



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA

División de Ciencias Biológicas

PARTICIPACIÓN DE LA PROLACTINA DURANTE EL PERIODO POSTNATAL
TEMPRANO SOBRE EL DESARROLLO DE LA CONDUCTA MATERNAL Y LA
EMOCIONALIDAD EN LA RATA HEMBRA, JUVENIL Y ADULTA

T e s i s

para obtener el grado de

Maestro en Ciencias Biológicas

P r e s e n t a

Ing. Agr. Mirsha Pérez Ledezma

Director de tesis

Dr. Angel Ismael Melo Salazar

Tlaxcala, Tlax.

Octubre 2006

ÍNDICE

	Pág.
I. INTRODUCCIÓN	4
I.1. Clasificación de la conducta maternal.....	4
I.2. Descripción de la conducta maternal en la rata.....	5
I.3. Conducta maternal en ratas no gestantes: <i>sensibilización</i>	6
I.4. Inicio de la conducta maternal en la rata.....	7
I.4.1. Cambios conductuales durante la gestación.....	7
I.4.1.1. Construcción del nido maternal.....	7
I.4.1.1.1. Responsividad maternal.....	7
I.4.1.1.2. Autolamido.....	8
I.4.1.1.3. Agresión.....	9
I.5. Papel de algunos estímulos específicos en el mantenimiento de la conducta maternal post-parto.....	9
I.6. Expresión de la conducta maternal por cambios hormonales.....	10
I.7. Participación de la prolactina en el mantenimiento de la conducta maternal post-parto.....	10
I.7.1. Prolactina.....	11
I.7.2. Influencia de los estímulos exteroceptivos sobre la liberación de la prolactina.....	15
I.8. Bases extra-hormonales de la conducta maternal en hembras no gestantes (sensibilización).....	16
I.9. Sincronización conductual entre la madre y la(s) cría(s).....	17
I.10. Desarrollo de la conducta maternal.....	18
I.10.1. Estímulos visuales.....	19
I.10.2. Estímulos odoríferos: olor del nido.....	19
I.10.3. Estímulos táctiles y propioceptivos: lamido de la madre.....	20
I.10.4. Estímulos sociales.....	21
I.11. Manipulación vs. separación maternal.....	22
I.12. Participación de la prolactina en el desarrollo del sistema dopaminérgico y en la conducta maternal.....	24
II. ANTECEDENTES.....	29

III. JUSTIFICACIÓN.....	30
IV. HIPÓTESIS.....	32
V. OBJETIVO GENERAL.....	32
V.1. Objetivos específicos.....	32
VI. MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
VI.1. Animales.....	33
VI.2. Drogas.....	33
VI.3. Procedimiento.....	34
VI.3.1. Experimento I.....	34
VI.3.2. Experimento II.....	34
VI.4. Registro de conducta maternal.....	35
VI.5. Registro de prueba de campo abierto.....	36
VII. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	37
VII.1. Experimentos I y II.....	37
VIII. RESULTADOS.....	38
VIII.1. Experimento I: Hembras juveniles.....	40
VIII.1.1. Conducta maternal.....	40
VIII.1.2. Conductas no-maternales.....	43
VIII.1.3. Campo abierto.....	45
VIII.2. Experimento II: Hembras adultas no-gestantes (vírgenes).....	47
VIII.2.1. Conducta maternal.....	47
VIII.2.2. Conductas no-maternales.....	49
VIII.2.3. Campo abierto.....	51
IX. DISCUSIÓN GENERAL.....	53
X. CONCLUSIONES.....	61
XI. PERSPECTIVAS.....	61
XII. REFERENCIAS.....	62

I. INTRODUCCIÓN

La conducta maternal consiste en el despliegue de patrones motores por parte de la madre, al final de la gestación, durante y después del parto, para proveer a las crías de calor, protección, nutrición y estímulos sensoriales y sociales necesarios para el desarrollo de las crías. Cuando el cuidado de las crías lo realiza el macho, se denomina conducta paternal. Cuando se refiere al cuidado de las crías de manera general (padre, madre o cualquier miembro de la comunidad) se denomina conducta parental. La conducta maternal en la mayoría de los animales altriciales (las crías nacen en un estado pobre de desarrollo) como los roedores (rata, ratón, hamster), se inicia al final de la gestación con la construcción del nido. Después del parto la madre acarrea las crías al nido, les lame el cuerpo y los genitales y los amamanta (todos los mamíferos). (Rosenblatt 1965, González-Mariscal y Poindron 2002).

I.1. Clasificación de la conducta maternal

Las conductas consideradas como parte de la conducta maternal se pueden clasificar de acuerdo a su relación con el parto o a su orientación hacia objetos o hacia las crías (Fahrbach y Pfaff 1982, Rosenblatt y cols. 1985, Numan 1994):

- ❖ Conductas antes del parto: construcción del nido maternal (*coneja, rata, ratona, zarigüeya, ornitorrinco*), acicalamiento, agresión, aislamiento social (*ungulados*).
- ❖ Conductas después del parto: placentofagia, olfateo y atracción hacia las crías, acarreo de las crías (*rata, ratona, gata, perra*), agrupación, amamantamiento, lamido del cuerpo y de los genitales de las crías.
- ❖ Conductas dirigidas a objetos: selección de un sitio para la construcción del nido, construcción del nido maternal, acarreo de la cola (la hembra intenta acarrear su cola probablemente por equivocación), placentofagia.
- ❖ Conductas dirigidas a sí misma: autolamido de pezones y de la región perineal, disminución de la actividad motora.
- ❖ Conductas dirigidas a las crías: olfateo, lamido del cuerpo y de la región anogenital, acarreo de las crías, agrupación, olfateo, atracción hacia las crías (acercamiento), adopción de la postura de amamantamiento.
- ❖ Conductas dirigidas a conespecíficos: agresión, olfateo.

