach 1976). Por lo tanto, la expresión de este comportamiento se estudia usualmente durante el proestro tardío (Pfaus et al. 2015), o en hembras ovariectomizadas tratadas con estrógeno y progesterona (Pfaus et al. 2015).

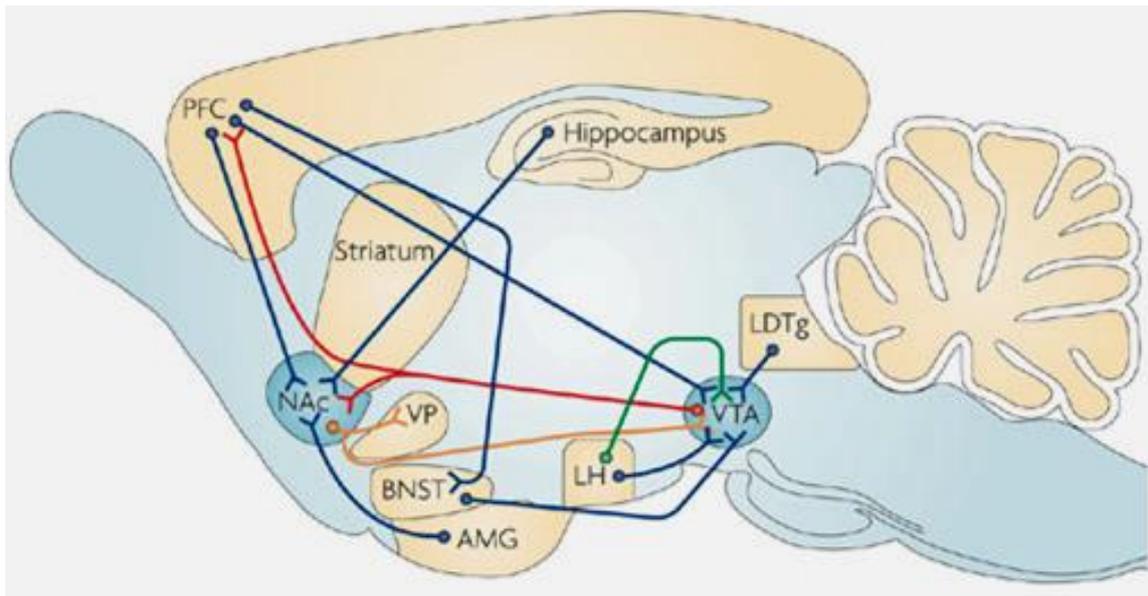
El comportamiento sexual en la rata hembra suelen dividirse en componentes receptivos y proceptivos (Beach 1976). El componente receptivo se manifiesta en la adopción de la postura de lordosis en respuesta a la monta del macho (figura 1). Ésta es una postura dorsoarqueada refleja desencadenada por la estimulación de los flancos y la región perivaginal por parte del macho durante la monta (Beach 1976). Por otra parte, la proceptividad sexual se manifiesta mediante la expresión de una serie de conductas que promueven el acercamiento y la monta por parte del macho; tales como *hop and darts* (HD: carreras cortas y rápidas y saltos frente al macho que pueden originarse de forma espontánea o en 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), y *ear wiggings* (vibraciones rápidas de las orejas) (Erskine 1989) (figura 1). A su vez, durante la interacción sexual con un macho, las hembras realizan desplazamientos largos que finalizan en un HD o *crouch* y que usualmente provocan la persecución por parte del macho (Pfaus et al. 2015). Estos desplazamientos denominados solicitudes se observan con mayor frecuencia cuando la interacción sexual ocurre en ambientes semi-naturales o complejos (Erskine 1989; McClintock 1984). En conjunto, las conductas proceptivas promueven la atracción del macho y facilitan la monta (Erskine 1989; Pfaus et al. 2015).

Se ha propuesto que el despliegue de comportamientos proceptivos reflejan el estado motivacional de la rata hembra (Pfaus, Smith, y Coopersmith 1999), ya que tales conductas son flexibles y permiten regular la proximidad al estímulo relevante, en este caso, el macho. La motivación sexual de las hembras también se evidencia en pruebas de conductas operantes, en las cuales una hembra sexualmente activa aprende a presionar una palanca para acceder a un macho, de esfuerzo, en las cuales la hembra atraviesa una barrera electrificada para acercarse al macho (McDonald y Meyerson 1973) y de preferencia, en las cuales elige a un macho sexualmente activo frente a uno castrado o a una hembra sexualmente activa (Broekman et al. 1988; de Bruijn, Broekman, y van der Schoot 1988; Agrati, Fernández-Guasti, y Ferreira 2008; Clark et al. 2004).



**Figura 1.** Interacción sexual. En esta figura se muestra en **A**) olfateo anogenital, **B**) persecución y **C**) la monta del macho, así como la adopción de una postura de presentación o *crouch* (B) y de lordosis por la hembra (C) en respuesta a la monta del macho.

El sistema dopaminérgico mesocorticolímbico, compuesto por las proyecciones dopaminérgicas desde el área tegmental ventral (VTA) hacia la corteza prefrontal (CPF) y el núcleo accumbens (NAcc) (Berridge y Robinson 1998) (figura 2), ha sido propuesto como un sistema motivacional general (Berridge y Robinson 1998), ya que el mismo está implicado en la regulación de los aspectos motivacionales de diferentes comportamientos, incluyendo el comportamiento sexual (Young, Gobrogge, y Wang 2011; Guarraci 2010). Se considera que este sistema es el responsable de la atribución del valor de incentivo a estímulos con relevancia biológica (Kelley y Berridge 2002), promoviendo conductas de búsqueda y acercamiento a los mismos (Berridge y Robinson 1998; Kelley y Berridge 2002). En este sentido, en una hembra sexualmente activa, la presencia o la interacción con un macho (Mogenson, Jones, y Yim 1980; Brom et al. 2014), de manera similar a la búsqueda y el consumo de drogas de abuso (Robinson y Berridge 2008; Young, Gobrogge, and Wang 2011), provoca la liberación de dopamina (DA) en el NAcc. Así, durante la actividad sexual (Mermelstein y Becker 1972; Pfau et al. 1995), inmediatamente antes de que la hembra reciba una intromisión (Jenkins and Becker 2003) o cuando la hembra visualiza a un macho detrás de una barrera (Pfau et al. 1995), las concentraciones de DA en el NAcc aumentan. La acción de la DA en este núcleo se considera clave para dar el paso que va de la motivación a la acción, promoviendo comportamientos de esfuerzo y búsqueda del incentivo (Berridge y Robinson 1998). Se observó que el tratamiento agudo con cocaína o crónico con anfetamina, que incrementan la liberación de DA en el sistema mesolímbico (Zakharova, Wade, y Izenwasser 2009; Catlow y Kirstein 2007), aumentan la expresión de conductas sexuales motivadas de hembras adultas ovariectomizadas tratadas con estrógeno y progesterona (Pfau et al. 2010; Guarraci y Bolton 2014).



**Figura 2.** En rojo se muestran, de forma esquemática, las proyecciones dopamiérgicas desde el área tegmental ventral (VTA) al núcleo accumbens (NAc) y la corteza prefrontal (PFC), que conforman el circuito dopamiérgico mesocorticolímbico en el cerebro de rata. Extraído de Malenka and Kauer (2007).

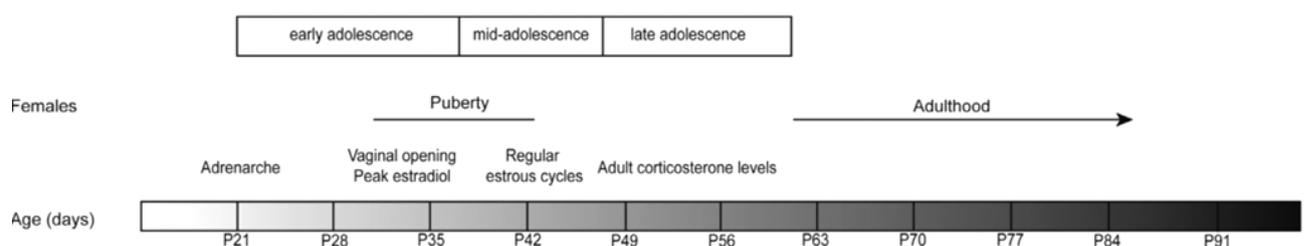
### Adolescencia en la rata

La adolescencia en mamíferos es un período de transición entre la infancia y la adultez, en el cual los individuos atraviesan por un proceso de maduración cognitiva y social resultante de la maduración del sistema nervioso central y de los cambios hormonales que ocurren durante la pubertad (entendiendo como pubertad al proceso de adquisición de actividad reproductiva) (Sisk y Foster 2004).

En la rata, la adolescencia abarca desde aproximadamente el día 35 de vida (apertura vaginal) al 60 (Holder y Blaustein 2014; Laviola et al. 2003; Tirelli, Laviola, y Adriani 2003) (figura 3). Este período se caracteriza por un aumento en la expresión de comportamientos de búsqueda y de toma de riesgos, menor inhibición conductual y por una mayor sensibilidad a los efectos de las drogas de abuso respecto a la etapa adulta, tanto en seres humanos (Gladwin et al. 2011; Spear 2011; Zakharova, Wade, y Izenwasser 2009), como en la rata (Ernst, Romeo, and Andersen 2009; Crews, He, y Hodge 2007; Badanich, Adler, y Kirstein 2006). En este sentido, se ha observado en una prueba de condicionamiento de lugar, que las ratas adolescentes expresan una preferencia más pronunciada por un lugar asociado a la interacción social que las ratas adultas (Douglas, Varlinskaya, y Spear 2004). Utilizando este mismo paradigma, Zakharova et al. (2009) encontraron que el valor de recompensa de drogas psicoestimulantes (metanfetamina y cocaína) es mayor en ratas adolescentes que en adultas.

Estas diferencias entre individuos adolescentes y adultos se han atribuido, en parte, a que los circuitos neurales que controlan los procesos motivacionales no están completamente desarrollados en la adolescencia (Gladwin et al. 2011; Forbes y Dahl 2010; Chadwick, Saylor, y López 2011). Uno de estos circuitos es el sistema dopaminérgico mesocorticolímbico, que como se mencionó anteriormente, se considera responsable de la atribución del valor de incentivo a estímulos con relevancia biológica (Berridge y Robinson 1998; Kelley y Berridge 2002). En este sentido, durante la adolescencia se ha reportado un aumento de la concentración de DA y de la densidad de fibras que proyectan hacia la CPF (Benes, Taylor, y Cunningham 2000), un aumento de las proyecciones de la CPF hacia el NAcc (Brenhouse, Sonntag, y Andersen 2008), mayor concentración de receptores dopaminérgicos en el cuerpo estriado (Teicher, Andersen, y Hostetter 1995) y mayor sensibilidad a los efectos psicoestimulantes de fármacos dopaminérgicos (Badanich, Adler, y Kirstein 2006).

Como consecuencia de la maduración del eje hipotálamo-hipofisario-ovárico, el perfil comportamental de las ratas adolescentes se caracteriza a su vez por la expresión de comportamiento sexual. Así, luego de la apertura vaginal (día 35-37 de vida), las hembras comienzan a exhibir ciclo estrales y comportamiento sexual en la fase de proestro de este ciclo (Hashizume y Ohashi 1984). Los ciclos ováricos son inicialmente irregulares y se regularizan durante el transcurso de la adolescencia, sin embargo se desconoce, si el comportamiento sexual de las hembras en este período -en el cuál los circuitos neurales implicados en su control están aún madurando- difiere del expresado por hembras adultas.



**Figura 3.** Edad y eventos del desarrollo puberal y adolescente en hembras de roedores. Extraído de Holder y Blaustein (2014).

## **Planteamiento del problema e hipótesis**

Las hembras comienzan a expresar comportamiento sexual durante la adolescencia (Hashizume y Ohashi 1984), sin embargo desconocemos si la expresión de este comportamiento fuertemente motivado difiere a la observada durante la etapa adulta.

Sobre la base de que durante la adolescencia aumenta la expresión de comportamientos motivados en relación a la etapa adulta (Zakharova et al. 2009; Gladwin et al. 2011; Spear 2011) y de que el sistema mesocorticolímbico es más sensible al efecto de psicoestimulantes (Badanich, Adler, y Kirstein 2006), proponemos la siguiente hipótesis:

Las hembras adolescentes exhiben una mayor motivación sexual y son más susceptibles a los efectos facilitadores de la cocaína sobre dicha motivación que las adultas.

## **Objetivos**

- Comparar el valor de incentivo del macho para las hembras y su comportamiento sexual durante la adolescencia y la etapa adulta.
- Comparar el efecto de un tratamiento crónico con cocaína sobre el valor de incentivo del macho y el comportamiento sexual de hembras adolescentes y adultas.

## **Metodología**

### **Animales**

Se utilizaron ratas hembras de la cepa Wistar (*Rattus norvegicus*) de aproximadamente 37 (adolescentes) y 90 (adultas) días de edad. Las ratas se alojaron en un cuarto con un ciclo de luz-oscuridad 12/12 h (luz encendidas 0500 hs) y temperatura controlada ( $22\pm 1$  °C) en el Laboratorio de Experimentación Animal de la Facultad de Ciencias. El protocolo experimental realizado fue aprobado por el CEUA de la Facultad de Ciencias (240011-002308-14) en concordancia con la Ley Nacional de Experimentación Animal.

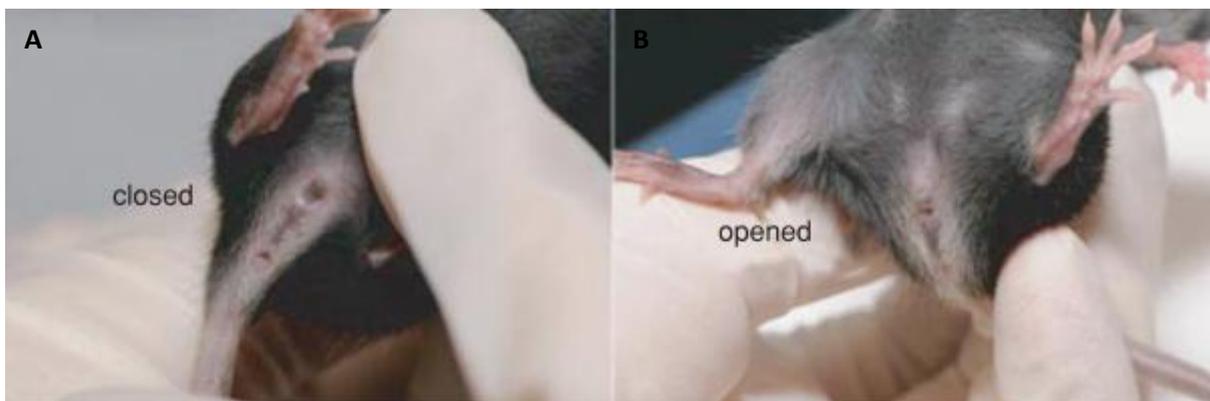
### **Obtención de los grupos experimentales**

Debido a la influencia del ciclo ovárico en la actividad del sistema de neurotransmisión dopaminérgico (Xiao y Becker 1994; Bless et al. 1997), las hembras adolescentes comenzaron el tratamiento con vehículo o cocaína el día de la apertura vaginal (que generalmente coincide con la fase de proestro del ciclo estral (Hashizume y Ohashi 1984) y las hembras adultas en la fase de proestro de su ciclo estral, con el fin de homogenizar las condiciones endócrinas dentro y entre los grupos. Se determinó el día de apertura vaginal de las hembras adolescentes de

acuerdo Caligioni (2009), y se siguió el ciclo estral de las hembras (adolescentes luego de la apertura vaginal y adultas) a través de frotis vaginales diarios (Monies y Luque 1988).

- **Determinación del día de apertura vaginal**

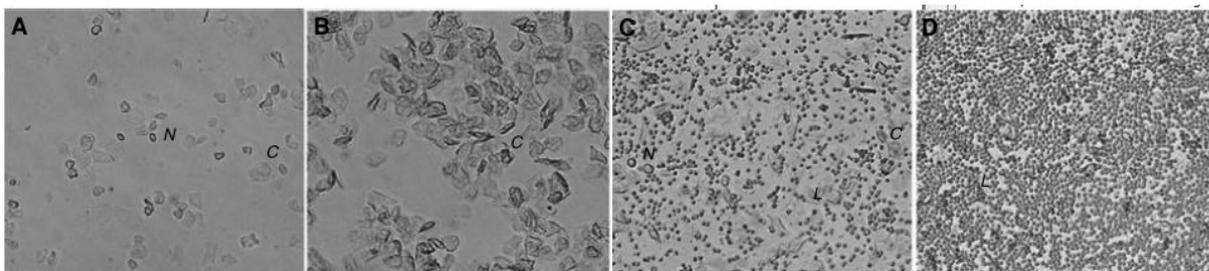
Diariamente desde el día 33 de vida, se verificó la apertura vaginal de las hembras adolescentes a través de inspección externa (figura 4).



**Figura 4.** Apertura vaginal en las hembras. En **A)** se observa la cavidad vaginal cerrada, mientras que en **B)** se muestra la cavidad vaginal abierta. Extraído de Caligioni (2009).

- **Determinación de la fase del ciclo estral**

Se determinó la fase del ciclo estral en la cual se encontraban las hembras adultas y adolescentes (luego de la apertura vaginal) a través del análisis del tipo de células presentes y su abundancia en un exudado vaginal realizado con solución salina (figura 5). Este protocolo se realiza una vez al día con el fin de minimizar el estrés y otros potenciales efectos de la manipulación.



**Figura 5.** Micrografía de exudados vaginales, sin tinción, utilizados para identificar la fase del ciclo estral en la que se encuentran las hembras. Se observa en **A)** fase de proestro, con predominio de células nucleadas, **B)** estro, donde predominan células cornificadas sin núcleo, **C)** metaestro, se presentan tres tipos celulares: leucocitos y células epiteliales cornificadas y nucleadas y **D)** diestro, donde predominan leucocitos. Extraído de Caligioni (2009).

### **Tratamiento crónico con cocaína**

Se administró un tratamiento crónico con clorhidrato de cocaína (0,0 y 15,0 mg/kg, i.p.) durante 10 días a hembras adolescentes y adultas de acuerdo a Nephew y Febo (2010) y Nephew et al. (2012) y las hembras fueron probadas en el primer proestro tardío detectado entre los días 3 y 8 días pos-tratamiento. Se decidió realizar las

pruebas conductuales en estos límites temporales tomando en cuenta el compromiso entre probar a las hembras adolescentes dentro de la adolescencia tardía (entre los días 45-55 de vida) y ser capaces de detectar posibles efectos del tratamiento. En este sentido, Nephew et al. (2012) reportan efectos facilitadores de este tratamiento sobre la sensibilización maternal 7 días luego de finalizado el tratamiento.

Luego de las pruebas de comportamiento sexual, las hembras tratadas fueron preñadas y probadas en pruebas de comportamiento maternal y metabolización cerebral durante la lactancia (Tesis de Maestría PEDECIBA Biología del Lic. Hernán Delgado).

### **Prueba locomotora** (de acuerdo a Ferreira et al. (2000))

Con el fin de evaluar el efecto locomotor del tratamiento con cocaína en las hembras adolescentes y adultas, se registró el número de cruces realizados por los animales en una prueba locomotora de 10 min, en un caja de 53 x 36 x 25 cm, cuyo piso se encuentra dividido en cuadrantes de 10 cm, a los 30 minutos luego de la inyección.

### **Modelo de preferencia macho-hembra** (de acuerdo a Agrati et al. (2008))

Este modelo se empleó para determinar el valor de incentivo de un macho relativo a una hembra para ratas adultas y adolescentes en proestro tardío. El mismo consiste en un laberinto transparente de acrílico en forma de Y con tres cámaras de igual tamaño (25 x 30 x 18 cm) al final de cada brazo (10 x 60 x 10 cm). Dos de las cámaras contienen los estímulos, uno una hembra en proestro tardío (sexualmente receptiva) y el otro un macho sexualmente activo, mientras que la tercera cámara permanece vacía (cámara neutra) (figura 6). A su vez, cada cámara contiene una división de acrílico transparente perforada, que permite ver, oler y oír a los estímulos, sin posibilitar contacto físico con ellos. La localización de los estímulos es contrabalanceada entre hembras de cada grupo.

Se colocó a cada hembra en el centro del modelo de preferencia y se le permitió explorar el modelo vacío durante 15 min. Inmediatamente después, los estímulos, hembra en proestro tardío y macho, se colocaron en las cámaras y, durante 20 min, se registró el tiempo de permanencia en cada cámara y la exploración de los estímulos.