I.2. Descripción de la conducta maternal en la rata

La manifestación de la conducta maternal está relacionada con el grado de desarrollo de las crías al parto. La rata requiere de la presencia de un nido antes del parto y cuidados intensivos por parte de la madre después del parto. Así, la construcción del nido maternal se inicia al final de la gestación, se incrementa alrededor del parto y se mantiene en las primeras dos semanas después del parto. En el post-parto inmediato, la madre pasa la mayor parte de su tiempo con la camada. Ella lame el cuerpo de las crías (para mantenerlas limpias y activar sus movimientos), la región anogenital (para estimular la micción y la defecación), ingiere su orina y heces fecales, las acarrea (si se alejan del nido), las agrupa dentro del nido, se coloca sobre ellas, adopta la postura de amamantamiento y las amamanta frecuentemente. Además, es agresiva hacia extraños: conespecíficos y humanos (Rosenblatt y Lehrman 1963). El inicio de la conducta de amamantamiento inicia cuando la hembra se coloca sobre las crías, mientras las lame, lo que facilita la succión. Este proceso induce inhibición de los movimientos de la hembra y culmina en el despliegue de la *postura de amamantamiento de alta intensidad*. Esta consiste en una pronunciada ventroflexión, separación de las extremidades posteriores y depresión de la cabeza, de tal manera que se crea una cavidad bajo el vientre de la madre que permite el amamantamiento de las crías (Stern y Johnson 1990, Stern, 1996).

La conducta maternal es activada, principalmente, por las hormonas de la gestación, i.e., la progesterona, los estrógenos, la oxitocina y la prolactina. Al final de la gestación ocurren importantes cambios en los niveles plasmáticos de las hormonas en cuestión. Así, los niveles plasmáticos de progesterona durante los primeros dos tercios de la gestación son altos, los de estrógenos son bajos, y los de oxitocina y prolactina son altos al inicio de la gestación, pero descienden después. El patrón de estas hormonas se revierten al final de la gestación, i.e., los niveles de progesterona descienden abruptamente, y los de oxitocina y prolactina se incrementan. Se ha demostrado que estos cambios son los que facilitan el inicio de la conducta maternal (Rosenblatt 1967, Bridges 1990, González-Mariscal y cols. 1998, González-Mariscal y Poindron 2002).

Gráfica 1 Niveles en suero de hormonas participantes antes, durante y después del parto.

I.3. Conducta maternal en ratas no gestantes: *sensibilización*

La conducta maternal puede ser inducida en hembras y machos, adultos y juveniles (22-25 días de edad) por la exposición continua con crías recién nacidas. Este proceso es denominado *sensibilización*. La responsividad maternal de una hembra hacia crías recién nacidas depende de su estado reproductivo. Así, hembras no gestantes, o machos, muestran aversión o miedo hacia crías “extrañas” (provenientes de madres nodrizas), en cambio, hembras lactantes muestran atracción. Cuando hembras no gestantes, o machos, se exponen continuamente hacia crías “extrañas”, la aversión disminuye progresivamente y empiezan a sentirse atraídas hacia las crías hasta que empiezan a desplegar la conducta maternal.

En relación a los animales juveniles, la respuesta inicial hacia las crías “extrañas” es diferente al de los animales adultos, i.e., ellos son más responsivos, pues muestran menor temor y se acercan continuamente a “jugar” con ellos, olfatearlos, lamerlos, e incluso adoptar la postura baja de amamantamiento, sin que los hayan acarreado hacia el nido (Mayer y cols. 1979, Brunelli y cols. 1985). La latencia para que las hembras empiecen a expresar la conducta maternal es en promedio cuatro días para las hembras y seis para los machos. Aunque se ha propuesto que la conducta maternal inducida a través del proceso de sensibilización no participan las hormonas, se ha encontrado una correlación entre la expresión de la conducta maternal en hembras juveniles y los niveles de prolactina en suero. Es decir, animales juveniles que manifestaron niveles altos de conducta maternal tuvieron niveles altos de prolactina en suero y viceversa. Estos resultados proporcionan evidencia de que la prolactina está involucrada en la responsividad maternal mostrado en hembras juveniles (Kinsley y Bridges 1988).

I.4. Inicio de la conducta maternal en la rata

El inicio de la conducta maternal es el resultado de una acción combinada entre hormonas que estimulan el desarrollo gradual de la responsividad maternal durante la gestación (Siegel y cols. 1983, Rosenblatt 1990), y los estímulos somatosensoriales y a la presencia

de las crías asociadas al parto. Así, en especies precoces y semiprecoces, la conducta maternal se inicia sólo ante la presencia de las crías.

Como ya se describió anteriormente, en la rata, como en otras especies altriciales (*rata*, *ratona*, *hamster*, *cerda* y *coneja*), la conducta maternal se inicia al final de la gestación con la construcción del nido, se continúa durante el parto (la madre ayuda a expulsar a las crías) y después del parto (postparto), la hembra acarrea a las crías al nido, les lame el cuerpo y la región anogenital y adopta la postura de amamantamiento para alimentarlas (Rosenblatt 1967, González-Mariscal y cols. 1998).

I.4.1. Cambios conductuales durante la gestación

I.4.1.1. Construcción del nido maternal

La construcción del nido, bajo condiciones de laboratorio, se inicia al final de la gestación con el acarreo de material hacia diferentes regiones de la caja donde vive la hembra, de un modo esporádico y de corta duración. Sin embargo, antes del parto (2 a 3 días) la hembra se aísla en un rincón de la caja, empieza a jalar material del nido con el hocico y las patas y lo coloca alrededor de ella. De esta manera construye el denominado “nido de la camada” o “nido del pre-parto”, cuyas paredes son pequeñas y con un piso delgado. La actividad se acentúa después del parto y se conforma el “nido maternal”. Esta conducta se continúa por dos días más, y después declina gradualmente (Rosenblatt y Lehrman 1963).

I.4.1.1.1. Responsividad maternal

A la disponibilidad para aproximarse hacia las crías y establecer el contacto con ellos se le denomina responsividad maternal. Se ha sugerido que los eventos fisiológicos y endocrinos asociados a la terminación de la gestación facilitan la responsividad maternal en la hembra gestante y parturienta (Wiesner y Sheard 1933).

En la rata, la responsividad maternal se cuantifica determinando la latencia a iniciar la conducta de acarreo de las crías. Al presentar dicha conducta, el criterio para que una hembra sea considerada maternal consiste en que despliegue el acarreo de al menos tres crías por dos días consecutivos (Bridges y cols. 1974). Se ha encontrado que las crías

recién nacidos son más efectivas para inducir conducta maternal que las crías “viejas” de 4-9 días de edad (Mayer y Rosenblatt 1980).

La responsividad maternal en la rata no sólo se estudia a través de la conducta de acarreo de las crías, sino también a través de la capacidad de la hembra para responder a algunos estímulos sensoriales provenientes de las crías. Así, entre 24-48 horas pre-parto, la hembra localiza a las crías en un laberinto percibiendo las vocalizaciones ultrasónicas que emiten (Bell 1979). Además, entre 1-2 días pre-parto, las hembras pueden discriminar entre el olor de su propio nido y el de otro de hembras no gestantes (Bauer 1983).