**Figura 6.** Modelo de preferencia.

### **Prueba de comportamiento sexual** (de acuerdo a Uriarte et al. (2007))

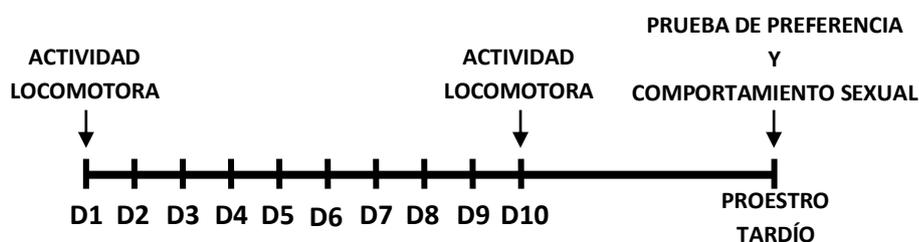
Se introduce a la hembra en una arena sexual de acrílico cilíndrica de 50 cm de diámetro. Luego de un período de habituación de cinco minutos, se introduce un macho sexualmente activo y se registra durante 15 min el número de conductas proceptivas (HD, crouchs, solcitudes), lordosis, y olfateos anogenitales y corporales, así como la latencia a la primera conducta proceptiva y primer lordosis. A su vez, se registra el número de montas, intromisiones y eyaculaciones realizadas por el macho, así como la latencia a la primera monta, intromisión y eyaculación (figura 1). El cociente de lordosis, índice de receptividad sexual de la hembra, se calcula como el cociente entre el número de lordosis y el número total de montas, intromisiones y eyaculaciones. La proceptividad de las hembras se evaluó como el número de HD y posturas de crouch (conductas proceptivas de corto desplazamiento) y el número de solcitudes (desplazamientos proceptivos largos) sobre la latencia de eyaculación del macho. Estos índices se calculan con el fin de normalizar el comportamiento proceptivo de las hembras en función de la duración de la interacción sexual (Pfaus, Smith, y Coopersmith 1999; Pfaus et al. 2010).

### **Protocolo experimental**

Con el fin de comparar la expresión de la motivación y el comportamiento sexual, así como el efecto de un tratamiento crónico con cocaína entre ratas adolescentes y adultas, ambos grupos de animales se sometieron a un tratamiento crónico i.p. con vehículo (solución salina) o cocaína (15,0 mg/kg) durante 10 días. Tanto en el primer día de inyección (día 1) como en el último (día 10) se realizó una prueba de actividad locomotora, 30 minutos después de la inyección, con el fin de evaluar si el tratamiento indujo sensibilización comportamental (Nephew et al., 2010; 2012).

Al finalizar el tratamiento, los animales pasaron por período de abstinencia de tres a ocho días, luego de los cuales, durante el primer proestro tardío detectado en este período, se evaluó el valor de incentivo del macho para las hembras en la prueba de preferencia sexual, así como su comportamiento durante la interacción sexual en una prueba de comportamiento sexual, realizada inmediatamente después de la prueba de preferencia (figura 7).

En base a estudios previos, el tratamiento con cocaína se realizó durante la fase de luz (1300 a 1600 hs) (Febo y Ferris 2007), mientras que las pruebas de comportamiento sexual se realizaron entre dos y cuatro horas luego de apagada la luz (1900 a 2100 hs) (Hardy y DeBold 1995). Para las pruebas con hembras adolescentes se utilizaron machos de menor edad, y por ende, tamaño corporal que para las pruebas realizadas con hembras adultas, de forma de reducir el posible efecto de la diferencia de tamaño entre los individuos durante la interacción.



**Figura 7.** Protocolo experimental.

### **Análisis estadístico**

Debido a que la mayoría de los datos comportamentales no se ajustan a una distribución normal, se expresan como medianas (rango semi-intercuartiles, RSIQ) y se analizaron mediante pruebas no-paramétricas (Siegel 1956). Las comparaciones dentro de cada grupo, para cada prueba, se realizaron mediante el análisis de Friedman seguido de la prueba pareada de Wilcoxon, mientras que las comparaciones entre grupos se realizaron mediante la prueba de U de Mann-Whitney.

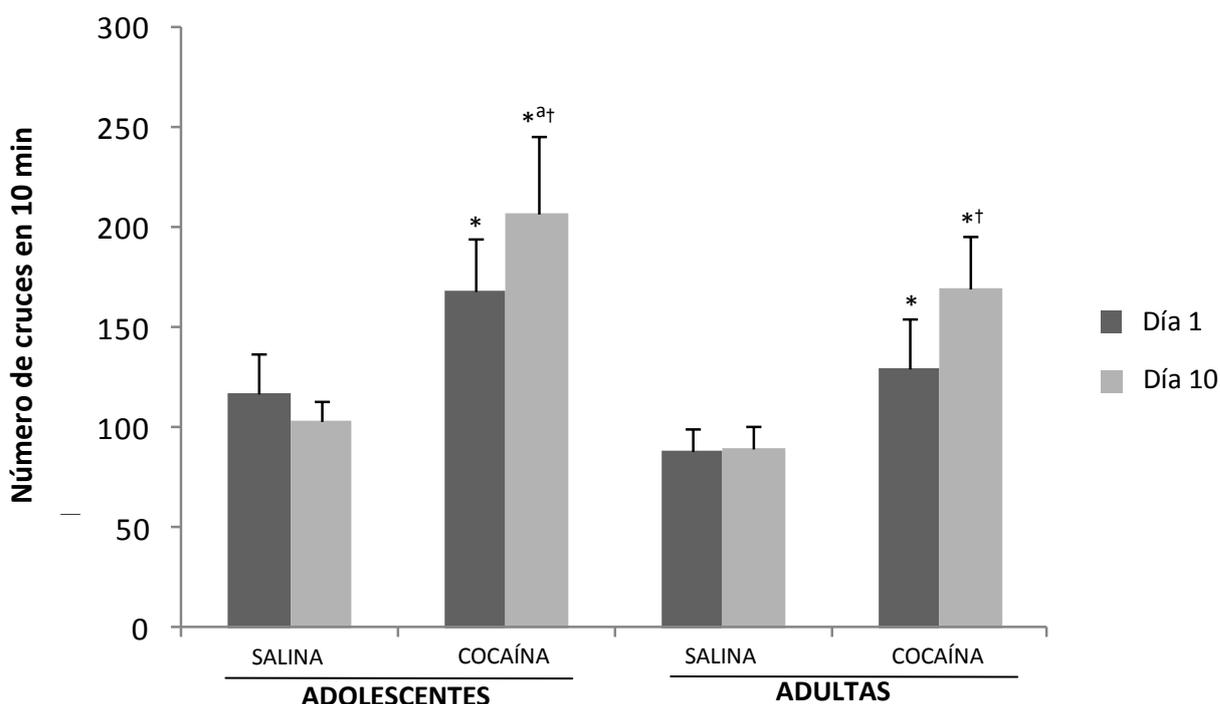
### **Resultados**

#### **Efecto locomotor de la cocaína**

La administración de cocaína aumentó la actividad locomotora de adolescentes y adultas tanto en el día 1 (figura 14, adolescentes:  $U(10,12)=21,0$ ,  $p=0,004$  y adultas:  $U(10,12)=33,5$ ,  $p=0,01$ ) como en el día 10 (adolescentes(10,12):  $U=3,5$ ,  $p=0,00001$  y

adultas:  $U(10,12)=12,0$ ,  $p=0.0001$ ) de tratamiento en comparación a sus respectivos grupo control. El efecto locomotor de la cocaína en el día 1 fue mayor en hembras adolescentes que en adultas (figura 14,  $U(12,12)=35,6$ ,  $p=0,03$ ).

A su vez, el incremento de la locomoción inducido por la administración de cocaína fue mayor en el día 10 que en el día 1 en ambos grupos (figura 14, adolescentes:  $T(12)=10,0$ ,  $p=0,02$  y adultas:  $T(12)=1,0$ ,  $p=0,002$ ), indicando que este tratamiento crónico indujo sensibilización motora en hembras de ambas edades.



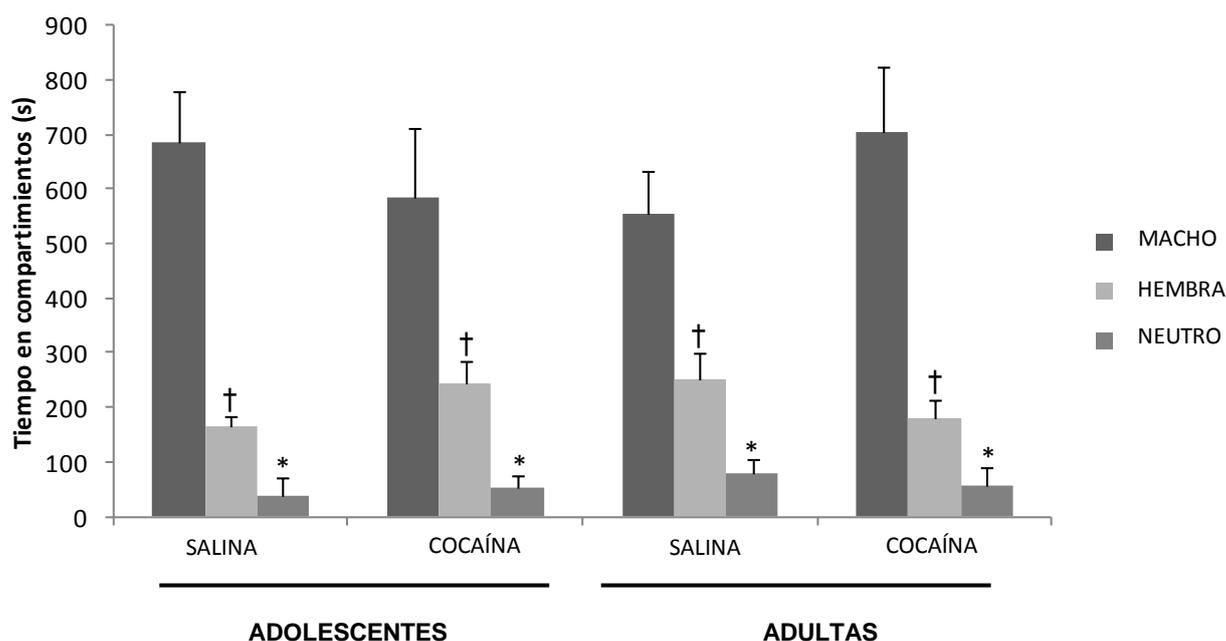
**Figura 14.** Actividad locomotora (número de cruces en 10 minutos) en el día 1 y día 10 de tratamiento, 30 minutos luego de la administración de solución salina o cocaína. Datos expresados en medianas (RSIQ), †  $p < 0,05$  día 1 vs día 10, prueba pareada de Wilcoxon; \*  $p < 0,05$  salina vs cocaína; a  $p < 0,05$  adultas vs, prueba U de Mann Whitney.

### Valor del incentivo del macho

Todas las hembras sexualmente activas permanecieron más tiempo en el compartimiento del macho que en el de la hembra (figura 8, adolescentes salina:  $T(9)=0,0$ ,  $p=0,0076$  y cocaína:  $T(10)=0,0$ ,  $p=0,0050$ ; y adultas salina:  $T(10)=2,0$ ,  $p=0,0058$  y cocaína:  $T(10)=0,0$ ,  $p=0,0076$ ). A su vez, el tiempo de permanencia en los compartimientos con ambos estímulos fue mayor al tiempo en el compartimiento neutro (figura 8, macho vs. neutro: adolescentes salina:  $T(9)=0,0$ ,  $p=0,0076$  y cocaína:  $T(10)=0,0$ ,  $p=0,0050$ ; adultas salina:  $T(10)=0,0$ ,  $p=0,0033$  y cocaína:  $T(10)=0,0$ ,  $p=0,0076$ ; hembra vs. neutro: adolescentes salina:  $T(10)=0,0$ ,  $p=0,0076$  y cocaína:  $T(10)=0,0$ ,  $p=0,0076$ ).

T(10)=0,0, p= 0,0050; adultas salina: T(10)=0,0, p= 0,0033 y cocaína: T(10)=0,0, p=0,0076).

No se detectaron diferencias significativas en los tiempos de permanencia en el compartimiento del macho entre las edades (adolescentes vs adultas: salina: U(9,10)=26,0, p=0,13 y cocaína: U(10,10)=34,0, p=0,25), ni entre los tratamientos (salina vs cocaína: adolescentes: U(9,10)=27,0, p=0,16 y adultas: U(10,10)=30,0, p=0,14).



**Figura 8.** Tiempo total (s) de visita al compartimiento del macho, hembra y neutro por parte de las hembras adolescentes y adultas tratadas con salina (n=9, n=10 respectivamente) o cocaína (n=10, n=10 respectivamente). Datos expresados como medianas (RSIQ), \*p=0,05 para vs macho y hembra y † p<0,05 para vs macho, prueba U de Wilcoxon.

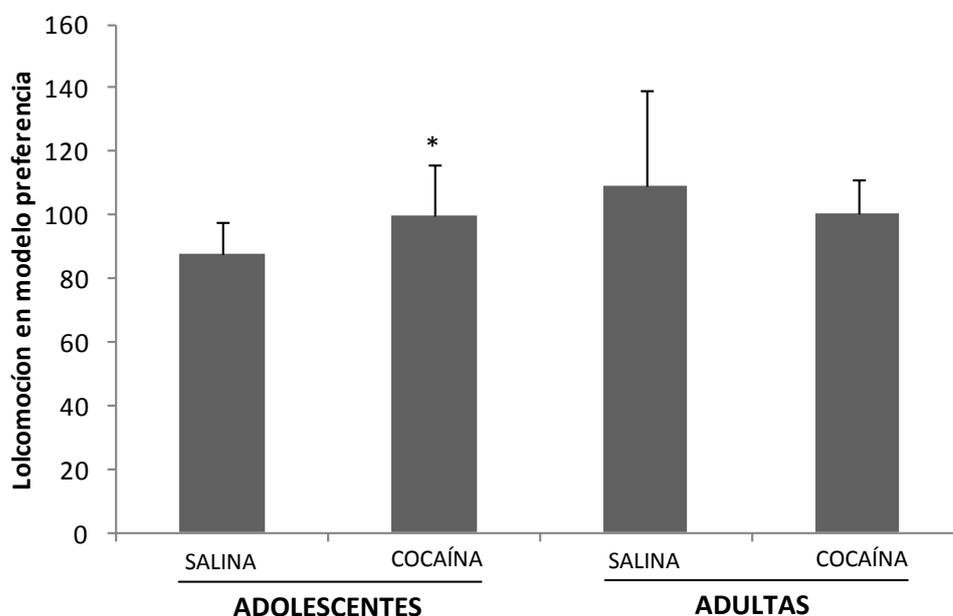
El tratamiento con cocaína aumentó el número de entradas al compartimiento de la hembra realizado por las adolescentes en comparación a su control salino (tabla 1, U=16,5, p=0,01) y a las adultas tratadas con cocaína (tabla 1, U=24,0, p=0,05).

**Tabla 1.** Entradas a los compartimientos y entradas totales en el modelo de preferencia

		macho	hembra	neutro	totales
Adolescentes	salina	14,0 (1,88)	9,5 (1,25)	5,0 (2,38)	30,0 (3,88)
	cocaína	16,5 (2,5)	12,0 (1,25)* <sup>a</sup>	4,5 (1,25)	32,5 (4)*
Adultas	salina	16,0 (3,87)	12,5 (3,13)	7,5 (2,88)	36 (9,50)
	cocaína	15,0 (2,75)	9,0 (1,75)	7,5 (0,88)	32,5 (3,13)

Datos expresados en medianas (RSIQ),\*  $p < 0,05$  salina vs cocaína y a  $p < 0,05$  adultas vs adolescentes, prueba U de Mann Whitney.

A su vez, la movilidad total en el modelo (figura 9) fue mayor en las adolescentes tratadas con cocaína que con salina ( $U(10,9)=17,0$ ,  $p=0,02$ ), mientras que en las adultas no se observó tal efecto ( $U(10,10)=40,0$ ,  $p=0,48$ ).



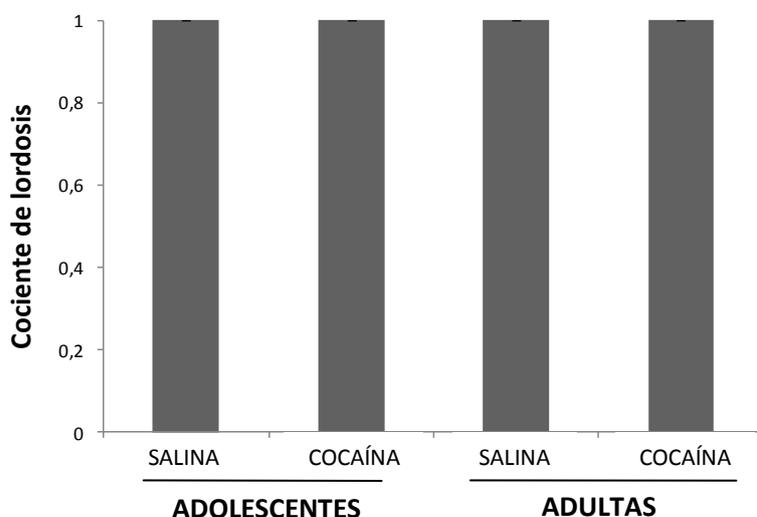
**Figura 9.** Locomoción total en el modelo de preferencia, medida como la suma total de entradas a los brazos y compartimientos en el modelo. Datos expresados en medianas (RSIQ),\*  $p < 0,05$  salina vs cocaína, prueba U de Mann Whitney

## Comportamiento sexual

### *Receptividad sexual de las hembras*

La receptividad sexual de las hembras, evaluada a través del cociente de lordosis, no varió de acuerdo a la edad (figura 10, salina: adolescentes vs adultas:  $U(9,10)=45,0$ ,  $p=1$  y cocaína: adolescentes vs adultas:  $U(10,10)=50,0$ ,  $p=1$ ), o al

tratamiento (figura 10, adolescentes: salina vs cocaína:  $U(9,10)=45,0$ ,  $p=1$ ; adultas: salina vs cocaína:  $U(10,10)=50,0$ ,  $p=1$ ).

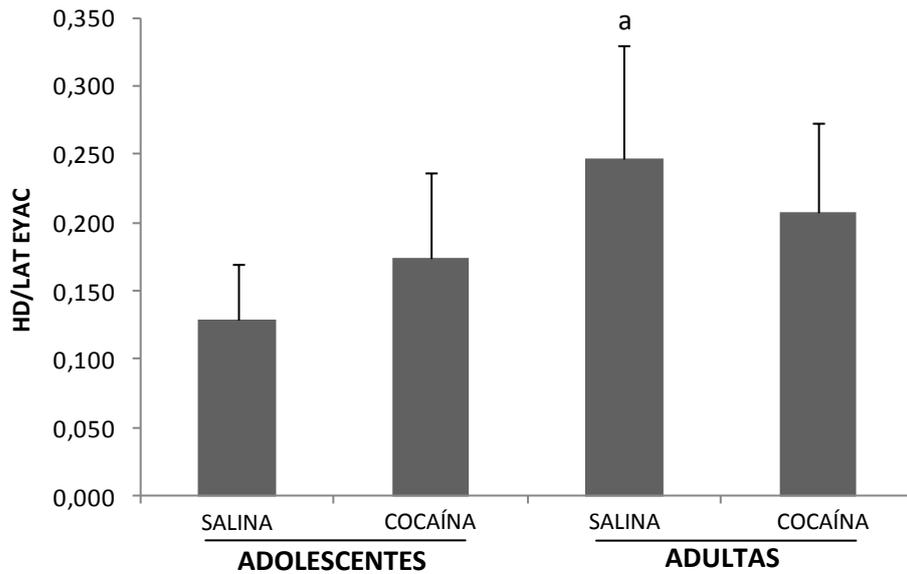


**Figura 10.** Cociente de lordosis (número de lordosis/número total de montas). Datos expresados en medianas (RSIQ),  $p=NS$ , prueba U de Mann Whitney.

#### *Proceptividad sexual de las hembras*

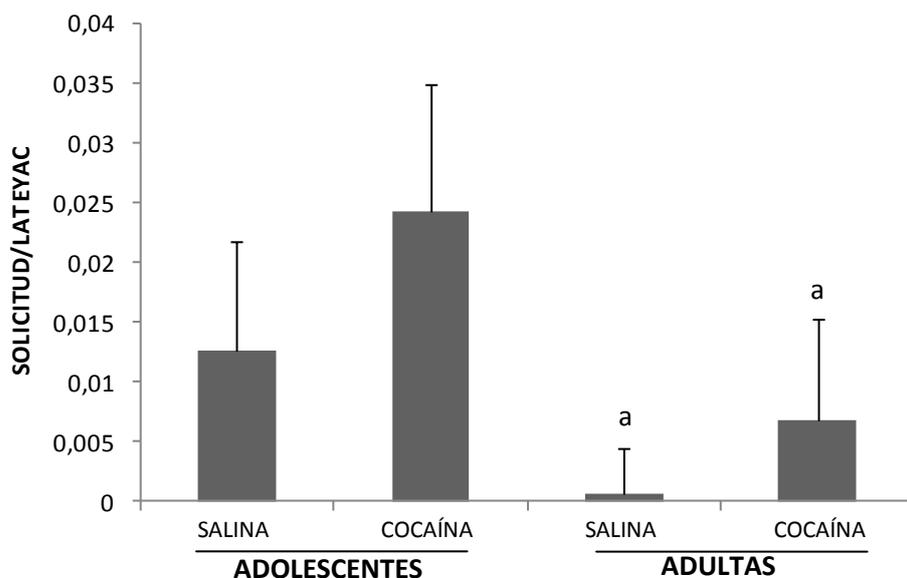
La proceptividad sexual de las hembras se evaluó en función del número de conductas proceptivas cortas (*hops and darts* y *crouch* postures, figura 11) y del número de solicitudes (figura 12) sobre la latencia de eyaculación. Como se observa en la figura 11, el número de conductas proceptivas de las hembras tratadas con salina fue mayor en las adultas que en las adolescentes ( $U(10,9)=12,0$ ,  $p=0,005$ ). Esta diferencia, sin embargo, no se observó entre los grupos sometidos al tratamiento crónico con cocaína ( $U(10,10)=36,0$ ,  $p=0,3$ ). No se evidenció efecto del tratamiento con cocaína en la proceptividad de las hembras adolescentes ( $U(9,10)=31,5$ ,  $p=0,27$ ) o adultas ( $U(10,10)=34,5$ ,  $p=0,24$ ).