I.4.1.1.2. Autolamido

Para evaluar esta conducta, Roth y Rosenblatt (1967) clasificaron las áreas del cuerpo en dos regiones: a) críticas: mamaria, genital y pélvica, y b) no-críticas: cabeza, patas anteriores, hombros y parte posterior del dorso. Durante la gestación, las glándulas mamarias y los pezones incrementan su tamaño, la piel alrededor de los pezones se hace sensible y pierde el pelo. Estos cambios estimulan el auto-lamido a lo largo de la línea de los pezones, proceso que favorece el desarrollo de las glándulas mamarias y el inicio de la producción láctea (Herrenkohl y Campbell 1976). Por otro lado, en la región genital, la vagina se inflama y sobresale la vulva, hay secreciones vaginales que, junto con la distensión abdominal causada por las crías, estimulan el lamido de la zona (Roth y Rosenblatt 1967). En la última semana de gestación, la frecuencia y duración del acicalamiento se incrementa en las regiones críticas y disminuye en las regiones no-críticas (Rosenblatt y Lehrman 1963).

I.4.1.1.3. Agresión

La agresión está más relacionada con la regulación de la organización social en la mayoría de los mamíferos, su manifestación durante la gestación y la lactancia y está dirigida a la protección de la camada. La agresión estudiada bajo condiciones de laboratorio es del tipo

conespecífico (i.e., hacia un miembro de la misma especie, generalmente un macho). En la rata, los primeros indicios de agresión hacia un intruso dentro de la caja maternal se observan a la mitad de la gestación y se incrementan conforme se acerca el parto. El 92 % de las hembras multíparas muestran agresión hacia un macho intruso entre 3-4 hrs. pre-parto (Mayer y Rosenblatt 1984, Mayer y cols. 1987,). La administración de las hormonas que estimulan la conducta maternal a hembras ovariectomizadas, estimula la agresividad maternal (Mayer y cols. 1990).

I.5. Papel de algunos estímulos específicos en el mantenimiento de la conducta maternal post-parto

Es indudable que la conducta maternal es regulada por una variedad de modalidades sensoriales. Sin embargo, cada elemento en la cadena de secuencias conductuales podría estar bajo control sensorial predominante. Por ejemplo, las señales dístales de las crías (vocalizaciones ultrasónicas) orientan a la madre a aproximarse a ellas. Una vez que ella está cerca, los estímulos olfatorios y táctiles percibidos en la región perioral inducen que la hembra se coloque sobre las crías. Entonces, la hembra recibe estímulos táctiles en su vientre, consecuencia de la búsqueda del pezón por las crías y del subsecuente estímulo de la succión. Estos estímulos provocan que la hembra adopte la postura de inmovilidad y ventroflexión: postura de amamantamiento de alta intensidad (Herrenkohl y Sachs 1972, Stern 1990, 1996). Esta secuencia de eventos sugiere que: 1) el despliegue de la secuencia maternal completa involucra a la mayoría de las modalidades sensoriales, 2) componentes específicos de la conducta maternal pueden depender más de una modalidad que de otra. Por lo tanto, para comprender la regulación multisensorial de la conducta maternal es importante estudiar cada uno de los estímulos sensoriales involucrados.

I.6. Expresión de la conducta maternal por cambios hormonales

En hembras gestantes la conducta maternal es expresada por cambios hormonales al final de la gestación (disminución de progesterona e incremento de estradiol, prolactina y

oxitocina). Dichas hormonas activan las diversas áreas neurales del *circuito maternal* (involucrados en la regulación de la conducta maternal) como; el área preóptica media, el núcleo base de la estría terminal, el núcleo paraventricular, la amígdala, los bulbos olfatorios, el núcleo acumbens, sustancia gris periacueductal, el septum lateral (Fleming y Rosenblatt 1974, Numan 1994, Bakowska y Morrell 1997).

I.7. Participación de la prolactina en el mantenimiento de la conducta maternal post-parto

Aunque ha sido ampliamente documentado que el cambio en el patrón de los niveles de hormonas sexuales al final de la gestación activan la expresión de la conducta maternal, esta comprobado que dichos cambios, i.e. disminución de progesterona e incremento de estrógenos en sangre, estimulan a su vez la liberación de prolactina en sangre y que ésta dispara el inicio de la conducta maternal. Sin embargo, una vez que la conducta maternal se ha iniciado, el efecto de dichas hormonas disminuye drásticamente y el control del despliegue de la conducta es tomado por los estímulos sensoriales, exteroceptivos de las crías. En base a lo anterior, se ha propuesto que los factores que participan en el mantenimiento de la conducta maternal post-parto son no-hormonal. No obstante, Kinsley (1988), Grosvenor y cols. (1970, 1981) proponen que en dicho fenómeno la prolactina participa a través de un proceso aun no demostrado. Así, aunque se ha mostrado que la hipofisectomía o la administración de bromocriptina en los primeros días post-parto, no altera el despliegue de la conducta maternal ya establecida (en el post-parto) en la rata (Le Blond y Nelson 1937, Numan y cols. 1972). Whitworth y Grosvenor (1984) mostraron que la re-exposición a estímulos exteroceptivos (i.e. olfatorios, auditivos, visuales) de las crías por 20 horas después de haber sido separados de sus crías en el día 14 de lactancia, procedimiento que incrementa los niveles de prolactina en plasma (Grosvenor y cols. 1970, 1981), reducía la latencia para iniciar la conducta maternal, en comparación con las hembras privadas de las crías y de los estímulos exteroceptivos durante el mismo periodo (latencia: 4.5 hrs. vs. 5 hrs., respectivamente). Además, Kinsley y Bridges (1988) encontraron que hembras y machos juveniles expuestos a crías recién nacidas mostraron un incremento en los niveles de prolactina en suero, en comparación con aquellos que no fueron expuestos a crías. Además, que el incremento fue mayor en los machos que en las

hembras. En un estudio adicional, dichos autores administraron, por vía subcutánea, un agonista dopaminérgico (bromocriptina) a machos y hembras juveniles expuestas a crías recién nacidas e incrementaron la latencia para acarrear a las crías, en directa proporción con niveles bajos de prolactina. Estos datos sugerían la participación de la prolactina en la regulación de alguno de los componentes de la conducta maternal ya establecida (latencia para acarrear a las crías).