A diferencia de la expresión de conductas proceptivas cortas, las hembras adolescentes exhibieron mayor número de solicitudes durante la cópula, independientemente del tratamiento recibido (figura 12, salina: adolescentes vs adultas:  $U(9,10)=13,0$ ,  $p=0,007$ , y cocaína: adolescentes vs adultas  $U(10,10)=20,5$ ,  $p=0,02$ ; figura 11). No se evidenció efecto del tratamiento en dicho componente en la adolescencia (salina vs cocaína:  $U(9,10)=29,0$ ,  $p=0,19$ ) o en la etapa adulta (salina vs cocaína  $U(10,10)=32,5$ ,  $p=0,19$ ).



**Figura 11.** Número de comportamientos proceptivos cortos/latencia de eyacuación (s). Datos expresados en medianas (RSIQ), a  $p < 0,05$  vs. adolescentes, prueba U de Mann Whitney.

Acompañando las diferencias encontradas en la expresión de proceptividad sexual entre hembras adultas y adolescentes tratadas con salina, las adolescentes realizaron una mayor cantidad de olfateos corporales del macho respecto a las adultas (figura 13), tanto aquellas tratadas con salina ( $U(9,10)=11,0$ ,  $p=0,004$ ) como las tratadas con cocaína ( $U(10,10)=3,0$ ,  $p=0,00008$ ). Asimismo, el tratamiento con cocaína aumentó este componente en las hembras adolescentes (figura 13,  $U(9,10)=12,0$ ,  $p=0,0056$ ).



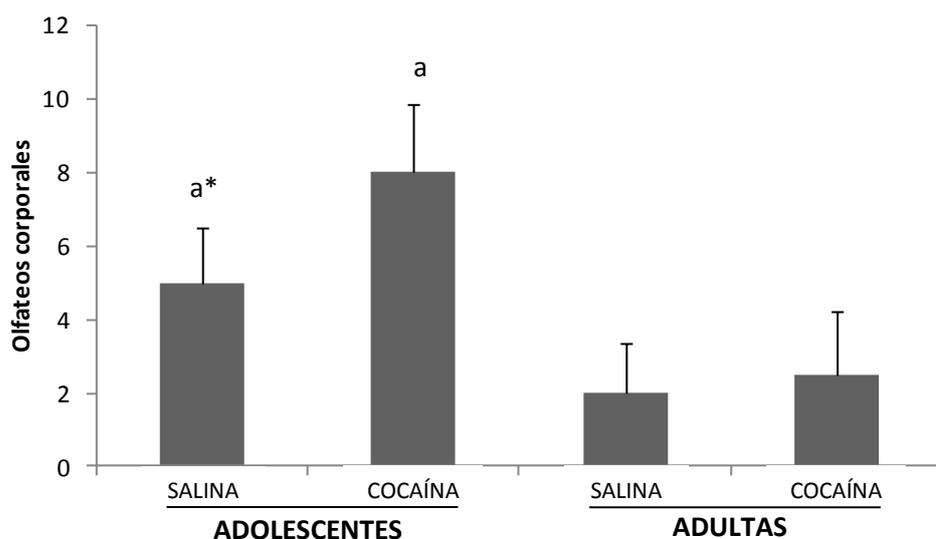
**Figura 12.** Número de solicitudes/latencia de eyacuación. Datos expresados en medianas (RSIQ), a  $p < 0,05$  vs adolescentes, prueba U de Mann Whitney.

Las hembras adolescentes tratadas con salina exhibieron una latencia a la expresión de conductas proceptivas mayor que las hembras adultas ( $U(9,10)=20,0$ ,  $p=0,04$ ; tabla 2), sin embargo esta diferencia se perdió luego del tratamiento con cocaína ( $U(10, 10)=47,0$ ,  $p=0,85$ ; tabla 2). Por otra parte, mientras que el tratamiento con cocaína no afectó la latencia a desplegar conductas proceptivas de las adolescentes (salina vs cocaína  $U(9,10)=38,0$ ,  $p=0,60$ , tabla 2), la incrementó en las hembras adultas ( $U(10, 10)=22,0$ ,  $p=0,03$ ).

**Tabla 2.** Latencia a la realización de conductas proceptivas por parte de las hembras

		Latencia proceptiva
Adolescentes	Salina	23,6 (1,9) <sup>a</sup>
	Cocaína	25,7 (5,4)
Adultas	Salina	11,5 (4,3)
	Cocaína	25,6 (5,8)*

Datos expresados en medianas (RSIQ), \*  $p < 0,05$  salina vs cocaína; a  $p < 0,05$  adultas vs adolescentes, prueba U de Mann Whitney.



**Figura 13.** Olfateos corporales y anogenitales efectuados hacia el macho por parte de las hembras. Datos expresados en medianas (RSIQ), \*  $p < 0,05$  salina vs cocaína; a  $p < 0,05$  adultas vs adolescentes, prueba U de Mann Whitney.

### *Comportamiento sexual de los machos*

Acompañando las diferencias observadas en las latencias a la expresión de conductas proceptivas de las hembras, los machos que interactuaron sexualmente con hembras adolescentes tratadas con salina exhibieron una mayor latencia de monta que frente a las adultas bajo el mismo tratamiento ( $U(9,10)=15,0$ ,  $p=0,01$ ; tabla 3). Sin embargo, ni el número de montas y eyaculaciones realizados por los

machos, ni la latencia a la eyaculación difirieron en función de la edad o del tratamiento (tabla 3), indicando una eficacia de cópula similar entre los grupos.

**Tabla 3.** Comportamiento sexual del macho

		Latencia de monta	Número de montas	Latencia de eyaculación	Número de eyaculación
Adolescentes	Salina	31,4 (21,2) <sup>a</sup>	17,0 (6)	610,3 (143,3)	1 (0)
	Cocaína	44,0 (23,2) <sup>p=0,06</sup>	11,0 (1,9)	493,6 (124,8)	1 (0)
Adultas	Salina	14,8 (4,7)	18,5 (4,3)	423,7 (253,4)	1 (0,4)
	Cocaína	23,6 (4,7)	15,0 (3,5)	414,2 (126,6)	1 (0,4)

Datos expresados en medianas (RSIQ), a  $p < 0,05$  y  $p = 0,06$  adultas vs adolescentes, prueba U de Mann Whitney.

## Discusión

En la presente pasantía determinamos que:

1. el valor de incentivo de un macho para una hembra sexualmente activa no difirió entre ratas adolescentes y adultas. Sin embargo, durante la interacción sexual, las adolescentes exhibieron un patrón diferencial de conductas motivadas, acompañado de un incremento de la exploración social del macho respecto a las adultas.
2. las hembras adolescentes fueron más sensibles que las adultas a los efectos motores del tratamiento crónico con cocaína empleado, sin embargo el mismo no afectó la expresión de la motivación sexual en ambas edades.

### *Motivación y comportamiento sexual durante la adolescencia*

La clara preferencia por el macho exhibida por las hembras adolescentes en proestro tardío, concuerda con el hecho de que los cambios endócrinos que promueven la actividad sexual en ratas hembra, aumentan el valor de incentivo del macho (Beach, 1976) y la preferencia por el mismo en modelos de elección (Eliasson y Meyerson 1975). Por otra parte, la ausencia de diferencias en el tiempo de permanencia en el compartimiento del macho entre hembras adolescentes y adultas indica que las diferencias estructurales y funcionales en dicho sistema entre ambas edades (Holder y Blaustein 2014; Spear 2000) no son determinantes para la asignación de valor de incentivo del macho.

Si bien el valor de incentivo del macho fue similar entre las hembras adolescentes y adultas, el patrón de conductas motivadas expresado durante la interacción sexual difirió entre ambos grupos. La expresión de tales conductas durante la cópula es flexible, y es modulada por múltiples factores, como la intensidad de la estimulación

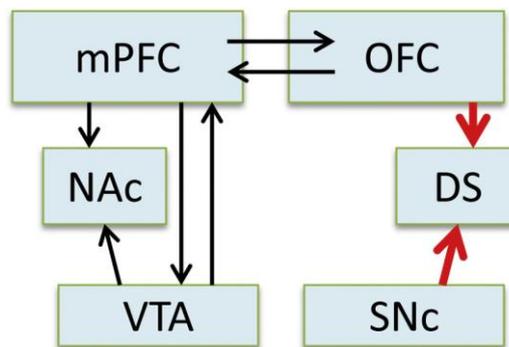
recibida por parte del macho o el contexto dónde ocurre la interacción (McClintock 1984; Erskine 1989). En este sentido, al igual a lo observado en este trabajo, las hembras adultas despliegan una mayor cantidad de conductas proceptivas cortas y menos solicitudes durante la cópula en ambientes reducidos, como lo es la arena sexual, en comparación a lo exhibido en ambientes más complejos o de mayor tamaño (Erskine 1989). Por lo tanto, es posible que las hembras adolescentes desplieguen más solicitudes y menor cantidad de conductas proceptivas cortas en comparación a las adultas debido a su menor tamaño corporal, lo que se traduciría en un ambiente más grande.

Otra posible explicación para el patrón diferencial de comportamiento sexual, es que la expresión de conductas motivadas en hembras adolescentes se asocie a características conductuales propias de este período, como lo es el juego. Una secuencia de juego entre juveniles, por ejemplo, puede iniciarse con movimientos rápidos, similares a *dartings*, precipitándose un individuo hacia el otro y alejándose dando brincos, solicitando de esta forma el juego (Thor y Holloway 1984; Poole and Fish 1975). Por consiguiente, el mayor número de solicitudes, corridas largas terminadas en componentes proceptivos cortos, de las hembras adolescentes podrían estar integrando el comportamiento de juego a la expresión del comportamiento sexual. En línea con esta interpretación, la mayor cantidad de olfateos corporales hacia el macho efectuado por las adolescentes podría estar asociada a una mayor exploración social o incitación al juego. Klein et al. (2010) describen que los individuos juveniles inician episodios de juego a través de contactar el hocico en la nuca del otro juvenil. Si bien en este trabajo no registramos de forma sistemática el juego, estos resultados sugieren que las hembras adolescentes podrían co-expresar ambas conductas motivadas durante la interacción con un macho. Sería interesante analizar en mayor profundidad la expresión de patrones de juego durante la interacción sexual, utilizando un modelo que permita aislar los componentes motivacionales de ambos comportamientos de forma clara. En este sentido, la cámara en dos niveles permite discriminar componentes motivacionales del comportamiento sexual de la hembra con mayor precisión (Pfaus, Smith, y Coopersmith 1999; Mendelson y Pfaus 1989). Actualmente estamos evaluando la expresión de conductas de juego y sexuales de hembras adolescentes y adultas en este modelo.

Durante la interacción sexual las hembras adolescentes también presentaron una mayor latencia a la expresión de conductas proceptivas, que podría interpretarse como una disminución de la motivación sexual respecto a las adultas. Sin embargo, dado que las adolescentes presentan una fuerte preferencia por el macho en el modelo de preferencia sexual, dicho aumento podría asociarse a diferencias atencionales o a la expresión de otras motivaciones. Apoyando esta interpretación, al introducir el macho en la arena sexual, las hembras adolescentes exhibieron mayor número de olfateos corporales que las hembras adultas, sugiriendo mayor exploración social y/o inicio de juego (Wilson y Keiman 1974; Varlinskaya, Spear, y Spear 1999; Pellis y McKenna 1995). De manera interesante, en el grupo de adolescentes tratadas con cocaína, el número de olfateos corporales se correlacionó positivamente con la latencia a la expresión de conductas proceptivas (datos no

mostrados) sugiriendo una relación inversa entre la expresión de olfateos corporales y de conductas sexuales proceptivas al inicio de la prueba.

En resumen, el comportamiento desplegado por las hembras adolescentes durante la interacción con un macho parece resultar de la combinación entre el comportamiento sexual y otras conductas características de la edad, como lo es el juego. Estas diferencias respecto a la etapa adulta evidencian el proceso de maduración de los sistemas neurales implicados en la regulación de estos comportamientos durante la adolescencia. Además de las diferencias neuroquímicas presentes en el sistema dopaminérgico mesocorticolímbico entre estas dos edades (O'Donnell 2010; Collins e Izenwasser 2002), se ha propuesto que este circuito de recompensa posee vías de procesamiento complementarias durante la adolescencia, que conducirían al procesamiento diferencial de la información (Simon y Moghaddam 2015) (figura 15). En el estudio realizado por Paredes-Ramos et al. (2012) se demostró que las cosquillas (*tickling*) representan un estímulo incondicionado eficaz para generar una preferencia sexual condicionada en hembras adolescentes, pero no en hembras adultas. Los autores proponen que el hecho de que las cosquillas sean un estímulo reforzador únicamente durante la adolescencia podría ser una consecuencia del procesamiento diferencial de la información que ocurre en función de la edad.



**Figura 15.** Circuito de recompensa modificado en el cerebro adolescente. En negro se señalan las conexiones típicas en el circuito de recompensa adulto y en rojo se señalan las conexiones complementarias presentes en el circuito de recompensa adolescente, asignándole en particular un papel más relevante al estriado dorsal en este procesamiento. VTA: área tegmental ventral, NAc: núcleo accumbens, SNc: sustancia nigra pars compacta, DS: estriado dorsal, mPFC: corteza prefrontal medial, OFC: corteza orbitofrontal. Extraído de Simon y Moghaddam (2015).

### *Efecto diferencial del tratamiento crónico con cocaína entre adolescentes y adultas*

La mayor sensibilidad de las hembras adolescente a los efectos motores agudos y crónicos de la cocaína respecto a las adultas concuerda con trabajos previos y refleja las diferencias en el sistema dopaminérgico en estas dos etapas (Badanich, Adler, y Kirstein 2006). Así, el mayor efecto locomotor inducido por la administración aguda de cocaína (en el día 1 de tratamiento) en adolescentes concuerda con lo observado por Catlow y Kirstein (2005). Esto podría estar relacionado a que durante la adolescencia se observa una mayor densidad de receptores dopaminérgicos tanto en el sistema nigroestriatal como en el mesolímbico (Brenhouse, Sonntag, y Andersen 2008; Andersen et al. 2002; Teicher, Andersen, y Hostetter 1995). A su

vez, el efecto locomotor a largo plazo (en la prueba de preferencia luego de 4-8 días de finalizado el tratamiento) observado en hembras adolescentes, pero no adultas, podría estar asociado a modificaciones diferenciales del sistema dopaminérgico en función de la edad. En este sentido, Collins e Izenwasser (2002) observaron un aumento en la densidad de transportadores de dopamina en el cuerpo estriado de ratas adultas, pero no en adolescentes luego de un tratamiento crónico con cocaína. Es posible especular que una mayor densidad del transportador en hembras adultas impacte en la tasa de recaptación de dopamina generando diferencias de acuerdo a la edad en la disponibilidad de dopamina en la hendidura sináptica, que podría resultar en una mayor locomoción en las hembras adolescentes.

A diferencia del marcado efecto del tratamiento con cocaína en la locomoción, en este estudio no observamos un efecto de la exposición repetida a cocaína en la motivación o en el comportamiento sexual de las hembras a los 6 días de discontinuado el tratamiento. Si bien hasta el momento no hay otros estudios que examinen los efectos de la administración crónica de cocaína en el comportamiento sexual de hembras, se ha reportado que esta droga, administrada de forma aguda facilita la expresión de los componentes motivacionales del comportamiento sexual de las hembras adultas (Pfaus et al. 2010). Por otro lado, Afonso et al. (2009) demostraron que el tratamiento crónico con anfetamina facilita la expresión del comportamiento sexual de hembras ovariectomizadas tratadas con estradiol y progesterona, a los 21 días de finalizado el tratamiento. Este resultado, junto con otros estudios muestran que el tratamiento crónico con drogas psicoestimulantes producen sensibilización del sistema dopaminérgico, aumentando el valor de incentivo de otros reforzadores en pruebas comportamentales sin administración de droga, efecto equivalente a la sensibilización cruzada observada entre diferentes drogas (Fiorino y Phillips 1999; Guarraci y Clark 2003; Afonso et al. 2009; Thibodeau et al. 2013).

La ausencia de efecto facilitador del tratamiento empleado en nuestro estudio sobre la motivación sexual de las hembras puede estar asociada a la variación entre estudios en el tipo de droga, dosis y días de administración, así como también el período de abstinencia. Así, Guarraci y Clark (2003) encuentran un efecto facilitador de la administración crónica de anfetamina en el comportamiento sexual de las hembras a los 6 días de la última inyección, pero, a diferencia de Afonso et al (2009), no a los 28. Es posible que esta discrepancia entre estudios se deba a la utilización de regímenes de inyecciones diferentes (régimen intermitente de 3 inyecciones vs. 4 inyecciones en días consecutivos cada 3 días, en un total de 12 inyecciones). En línea con nuestros resultados, Thibodeau et al. (2013) no encuentran facilitación del comportamiento sexual de las hembras luego de un tratamiento crónico con metanfetamina a los 6 o a los 21 días de abstinencia.

Es interesante destacar, que si bien el tratamiento con cocaína no afectó el comportamiento sexual, las hembras adolescentes tratadas no sólo presentaron una mayor locomoción, sino que aumentaron el número de visitas a la hembra en el modelo de preferencia, y realizaron más olfateos corporales del macho en la arena sexual. Estos resultados podrían indicar que la exposición crónica a la cocaína

aumentó la exploración social de las hembras adolescentes. En línea con esta idea, Beatty et al. (1982) observaron que el tratamiento con anfetamina aumenta la exploración social y reduce la conducta de juego. Si bien en nuestro estudio no observamos una afectación del comportamiento sexual, el número de olfateos se correlacionó positivamente con la latencia a expresión de conductas proceptivas en las adolescentes tratadas.

En nuestro experimento la ventana temporal de la adolescencia no nos permitió evaluar el efecto de este tratamiento crónico luego de un período de abstinencia mayor. Sin embargo, las hembras utilizadas en este estudio quedaron preñadas y se evaluó el efecto de este tratamiento crónico con cocaína en la expresión del comportamiento maternal; observándose un efecto deletéreo de la cocaína en el comportamiento de las hembras sometidas al tratamiento durante la adolescencia, pero no en la adultez. Los efectos negativos del tratamiento a largo plazo sobre la motivación maternal, podrían asociarse a que los fármacos que afectan el sistema dopaminérgico muchas veces presentan una curva dosis-efecto en forma de U invertida, donde dosis bajas estimulan la expresión de conductas motivadas, mientras que dosis altas las disminuyen (Spear 2011; Vijayraghavan et al. 2007; Gjedde et al. 2010).

En resumen, la aparente contradicción en los resultados reportados en la presente pasantía y en la literatura respecto al efecto del tratamiento crónico con drogas psicoestimulantes en el comportamiento de los individuos probablemente se relacione a diferencias en los fármacos y regímenes de administración utilizados (Pfaus et al. 2010; Afonso et al. 2009; Guarraci and Clark 2003; Thibodeau et al. 2013), pero también en el sexo y estado endócrino de los individuos (Festa y Quinones-Jenab 2004; Russo et al. 2003; Pfaus et al. 2010; Segarra et al. 2010). En este sentido, la información disponible acerca del comportamiento de las hembras adolescentes es escasa, y en general no se considera la fase del ciclo o se utilizan animales castrados. Se requieren, entonces, más estudios que analicen la adolescencia tomando en cuenta el sexo y el estatus hormonal de los individuos para entender mejor la maduración de comportamiento sociales y de los sistemas implicados en su control.

## **Perspectivas**

A partir de estos resultados pretendemos profundizar en el análisis de:

- la co-expresión de la conducta sexual y de juego durante la interacción con el macho en la adolescencia;
- los efectos la administración aguda de cocaína en el comportamiento sexual de hembras adolescentes y adultas.
- la expresión de receptores dopaminérgicos D1 y D2 en diferentes regiones del sistema mesocorticolímbico en hembras sexualmente activas adolescentes y adultas.

Este trabajo fue realizado en el marco de una beca de iniciación a la investigación de la ANII y del proyecto CSIC I+D 2012 titulado “Aspectos neuroendocrinos, neuroquímicos y neuroimagenológicos relacionados a la expresión conjunta del comportamiento maternal y sexual durante el estro posparto.”, a cargo de Daniella Agrati y Annabel Ferreira.

Los resultados de esta investigación fueron expuestos en calidad de póster en las XV Jornadas de la Sociedad Uruguaya de Biociencias (Piriápolis, Setiembre de 2014), en las primeras Jornadas de la Sociedad de Neurociencias del Uruguay (Montevideo, Julio de 2015) y de forma oral en las V Jornadas Uruguayas de Comportamiento Animal (Montevideo, Setiembre de 2015).