I.7.1. Prolactina

La prolactina es una hormona polipeptídica que es sintetizada por células especializadas de la pituitaria anterior, los lactotrófos. Su nombre esta basado en el hecho que la PRL causaba crecimiento del “buche” y participaba en la elaboración de leche “buche” en las palomas o promovía la lactancia en las conejas (Riddle, Bates y Dykshorn, 1933). En la actualidad se le conocen a la PRL más de 300 actividades biológicas (Bole-Feysot y cols., 1998). Se secreta y sintetiza en los órganos y tejidos (Bern y Nicoll, 1968). La PRL pertenece, junto con la GH y el lactógeno placental al grupo de hormonas proteicas α hélice. Al parecer todas estas hormonas evolucionaron a partir de un ancestro común. El gen se ubica en el cromosoma 6 con una talla de 10 Kb, y está compuesta de 5 exones y 4 intrones. Posee dos regiones promotoras independientes:

1. Glándula pituitaria-específica
2. Expresión extrapituitarica-específica

Las secuencias homólogas varían de entre los primates en un 97% y entre primates y roedores hasta un 56%. El ADNc es de 914 nucleótidos, en humanos, que dan origen a una pre-hormona de 227 aminoácidos (a.a.), conformada por un péptido señal de 28 a.a., la PRL madura posee 199 a.a. (Sinha, 1995). En la rata y ratón la PRL madura es de 197 a.a. La PRL humana está arreglada en una sola cadena de a.a., con tres puentes disulfuro entre seis residuos de cisteinas ($\text{Cys}^4\text{-Cys}^{11}$, $\text{Cys}^{58}\text{-Cys}^{174}$, y $\text{Cys}^{191}\text{-Cys}^{199}$). La estructura secundaria de la PRL indica que el 50% de la secuencia esta arreglada en forma de α -hélices y el resto en forma de asas. Son cuatro α -hélices que se arreglan en forma antiparalela.

Existen isoformas de PRL como la isoformas de 14, 16, 22 y 23 KDa. La isoforma de 23 KDa es la isoforma más abundante dentro de la glándula pituitaria (GP). Algunas isoformas se obtienen por splicing alternativo como la isoforma de 137 a.a., otras isoformas se obtienen por rupturas proteolíticas como las isoformas de 14, 16 y 22 KDa. La PRL₁₄ y PRL₁₆ comparten la misma y única actividad biológica. La PRL₁₆ es producto de la actividad de la enzima kallikreina. Esta enzima es una serina proteasa tripsina-like estrógeno-inducida que se halla en las cisternas del Golgi y en los gránulos secretores de los lactotrofos. Esta enzima rompe la PRL₁₆ de manera Tiol-dependiente. El Tiol altera la conformación de la PRL₁₆ de tal manera que la enzima kallikreina la reconoce como sustrato.

Si a la PRL₂₃ le agregamos una carbopeptidasa-β esta PRL se rompe en una PRL₂₂. Esta PRL₂₂ sintética puede encontrarse en extractos de GP anterior (GPA); y al parecer su producción y liberación es hembra-específica, así como es sensible a la inhibición por dopamina (DA). Pero se desconoce su actividad fisiológica. La PRL se puede dimerizar o polimerizar por proteínas de unión como las inmunoglobulinas (Ig) mediante la formación de enlaces covalentes o por enlaces no-covalentes. La IgG se utiliza en la detección de prolactinemias.

Otras variantes de PRL son las que son fosforiladas (PRL-P), esta fosforilación ocurre previa a la exocitosis dentro de las vesículas secretoras de los lactotrofos como resultado de la esterificación de grupos hidroxil de residuos de serina y treonina (Greenan y cols., 1989).

La PRL-P constituye un 80% de la PRL dentro de la GPA del ganado. Se desconoce si esta isoforma es secretada al plasma, no obstante la PRL-P posee una actividad biológica menor que la PRL. También posee actividad autocrina, pues inhibe la secreción de PRL en las células GH₃. La relación PRL/PRL-P depende del ciclo estral (Ho y cols., 1993; Goffin y cols., 1998)

La PRL también sufre glicosilación (PRL-G) y su grado varía de 1-60% entre las especies y entre los estados reproductivos. La unión de carbohidratos es a través de nitrógenos (N-glicosilación) o a través de oxígenos (O-glicosilación).

La morfología de los lactotrofos o mamotrofos comprenden del 20-50% de la población de células de la GPA y depende del sexo y del estado fisiológico,

Ontogenéticamente los lactotrofos derivan del linaje celular de la GP Pit-1 dependiente junto con los somatotrofos y los tirotrofos (Cohen y cols., 1996; Gonzalez-Parra y cols., 1996; Parks y cols., 1997; Sharp, 1995).

Las células con PRL se hallan en la porción latero-ventral del lóbulo anterior de la GP y en la banda adyacente al lóbulo intermedio (Nakane, 1970). Su forma es heterogénea poliédrica o angular, algunas veces redondeada u oval (De Paul y cols., 1997) dependiendo de la talla de los gránulos secretorios y de su contenido, así como la concentración de ARNm y la concentración de PRL (Velkeniers y cols., 1988). Los lactotrofos también poseen heterogeneidad funcional, ya sea que liberen PRL o GH, o ambas en cuyo caso son llamados mamosomatotrofos. Estas células predominan en la GP de ratas neonatas (Hoeffler y cols., 1985) y se diferencian en presencia de estrógenos (Boockfor y cols., 1986).

Los mamosomatotrofos de los críos también se diferencian en lactotrofos en presencia de señales maternas que aparecen durante la lactancia temprana (Porter y cols., 1991) y son otorgados a los críos a través de la leche materna (Porter y Frawley, 1991)

También hay heterogeneidad funcional acorde a su localización dentro del lóbulo anterior de la GP (Mukherjee y cols., 1991). Los lactotrofos de la zona periférica responden más a la THR que los lactotrofos de la zona interna adyacente al lóbulo intermedio de la GP (Boockfor y Frawley, 1987). Por otro lado, los lactotrofos DAérgicos-responsivos (Arita y cols., 1991) son más abundantes en la zona interna que en la periferia de la GPA.

Estas terminales axónicas PRL-inmunoreactivas hipotalámicas se las encuentra en el telencéfalo, hipocampo, amígdala, septo, caudado putamen, tallo cerebral, cerebelo, cordón espinal, plexo coroideo, y órganos circunventriculares (Fuxe y cols., 1977).

Hipotálamo Núcleo dorsomedial
 Núcleo ventromedial
 Núcleo supraóptico
 Núcleo paraventricular

La hipofisectomía no afecta la concentración de PRL inmunoreactiva en machos y disminuye, pero no abate, la concentración de PRL en hembras (Devito, 1988). Aunque no se sabe si la PRL hipotalámica es un neurotransmisor o una citosina central que regula el crecimiento vascular y/o función glial. El plexo coroideo parece incrementar la concentración de receptores a PRL (R-PRL) dependiendo de la concentración de PRL presente (Mangurian y cols., 1992). También la PRL de la GPA alcanza el cerebro mediante la circulación retrógrada en la GPA (Mezey y Palkovits, 1982; Oliver y cols., 1977).

Los esteroides ováricos modulan la síntesis y liberación de PRL hipotalámica (Devito y cols., 1992; Devito y cols., 1991). Esto puede observarse ya que el 33% de las neuronas PRL-inmunoreactivas del hipotálamo medio basal pueden ser marcadas con [³H]-estradiol (Devito y cols., 1992). Además, la ovariectomía reduce la concentración de PRL hipotalámica, misma que se ve incrementada mediante la terapia por restitución de estrógenos (Devito y cols., 1992; Devito y cols., 1991)

Las funciones de transporte metabólico feto-maternal bidireccional de la placenta producen moléculas PRL-like, el lactógeno placentar. Hay varios tipos de lactógenos placentales: PL-I, PL-II, PL-Im (mosaico), PL-Iv (variante) o PLP-A, -B, -C, -D, -E, -F, y -G. La placenta también posee un lactógeno conocido como poliferino (PLF) y su receptor (R-PLF).

La decidua, en humanos, produce una molécula PRL-like indistinguible de la PRL de la GPA, en el caso de la rata la PRL decidual es distinta a la de la GPA. Otro tipo de PRL-like, la proteína J PRL-like producida durante la lactancia temprana, ambas PRL-like se unen al R-PRL y su liberación depende de la decidua local, pero no por factores PRL-like hipotalámicos. La progesterona (PRG) es un potente estimulador de la PRL decidual. La PRL decidual difunde dentro del fluido amniótico y se sugiere que puede servir como osmoregulador (Tyson, 1982) y participar en la maduración y tener un papel en el sistema inmune.

I.7.2. Influencia de los estímulos exteroceptivos sobre la liberación de la prolactina

La liberación de prolactina de la hipófisis anterior es regulada tanto por un tono dopaminérgico inhibitorio como por estímulos exteroceptivos y táctiles que proveen las crías a la madre. La primera evidencia experimental que mostró la influencia de dichos estímulos en la rata, proviene de Grosvenor (1965) y Grosvenor y Mena (1969, 1973).

Los primeros estudios reportaron que la información olfatoria proveniente de la camada era la responsable de la liberación de la prolactina en la rata (Mena y Grosvenor 1971). Después de ocho horas de aislamiento, las hembras primíparas lactantes (día 14) fueron expuestas durante 30 minutos a estímulos exteroceptivos únicos o combinados provenientes de las crías. Los resultados mostraron que únicamente la percepción de las señales olfatorias, solas o en combinación con las señales visuales o auditivas, disminuía significativamente la concentración de prolactina en la hipófisis anterior (Mena y Grosvenor 1971).

Por otro lado, se ha reportado que existe una diferencia en la sensibilidad hacia los estímulos exteroceptivos en función de la experiencia. Así, la liberación de prolactina por los estímulos exteroceptivos en hembras primíparas es nula en la primera mitad de la gestación, pero se incrementa a partir de la segunda mitad (Grosvenor y cols. 1970).

I.8. Bases extra-hormonales de la conducta maternal en hembras no gestantes (sensibilización)

En secciones anteriores se ha descrito al proceso de sensibilización como aquel que es capaz de inducir conducta maternal en animales (especialmente ratas), no gestantes, e incluso machos. En esta sección se describe en detalle del proceso mismo, así cómo los datos que apoyan y que replican la teoría de la regulación no hormonal. Uno de los más fuertes argumentos que apoya la propuesta de que la conducta maternal post-parto es regulada por factores no-hormonales, es el fenómeno de *sensibilización*. Wiesner y Sheard (1933) describieron el fenómeno por primera vez al mostrar que la conducta maternal en la rata, puede ser inducida en hembras no-gestantes por medio de la exposición constante a crías de 1-5 días de edad, sin la participación de hormonas.

Rosenblatt (1967) aportó la mejor evidencia del fenómeno al mostrar que la exposición continua con crías inducía la conducta maternal en todos sus componentes no sólo en hembras no-gestantes intactas, sino también en hembras ovariectomizadas (sin ovarios) o hipofisectomizadas (sin hipófisis), e incluso en machos intactos o castrados (Södersten y Eneroth 1984). Los resultados mostraron que la conducta maternal fue inducida en un bajo porcentaje de los machos y casi en un 100 % de las hembras no-gestantes (30 % reportado por Wiesner y Sheard 1933). Posteriormente, Stern y MacKinnon (1978) reportaron que la edad de las crías era importante para sensibilizar a las hembras no-gestantes. Así, las hembras vírgenes que fueron expuestas a crías de 1-2 días de edad mostraron menor latencia para iniciar la conducta maternal (2 días) que la observada en las hembras expuestas a crías de 13-14 días de edad (7 días).

Como se mencionó anteriormente, el fenómeno de sensibilización requiere de la exposición continua de las crías durante 4-6 días. Durante el inicio de la interacción, la hembra rechaza a las crías y muestra señales de temor, pero conforme pasa el tiempo, los periodos de rechazo se mezclan con periodos de acercamiento: la hembra olfatea y lame a las crías por cortos periodos de tiempo. Este proceso se repite diariamente, de tal manera que provoca un incremento gradual en la tolerancia al contacto con las crías, hasta que la

hembra despliega la conducta maternal (Rosenblatt 1975, Fleming y Luebke 1981, Stern 1983, 1996).

Por otro lado, datos indirectos han propuesto que la expresión de la conducta maternal inducida por exposición continua hacia crías es modulada por la prolactina. Así, Kinsley y Bridges (1988) reportaron que la exposición continua hacia crías de hembras, y machos, estimulaba la liberación de prolactina en sangre y que existía una correlación entre los niveles de prolactina en sangre con la expresión de la conducta maternal. Además, (Bridges y cols. 1990) encontraron que la administración de bromocriptina (agonista dopaminérgico que inhibe la liberación de prolactina desde la hipófisis anterior) a machos juveniles “sensibilizados”, i.e., maternales, reducía notablemente los niveles de responsividad maternal.