## **Bibliografía**

- Afonso, Veronica M., Devin Mueller, Jane Stewart, and James G. Pfaus. 2009. "Amphetamine Pretreatment Facilitates Appetitive Sexual Behaviors in the Female Rat." *Psychopharmacology* 205 (1): 35–43. doi:10.1007/s00213-009-1511-x.
- Agrati, Daniella, Alonso Fernández-Guasti, and Annabel Ferreira. 2008. "The Reproductive Stage and Experience of Sexually Receptive Mothers Alter Their Preference for Pups or Males." *Behavioral Neuroscience* 122 (5): 998–1004. doi:10.1037/a0012585.
- Andersen, Susan L., Andrew P. Thompson, Eileen Krenzler, and Martin H. Teicher. 2002. "Pubertal Changes in Gonadal Hormones Do Not Underlie Adolescent Dopamine Receptor Overproduction." *Psychoneuroendocrinology* 27 (6): 683–91. doi:10.1016/S0306-4530(01)00069-5.
- Badanich, Kimberly a., Kristopher J. Adler, and Cheryl L. Kirstein. 2006. "Adolescents Differ from Adults in Cocaine Conditioned Place Preference and Cocaine-Induced Dopamine in the Nucleus Accumbens Septi." *European Journal of Pharmacology* 550 (1-3): 95–106. doi:10.1016/j.ejphar.2006.08.034.
- Beach, F A. 1976. "Sexual Attractivity, Proceptivity, and Receptivity in Female Mammals." *Hormones and Behavior* 7 (1): 105–38. doi:Doi: 10.1016/0018-506x(76)90008-8.
- Beatty, William W., Anthony M. Dodge, Laura J. Dodge, Kathy White, and auJaak Panksepp. 1982. "Psychomotor Stimulants, Social Deprivation and Play in Juvenile Rats." *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 16 (3): 417–22. doi:10.1016/0091-3057(82)90445-2.
- Benes, F M, J B Taylor, and M C Cunningham. 2000. "Convergence and Plasticity of Monoaminergic Systems in the Medial Prefrontal Cortex during the Postnatal Period: Implications for the Development of Psychopathology." *Cerebral Cortex (New York, N.Y. : 1991)* 10: 1014–27. doi:10.1093/cercor/10.10.1014.
- Berridge, Kent C., and Terry E. Robinson. 1998. "What Is the Role of Dopamine in Reward: Hedonic Impact, Reward Learning, or Incentive Saliency?" *Brain Research Reviews* 28 (3): 309–69. doi:10.1016/S0165-0173(98)00019-8.
- Bless, E P, K a McGinnis, a L Mitchell, a Hartwell, and J B Mitchell. 1997. "The Effects of Gonadal Steroids on Brain Stimulation Reward in Female Rats."

*Behavioural Brain Research* 82 (2): 235–44. doi:10.1016/S0166-4328(96)00129-5.

- Brenhouse, Heather C, Kai C Sonntag, and Susan L Andersen. 2008. "Transient D1 Dopamine Receptor Expression on Prefrontal Cortex Projection Neurons: Relationship to Enhanced Motivational Salience of Drug Cues in Adolescence." *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience* 28 (10): 2375–82. doi:10.1523/JNEUROSCI.5064-07.2008.
- Broekman, M, M de Bruin, J Smeenk, a K Slob, and P van der Schoot. 1988. "Partner Preference Behavior of Estrous Female Rats Affected by Castration of Tethered Male Incentives." *Hormones and Behavior* 22 (3): 324–37.
- Brom, Mirte, Stephanie Both, Ellen Laan, Walter Everaerd, and Philip Spinhoven. 2014. "The Role of Conditioning, Learning and Dopamine in Sexual Behavior: A Narrative Review of Animal and Human Studies." *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 38 (1). Elsevier Ltd: 38–59. doi:10.1016/j.neubiorev.2013.10.014.
- Caligioni, Claudia S. 2009. "Assessing Reproductive Status/stages in Mice." *Current Protocols in Neuroscience*, no. SUPPL. 48: 1–8. doi:10.1002/0471142301.nsa04is48.
- Catlow, Briony J, and Cheryl L Kirstein. 2005. "Heightened Cocaine-Induced Locomotor Activity in Adolescent Compared to Adult Female Rats." *Journal of Psychopharmacology (Oxford, England)* 19 (5): 443–47. doi:10.1177/0269881105056518.
- Catlow, Briony J., and Cheryl L. Kirstein. 2007. "Cocaine during Adolescence Enhances Dopamine in Response to a Natural Reinforcer." *Neurotoxicology and Teratology* 29 (1): 57–65. doi:10.1016/j.ntt.2006.11.007.
- Chadwick, Benjamin, Alicia J. Saylor, and Hassan H. López. 2011. "Adolescent Cannabinoid Exposure Attenuates Adult Female Sexual Motivation but Does Not Alter Adulthood CB 1R Expression or Estrous Cyclicity." *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 100 (1). Elsevier Inc.: 157–64. doi:10.1016/j.pbb.2011.07.006.
- Clark, Ann S., Megan C. Kelton, Fay a. Guarraci, and Erika Q. Clyons. 2004. "Hormonal Status and Test Condition, but Not Sexual Experience, Modulate Partner Preference in Female Rats." *Hormones and Behavior* 45 (5): 314–23. doi:10.1016/j.yhbeh.2003.12.010.
- Collins, Stephanie L., and Sari Izenwasser. 2002. "Cocaine Differentially Alters

Behavior and Neurochemistry in Periadolescent versus Adult Rats.”  
*Developmental Brain Research* 138 (1): 27–34. doi:10.1016/S0165-3806(02)00471-6.

Crews, Fulton, Jun He, and Clyde Hodge. 2007. “Adolescent Cortical Development: A Critical Period of Vulnerability for Addiction.” *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 86 (2): 189–99. doi:10.1016/j.pbb.2006.12.001.

de Bruijn, M, M Broekman, and P van der Schoot. 1988. “Sexual Interactions between Estrous Female Rats and Castrated Male Rats Treated with Testosterone Propionate or Estradiol Benzoate.” *Physiology & Behavior* 43 (1): 35–39. doi:10.1016/0031-9384(88)90095-9.

Douglas, Lewis A., Elena I. Varlinskaya, and Linda P. Spear. 2004. “Rewarding Properties of Social Interactions in Adolescent and Adult Male and Female Rats: Impact of Social versus Isolate Housing of Subjects and Partners.” *Developmental Psychobiology* 45 (3): 153–62. doi:10.1002/dev.20025.

Eliasson, M, and B J Meyerson. 1975. “Sexual Preference in Female Rats during Estrous Cycle, Pregnancy and Lactation.” *Physiology & Behavior* 14 (6): 705–10. doi:10.1016/0031-9384(75)90061-X.

Ernst, Monique, Russell D. Romeo, and Susan L. Andersen. 2009. “Neurobiology of the Development of Motivated Behaviors in Adolescence: A Window into a Neural Systems Model.” *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 93 (3). Elsevier B.V.: 199–211. doi:10.1016/j.pbb.2008.12.013.

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.

Febo, M., and C. F. Ferris. 2007. “Development of Cocaine Sensitization before Pregnancy Affects Subsequent Maternal Retrieval of Pups and Prefrontal Cortical Activity during Nursing.” *Neuroscience* 148 (2): 400–412. doi:10.1016/j.neuroscience.2007.05.026.

Ferreira, A., O. Picazo, N. Uriarte, M. Pereira, and A. Fernandez-Guasti. 2000. “Inhibitory Effect of Buspirone and Diazepam, but Not of 8-OH-DPAT, on Maternal Behavior and Aggression.” *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 66 (2): 389–96. doi:10.1016/S0091-3057(00)00211-2.

Festa, Eugene D., and Vanya Quinones-Jenab. 2004. “Gonadal Hormones Provide the Biological Basis for Sex Differences in Behavioral Responses to Cocaine.” *Hormones and Behavior* 46 (5): 509–19. doi:10.1016/j.yhbeh.2004.04.009.

- Fiorino, D F, and a G Phillips. 1999. "Facilitation of Sexual Behavior and Enhanced Dopamine Efflux in the Nucleus Accumbens of Male Rats after D-Amphetamine-Induced Behavioral Sensitization." *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience* 19 (1): 456–63.
- Forbes, Erika E., and Ronald E. Dahl. 2010. "Pubertal Development and Behavior: Hormonal Activation of Social and Motivational Tendencies." *Brain and Cognition* 72 (1). Elsevier Inc.: 66–72. doi:10.1016/j.bandc.2009.10.007.
- Gjedde, Albert, Yoshitaka Kumakura, Paul Cumming, Jakob Linnet, and Arne Møller. 2010. "Inverted-U-Shaped Correlation between Dopamine Receptor Availability in Striatum and Sensation Seeking." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107 (8): 3870–75. doi:10.1073/pnas.0912319107.
- Gladwin, Thomas E., Bernd Figner, Eveline a. Crone, and Reinout W. Wiers. 2011. "Addiction, Adolescence, and the Integration of Control and Motivation." *Developmental Cognitive Neuroscience* 1 (4). Elsevier Ltd: 364–76. doi:10.1016/j.dcn.2011.06.008.
- Guarraci, Fay a. 2010. "'Sex, Drugs and the Brain': The Interaction between Drugs of Abuse and Sexual Behavior in the Female Rat." *Hormones and Behavior* 58 (1). Elsevier Inc.: 138–48. doi:10.1016/j.yhbeh.2009.12.002.
- Guarraci, Fay a., and Jessica L. Bolton. 2014. "'Sexy Stimulants': The Interaction between Psychomotor Stimulants and Sexual Behavior in the Female Brain." *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 121. Elsevier Inc.: 53–61. doi:10.1016/j.pbb.2013.11.006.
- Guarraci, Fay a., and Ann S. Clark. 2003. "Amphetamine Modulation of Paced Mating Behavior." *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 76 (3-4): 505–15. doi:10.1016/j.pbb.2003.09.003.
- Hardy, Donna F., and Joseph F. DeBold. 1995. "Effects of Coital Stimulation upon Behavior of the Female Rat." *Behavioral Neuroscience* 109 (2): 354–65.
- Hashizume, K, and K Ohashi. 1984. "Timing of Sexual Receptivity and the Release of Gonadotrophins during Puberty in Female Rats." *Journal of Reproduction and Fertility* 72 (1): 87–91. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6433011>.
- Holder, Mary K., and Jeffrey D. Blaustein. 2014. "Puberty and Adolescence as a Time of Vulnerability to Stressors That Alter Neurobehavioral Processes." *Frontiers in Neuroendocrinology* 35 (1). Elsevier Inc.: 89–110. doi:10.1016/j.yfrne.2013.10.004.