I.9. Sincronización conductual entre la madre y la(s) cría(s)

Durante el parto y la lactancia se llevan a cabo una serie de complejas interacciones entre la madre y las crías a través de señales sensoriales: visuales, olfatorias, auditivas y táctiles. En una gran variedad de especies, las interacciones madre-crías se describen en términos de la contribución relativa de cada uno de los individuos involucrados en diferentes momentos del periodo post-parto (Rosenblatt 1965, Rosenblatt y cols. 1985). Rosenblatt (1965) describió dos fases de la sincronización conductual. En la primera fase, la conducta de la madre se sincroniza con las necesidades y capacidades conductuales y motoras de la camada. Es decir, la madre toma la iniciativa para cuidarlas, pues las crías no son capaces de protegerse y obtener su alimento por sí solas.

Conforme las crías se desarrollan (conductual y fisiológicamente), las actividades de la madre disminuyen y las crías empiezan a tomar la iniciativa. De esta manera, las interacciones entre la madre y las crías cambian a una segunda fase, que involucra una estimulación recíproca, sincronizada de un modo complementario, pues la conducta de uno se complementa con la del otro.

I.10. Desarrollo de la conducta maternal

La propuesta de que la experiencia temprana afectaba la conducta de los individuos y que este efecto permanecía a lo largo de la vida tiene más de 200 años cuando Aristóteles escribió:

“Los pájaros pequeños cantan diferentes notas a las de los padres, si son separados del nido y han escuchado el canto de otros pájaros. Además, se ha observado que la madre da lecciones de canto a sus hijos, lo cual se puede inferir que el canto de los pájaros no es congénito, sino más bien es algo que es capaz de ser modificado y mejorado” (citado en: Beach y Jaynes 1954).

De hecho, actualmente se ha demostrado que la experiencia temprana en el nido participa en el desarrollo, maduración, diferenciación y organización de diversos sistemas neuroanatómicos, neuroquímicos, endocrinos, fisiológicos, conductuales y procesos de atención. Además, que estos procesos son mediados por el cuidado que las madres proveen a las crías (conducta maternal), a la interacción entre hermanos y al olor del nido. Todo esto ocurre durante el periodo postnatal temprano del infante, es decir, desde el final de la gestación hasta el destete, cuando las crías ya son independientes para conseguir alimento, termoregular e interactuar y organizarse con sus conespecíficos para asegurar la subsistencia de la comunidad (Figura 1).



Figura 1 Esquema representativo de la experiencia de las crías en el nido en los primeros días de vida sobre el desarrollo de diversos sistemas biológicos.

Estudios de los años 60's se dedicaron a evaluar el efecto de la experiencia de los estímulos sensoriales sobre la habilidad sensorial de los adultos. Es decir, se evaluó el

papel de los estímulos sensoriales (visuales, odoríferos, táctiles y propioceptivos) durante el periodo postnatal sobre la expresión de conductas y de procesos sensoriales en el animal adulto.

I.10.1. Estímulos visuales

Los primeros trabajos mostraron que las respuestas visuales de las ratas de laboratorio no son modificadas si se previene que los animales utilicen al sistema visual durante la infancia. Por ejemplo, ratas que fueron criadas en oscuridad completa durante la infancia ajustan la fuerza con la que brincan hacia una plataforma con alimento que se coloca a diferentes distancias, aunque la ejecución de la primera prueba es inferior a la de una rata que fue criada normalmente (Lashley y Russell 1934). Otro ejemplo lo ha reportado Goodman (1932) en el conejo criado en la oscuridad. Estos animales asumieron posturas anormales y chocaban contra obstáculos cuando eran expuestos por primera vez a la luz.

I.10.2. Estímulos odoríferos: olor del nido

En la mayoría de las especies, los estímulos odoríferos son importantes en los procesos de condicionamiento y aprendizaje. Entre los olores que normalmente rodean a los recién nacidos están los olores que emanan de la piel de la madre, el olor de la leche y en general, el olor del nido. De hecho, este último estímulo o señal ha sido ampliamente estudiado en la rata. Así, en esta especie, el olor del nido ayuda a las crías a orientarse hacia la madre y provee la base para el desarrollo de la preferencia alimenticia en el futuro (Galef 1990). El aprendizaje ocurre como resultado de la asociación (condicionamiento) entre el olor del nido y la estimulación del lamido de la madre poco antes del amamantamiento (Wilson y Sullivan 1994). Recientemente, Fleming y cols. (2002) encontraron que madres que habían sido expuestas a un olor artificial (cítrico) en su infancia (1-18 días postnatales) sobre el vientre de su madre fueron más responsivas (lamieron más) hacia crías cubiertas con el mismo olor, que hacia crías control (sin olor) (Shah y cols. 2002). Debe destacarse que la simple exposición al mismo olor, durante la infancia, sin estar asociado con su madre, no causó dicha preferencia. Similares resultados se observaron en hembras juveniles (post-destetadas) que fueron separadas de su madre (y de su olor) durante los primeros 18 días de

vida. Las cuales no mostraron el típico patrón de preferencia hacia el olor del nido, normalmente presente en las hembras criadas por su madre. Estos resultados indican que la experiencia olfatoria en asociación con el lamido de la madre durante la infancia, es importante para el desarrollo de la discriminación olfatoria, y de manera indirecta, en la expresión de la conducta maternal.

I.10.3. Estímulos táctiles y propioceptivos: lamido de la madre

Los primeros estudios que mostraron que la experiencia táctil participaba durante la infancia fueron realizados en chimpancés. Así, durante los primeros 30 meses de vida, los brazos y piernas de estos animales fueron cubiertos con tubos de cartón para evitar el contacto táctil y cuando las extremidades fueron libres, ellos mostraron problemas para caminar y para sentarse, la conducta de acicalamiento fue deficiente, el aprendizaje de ciertas conductas también fueron deficientes (Nissen y cols. 1951).

Estudios más recientes han reportado que la experiencia de las hembras al ser lamidas en la infancia también tiene efectos a largo plazo sobre la calidad del cuidado maternal hacia sus propias crías, cuando ellas son madres. Es decir, cuando los neonatos son criados dentro de un ambiente enriquecido sensorialmente por el lamido de la madre, y por el contacto con sus hermanos, el desarrollo y de maduración de diversos procesos fisiológicos, neuroquímicos, conductuales es óptimo. Por el contrario, el desarrollo de las crías es pobre cuando éstas son criadas dentro de un ambiente deficiente de dichos estímulos. Recientemente, el grupo de Meaney y cols. (1999) mostraron que madres que fueron lamidas por mucho tiempo y con una alta frecuencia en el periodo postnatal temprano, lamieron más a sus propias crías cuando fueron adultas, que aquéllas que fueron lamidas poco (Francis y cols. 1996). Para evaluar si este fenómeno no era genético, intercambiaron crías entre madres que lamen mucho y aquellas que lamen poco. Es decir, hijas de madres que alto lamido fueron criadas por madres de bajo lamido y viceversa. Los resultados fueron similares a los del primer experimento. Es decir, hembras que fueron criadas por hembras de alto lamido, y por lo tanto recibieron altos niveles de lamido, pero cuya madre era de bajo lamido, lamieron más a sus crías y viceversa.

En condiciones experimentales es posible causar los mismos efectos al manipular la frecuencia y las características de la conducta maternal en la rata hembra. Así, se puede reducir el nivel de lamido al incrementar el número de crías dentro de una camada, al hacer anósmica (incapaz de oler) a la madre poco antes del parto o al separar a las crías del nido durante largo tiempo. Por el contrario, se puede incrementar el nivel de lamido al disminuir el número de crías dentro de la camada o sustraer del nido a las crías durante un corto período de tiempo (5-20 minutos; “manipulación”). De tal manera, que cuando se regresan las crías al nido, las madres emplean mayor tiempo lamiéndolas. Fleming y cols. (2002) han encontrado una correlación positiva entre el tiempo total que emplean las madres lamiendo a las crías, respecto del tiempo que las crías lamen a su camada, cuando son adultas. Sin embargo, este efecto es visible sólo durante la primera semana postparto, pero no después. A este tipo de transmisión de fenotipos conductuales de madres a hijas se le considera un mecanismo de transmisión no-genómico. De hecho, se ha encontrado que dicha transmisión se efectúa hasta la segunda generación, i.e., “nietas” de las hembras que fueron manipuladas (transmisión intergeneracional).

I.10.4. Estímulos sociales

La supervivencia de la especie depende, principalmente, de la organización de la comunidad social. Dicho organización depende a su vez, de la comunicación entre los miembros de dicha comunidad. De tal modo que todos obtienen protección y se favorece el apareamiento y la reproducción. El mantenimiento de dicha sociedad requiere de la interacción social a través de la utilización de diversos sistemas de comunicación y de la expresión de conductas sociales, como son: conductas antagónicas (de defensa y de agresión) y de afiliación (conducta maternal, conducta sexual, exploración de sus conoespecíficos para el reconocimiento y el aprendizaje social) (Popik y van Ree 1998). La interacción social se inicia desde el momento del nacimiento, donde el recién nacido recibe una enorme cantidad de estímulos somatosensoriales por parte de la madre y de sus hermanos y continúa después del destete, e incluso en la etapa adulta.

La participación de los estímulos sociales en el desarrollo del neonato ha sido poco estudiada en los animales. Sin embargo, en los humanos la participación de dichos estímulos se ha tomado en cuenta desde los años 30's. En la rata, aunque las crías

permanecen en contacto constante con sus compañeros de camada durante las primeras semanas postnatales, no existe una interacción social *per se*. Durante este período las crías efectúan la conducta de agrupamiento con la finalidad de regular la temperatura corporal, y por ende, de la camada. Cuando la temperatura del nido se incrementa, las crías se separan, cuando disminuye, se agrupan. Cuando las crías que están en la superficie de la camada se enfrían se mueven hacia el centro de la aglomeración, y las que estaban en el centro son desplazados hacia fuera, proceso que se repite continuamente. Se ha encontrado que el contacto con la camada reduce la emisión de vocalizaciones ultrasónicas, evento que es evocado ante la ausencia de la madre. Así, cuando alguna cría es aislado socialmente durante el periodo postnatal temprano (la ausencia de la madre y de sus hermanos), ésta emite vocalizaciones ultrasónicas y movimientos de búsqueda con la finalidad de reunirse con la madre y la camada. Una vez que la cría es acarreada por la madre hacia el nido, las vocalizaciones y los movimientos se suspenden (Hofer 1978, 1994). Después del destete, la interacción social con sus conespecíficos a través del juego, es esencial en la continuidad del desarrollo de conductas de afiliación (Panksepp 1981). Si algún animal juvenil se le aísla socialmente y se evita que interaccione (juegue) con sus conespecíficos de la misma edad, cuando llega a la etapa adulta, tendrá problemas en ejecutar toda la gama de componentes conductuales de la cópula (Harlow 1986) o en interaccionar con sus propios hijos. Por otro lado, la experiencia con crías extraños durante la etapa juvenil favorece la expresión de la conducta maternal hacia sus propias crías, cuando son adultas.

I.11. Manipulación vs. separación maternal

Entre los paradigmas experimentalmente más usados para evaluar el papel de la experiencia temprana sobre los diversos procesos fisiológicos del desarrollo esta la *manipulación* y la separación maternal. La *manipulación* de las crías incrementa el nivel de lamido, es decir, al disminuir el número de crías dentro de la camada o sustraer del nido a las crías durante un corto periodo de tiempo (5-20 minutos). De tal manera que, cuando se regresan las crías al nido, las madres emplean mayor tiempo lamiéndolas (Lee y William 1974). Fleming y cols. (2002) han encontrado una correlación positiva entre tiempo total que emplean las madres lamiendo a las crías respecto del tiempo que las crías lamen a su camada, cuando son adultas. A este tipo se transmisión de fenotipos conductuales de

madres a hijas (i.e. se transmiten hasta la segunda generación) es considerado un mecanismo de transmisión no-genómica o transmisión intergeneracional, donde no se involucran procesos de aprendizaje, genéticos ni de imitación.