- Jenkins, William J., and Jill B. Becker. 2003. "Dynamic Increases in Dopamine during Paced Copulation in the Female Rat." *European Journal of Neuroscience* 18 (7): 1997–2001. doi:10.1046/j.1460-9568.2003.02923.x.
- Kelley, Ann E, and Kent C Berridge. 2002. "The Neuroscience of Natural Rewards: Relevance to Addictive Drugs." *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience* 22 (9): 3306–11. doi:20026361.
- Klein, Zoe A., Victoria A. Padow, and Russell D. Romeo. 2010. "The Effects of Stress on Play and Home Cage Behaviors in Adolescent Male Rats." *Developmental Psychobiology* 52 (1): 62–70. doi:10.1002/dev.20413.
- Laviola, Giovanni, Simone Macrì, Sara Morley-Fletcher, and Walter Adriani. 2003. "Risk-Taking Behavior in Adolescent Mice: Psychobiological Determinants and Early Epigenetic Influence." *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 27 (1-2): 19–31. doi:10.1016/S0149-7634(03)00006-X.
- Malenka, R C, and Julie a Kauer. 2007. "Synaptic Plasticity and Addiction." *Nature Reviews Neuroscience* 8 (11): 844–58. doi:10.1038/nrn2234.
- McClintock, Martha 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* 14 (C): 1–50. doi:10.1016/S0065-3454(08)60298-3.
- McDonald, P. G., and B. J. Meyerson. 1973. "The Effect of Oestradiol, Testosterone and Dihydrotestosterone on Sexual Motivation in the Ovariectomized Female Rat." *Physiology and Behavior* 11 (4): 515–20. doi:10.1016/0031-9384(73)90038-3.
- Mendelson, S D, and J G Pfaus. 1989. "Level Searching: A New Assay of Sexual Motivation in the Male Rat." *Physiology & Behavior* 45 (2): 337–41. doi:10.1016/0031-9384(89)90136-4.
- Mermelstein, Paul G., and Jill B. Becker. 1972. "Increased Extracellular Dopamine in the Nucleus Accumbens and Striatum of the Female Rat during Paced Copulatory Behavior." *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 78 (3): 400–408.
- Mogenson, Gordon J, Douglas L Jones, and Chiyu Yim. 1980. "From Motivation to action: Functional Interface between the Limbic System and the Motor.," 69–97.
- Monies, G.S., and E.H. Luque. 1988. "Effects of Ovarian Steroids on Vaginal Smears

in the Rat.” *Cells Tissues Organs* 133 (3). Karger Publishers: 192–99.  
doi:10.1159/000146639.

Nephew, Benjamin C, Martha K Caffrey, Ada C Felix-Ortiz, and Marcelo Febo. 2012. “Cocaine Sensitization Increases Kyphosis and Modulates Neural Activity in Adult Nulliparous Rats.” *Brain Sciences* 2 (4): 667–83.  
doi:10.3390/brainsci2040667.

Nephew, Benjamin C., and Marcelo Febo. 2010. “Effect of Cocaine Sensitization prior to Pregnancy on Maternal Care and Aggression in the Rat.” *Psychopharmacology* 209 (1): 127–35. doi:10.1007/s00213-010-1777-z.

O’Donnell, Patricio. 2010. “Adolescent Maturation of Cortical Dopamine.” *Neurotoxicity Research* 18 (3-4): 306–12. doi:10.1007/s12640-010-9157-3.

Paredes-Ramos, Pedro, Marta Miquel, Jorge Manzo, James G. Pfaus, Maria Leonor López-Meraz, and Genaro a. Coria-Avila. 2012. “Tickling in Juvenile but Not Adult Female Rats Conditions Sexual Partner Preference.” *Physiology and Behavior* 107 (1). Elsevier Inc.: 17–25. doi:10.1016/j.physbeh.2012.05.017.

Pellis, Sergio M., and Mario McKenna. 1995. “What Do Rats Find Rewarding in Play Fighting? - an Analysis Using Drug-Induced Non-Playful Partners.” *Behavioural Brain Research* 68 (1): 65–73. doi:10.1016/0166-4328(94)00161-8.

Pfaus, J G, W J Smith, and C B Coopersmith. 1999. “Appetitive and Consummatory Sexual Behaviors of Female Rats in Bilevel Chambers. I. A Correlational and Factor Analysis and the Effects of Ovarian Hormones.” *Hormones and Behavior* 35 (3): 224–40. doi:10.1006/hbeh.1999.1516.

Pfaus, J. G., G. Damsma, D. Wenkstern, and H. C. Fibiger. 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, James G., Sherri L. Jones, Loretta M. Flanagan-Cato, and Jeffrey D. Blaustein. 2015. *Female Sexual Behavior. Knobil and Neill’s Physiology of Reproduction*. doi:10.1016/B978-0-12-397175-3.00050-8.

Pfaus, James G., Mark F. Wilkins, Nina DiPietro, Michael Benibgui, Rachel Toledano, Anna Rowe, and Melissa Castro Couch. 2010. “Inhibitory and Disinhibitory Effects of Psychomotor Stimulants and Depressants on the Sexual Behavior of Male and Female Rats.” *Hormones and Behavior* 58 (1). Elsevier Inc.: 163–76. doi:10.1016/j.yhbeh.2009.10.004.

- Poole, B, and J Fish. 1975. "An Investigation of Playful Behaviour in *Rattus Norvegicus* and *Mus Musculus* (Mammalia)." *Journal of Zoology* 175 (1): 61–71. doi:10.1111/j.1469-7998.1975.tb01391.x.
- Robinson, Terry E, and Kent C Berridge. 2008. "Review. The Incentive Sensitization Theory of Addiction: Some Current Issues." *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 363 (1507): 3137–46. doi:10.1098/rstb.2008.0093.
- Russo, S. J., E. D. Festa, S. J. Fabian, F. M. Gazi, M. Kraish, S. Jenab, and V. Quiñones-Jenab. 2003. "Gonadal Hormones Differentially Modulate Cocaine-Induced Conditioned Place Preference in Male and Female Rats." *Neuroscience* 120 (2): 523–33. doi:10.1016/S0306-4522(03)00317-8.
- Segarra, Annabell C., José L. Agosto-Rivera, Marcelo Febo, Natasha Lugo-Escobar, Raissa Menéndez-Delmestre, Anabel Puig-Ramos, and Yvonne M. Torres-Diaz. 2010. "Estradiol: A Key Biological Substrate Mediating the Response to Cocaine in Female Rats." *Hormones and Behavior* 58 (1). Elsevier Inc.: 33–43. doi:10.1016/j.yhbeh.2009.12.003.
- Siegel, Sidney. 1956. *Nonparametric Statistics for the Behavioral Sciences*.
- Simon, Nicholas W., and Bitá Moghaddam. 2015. "Neural Processing of Reward in Adolescent Rodents." *Developmental Cognitive Neuroscience* 11. Elsevier Ltd: 145–54. doi:10.1016/j.dcn.2014.11.001.
- Sisk, Cheryl L, and Douglas L Foster. 2004. "The Neural Basis of Puberty and Adolescence" 7 (10): 1040–47. doi:10.1038/nn1326.
- Spear, L. P. 2000. *The Adolescent Brain and Age-Related Behavioral Manifestations. Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. Vol. 24. doi:10.1016/S0149-7634(00)00014-2.
- Spear, Linda Patia. 2011. "Rewards, Aversions and Affect in Adolescence: Emerging Convergences across Laboratory Animal and Human Data." *Developmental Cognitive Neuroscience* 1 (4). Elsevier Ltd: 390–403. doi:10.1016/j.dcn.2011.08.001.
- Teicher, Martin H., Susan L. Andersen, and John C. Hostetter. 1995. "Evidence for Dopamine Receptor Pruning between Adolescence and Adulthood in Striatum but Not Nucleus Accumbens." *Developmental Brain Research* 89 (2): 167–72. doi:10.1016/0165-3806(95)00109-Q.

- Thibodeau, Rachel B., Laura C. Ornelas, Jordan Romero, Nicoletta Memos, Matthew Scheible, Alfred Avila, Abby Schumacher, et al. 2013. "Acute Withdrawal but Not Long-Term Withdrawal from Methamphetamine Affects Sexual Behavior in Female Rats." *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 103 (4). Elsevier Inc.: 701–9. doi:10.1016/j.pbb.2012.12.011.
- Thor, D. H., and W. R. Holloway. 1984. "Social Play in Juvenile Rats: A Decade of Methodological and Experimental Research." *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 8 (4): 455–64. doi:10.1016/0149-7634(84)90004-6.
- Tirelli, Ezio, Giovanni Laviola, and Walter Adriani. 2003. "Ontogenesis of Behavioral Sensitization and Conditioned Place Preference Induced by Psychostimulants in Laboratory Rodents." *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 27 (1-2): 163–78. doi:10.1016/S0149-7634(03)00018-6.
- Uriarte, Natalia, Márcia K Breigeiron, Fernando Benetti, Ximena F Rosa, and Aldo B Lucion. 2007. "Effects of Maternal Care on the Development, Emotionality, and Reproductive Functions in Male and Female Rats." *Developmental Psychobiology* 49 (5): 451–62. doi:10.1002/dev.20241.
- Varlinskaya, E I, L P Spear, and N E Spear. 1999. "Social Behavior and Social Motivation in Adolescent Rats: Role of Housing Conditions and Partner's Activity." *Physiol Behav* 67 (4): 475–82.
- Vijayraghavan, Susheel, Min Wang, Shari G Birnbaum, Graham V Williams, and Amy F T Arnsten. 2007. "Inverted-U Dopamine D1 Receptor Actions on Prefrontal Neurons Engaged in Working Memory." *Nature Neuroscience* 10 (3): 376–84. doi:10.1038/nn1846.
- Wilson, Susan, and Devra Keiman. 1974. "Eliciting Play : A Comparative Study." *American Zoologist* 14 (1): 341–70.
- Xiao, L, and J B Becker. 1994. "Quantitative Microdialysis Determination of Extracellular Striatal Dopamine Concentration in Male and Female Rats: Effects of Estrous Cycle and Gonadectomy." *Neuroscience Letters* 180 (2): 155–58. doi:10.1016/0304-3940(94)90510-X.
- Young, Kimberly a., Kyle L. Gobrogge, and Zuoxin Wang. 2011. "The Role of Mesocorticolimbic Dopamine in Regulating Interactions between Drugs of Abuse and Social Behavior." *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 35 (3). Elsevier Ltd: 498–515. doi:10.1016/j.neubiorev.2010.06.004.
- Zakharova, Elena, Giorgia Leoni, Ilona Kichko, and Sari Izenwasser. 2009. "Differential Effects of Methamphetamine and Cocaine on Conditioned Place

Preference and Locomotor Activity in Adult and Adolescent Male Rats.”  
*Behavioural Brain Research* 198 (1): 45–50. doi:10.1016/j.bbr.2008.10.019.

Zakharova, Elena, Dean Wade, and Sari Izenwasser. 2009. “Sensitivity to Cocaine Conditioned Reward Depends on Sex and Age.” *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 92 (1). Elsevier Inc.: 131–34. doi:10.1016/j.pbb.2008.11.002.