La separación maternal por periodos variables de tiempo (3-24 hrs. diarias) en el periodo postnatal temprano reduce la frecuencia y el tiempo de lamido (anogenital y corporal) y el tiempo de exposición al olor del nido, al de sus hermanos y al de su madre (González y cols. 2001, Lovic y cols. 2001). Este procedimiento afecta negativamente el desarrollo de los sistemas neuroquímicos, neuroanatómicos, sensoriales de percepción, de reconocimiento y emocionales de las crías. Se han reportado efectos a corto plazo que se manifiestan poco después de la separación maternal y a largo plazo que permanecen meses o años. El impacto que tiene el cuidado maternal sobre las crías en el periodo postnatal temprano se ha determinado en la rata, en los primates no-humanos y en el humano. Por ejemplo, se ha encontrado que la separación de los infantes de sus madres en el periodo postnatal temprano afecta negativamente el establecimiento de la unión madre-bebé, el apego y una inadecuada expresión de la conducta maternal (mala madre) hacia sus propios hijos, cuando llegan a ser madres. Incluso, hijas de padres abusivos tienden a comportarse de similar manera con sus propios hijos (Werner 1989). Incluso, se ha encontrado que la separación maternal total afecta negativamente el desarrollo de la conducta maternal, cuando son juveniles o adultas. Sin embargo, la presencia de un conoespecifico de la misma edad y sexo, durante el período de aislamiento, revierte totalmente los efectos negativos de la separación maternal total. Además, se ha reportado que la separación maternal durante el periodo postnatal temprano afecta negativamente el desarrollo del sistema de respuesta al estrés (Hofer y Shair 1978).

I.12. Participación de la prolactina en el desarrollo del sistema dopaminérgico y en la conducta maternal

Cuando la interacción madre-crías se altera o se interrumpe por causas naturales o experimentales, como el estrés social o la separación maternal, el desarrollo normal de los sistemas involucrados se modifica negativamente. Existen muchas evidencias relacionadas con los efectos de la separación maternal sobre el desarrollo del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal que regula la emotividad de los animales. Sin embargo, se conoce poco respecto a los factores que participan en el desarrollo de la conducta maternal, sistema conductual esencial en el desarrollo del individuo. Fleming y cols. (2002) reportaron que la separación maternal parcial o total (durante todo el periodo postnatal) afecta negativamente la expresión normal de la conducta maternal, cuando las hembras son juveniles o adultas (Gonzalez y cols. 2001). El efecto negativo de la separación maternal se revirtió parcialmente cuando se proveyó de estímulos táctiles (simulando los lamidos de la madre), sociales y odoríferos durante la crianza artificial. (Gonzalez y cols. 2001, Gonzalez y Fleming 2002, Levy y cols. 2003). Los datos anteriores apoyan la hipótesis de que la participación de los estímulos táctiles, sociales y odoríferos durante el periodo postnatal temprano son importantes en el desarrollo de la conducta maternal y posiblemente de la emotividad. Sin embargo, se desconocen los mecanismos a través de los cuales actúan dichos estímulos.

Durante la separación maternal, las crías son privadas de los estímulos maternos, sociales de la camada y de la leche materna, y por consiguiente de los componentes bioactivos presentes en ésta, tales como: enzimas, citocinas, anticuerpos, factores de crecimiento, prostaglandinas, hormona de crecimiento y prolactina (Porter y cols. 1991, Ellis y cols. 1996, Koldovsky 1996). Es posible que junto con los estímulos maternos alguno de los componentes de la leche participe en el desarrollo de la conducta maternal. Es decir, que la ausencia de uno, o de ambos factores, como ocurre durante la separación maternal, interfiera con el desarrollo normal de los sistemas en cuestión. El hecho de que la sustitución de los estímulos táctiles, sociales y odoríferos prevenga el efecto negativo de la separación maternal, sugiere la posibilidad de que éstos inducen la liberación de hormonas endógenas (prolactina; como ocurre en ratas juveniles y adultas) involucradas en la regulación de la conducta maternal, y de esta manera estas hormonas modulen el desarrollo de la conducta maternal y de la emocionalidad de las crías.

Se ha propuesto que la prolactina es un componente putativo bioactivo de la leche involucrado en el desarrollo del organismo del neonato (Ellis y cols. 1996). La prolactina es una hormona polipeptídica sintetizada y secretada principalmente en los lactotrópos de la hipófisis anterior. Su secreción se induce por factores como: la succión, la proalctina (autorregulación), y los estímulos táctiles, auditivos y odoríferos provenientes de las crías (Terkel y cols. 1979, Mena y Grosvenor 1971, Sakaguchi y cols. 1996, Freeman y cols. 2000) y es inhibida por la dopamina proveniente del sistema dopaminérgico tuberoinfundibular (Mena y Grosvenor 1971, Jakobowski y Terkel 1986). La prolactina y su receptor se han localizado en áreas neurales involucradas en la regulación de la conducta maternal como son: el hipotálamo, el área preóptica media, el plexo coroideo, la amígdala, el núcleo arcuato, el núcleo supraóptico y el paraventricular (Paut-Pagano y cols. 1993, Bakowska y Morrell 1997). Incluso, existe un incremento en la densidad del receptor a prolactina al final de la gestación y durante la lactancia en las áreas neurales antes descritas. La prolactina participa en más de 300 acciones fisiológicas y conductuales, como son: la homeostasis, el sistema inmune, la conducta sexual femenina, el desarrollo de las glándulas mamarias, la ansiedad, la neurogénesis, la síntesis de leche y el inicio de la conducta maternal (Bridges y cols. 1984, Sakaguchi y cols. 1996, Freeman y cols. 2000, Torner y cols. 2002).

En relación a la conducta maternal, la prolactina estimula el inicio de la conducta maternal al final de la gestación y en hembras ovariectomizadas previamente tratadas con estrógenos y progesterona (Bridges y cols. 1984). Por otro lado, se ha propuesto que la conducta maternal puede inducirse en hembras no-gestantes y en machos juveniles y adultos por factores no-hormonales, mediante la exposición continua de crías extrañas, proceso denominado sensibilización (Rosenblatt 1967). Sin embargo, existen evidencias que han involucrado a la prolactina en dicho proceso como son: a) la exposición de crías extrañas a hembras no-gestantes y machos juveniles o adultos estimula la liberación de prolactina y la expresión de la conducta maternal (Stern y Siegel 1978, Terkel y cols. 1979, Kinsley y Bridges 1988, Sakaguchi y cols. 1996), b) la administración de un antagonista a dopamina (domperidone) incrementa la liberación de prolactina y reduce la latencia para iniciar la conducta maternal en machos adultos (Söderstern y Eneroth 1984), y c) la administración de un agonista dopaminérgico (bromocriptina), que inhibe la liberación de prolactina,

incrementa la latencia para iniciar la conducta maternal en machos juveniles (Kinsley y Bridges 1988).

En la rata, como en otras especies, los niveles de prolactina bioactiva en la leche son altos durante la lactancia temprana (148-400 ng/ml) y bajos durante la lactancia tardía (menos de 50 ng/ml en el día 20 (Grosvenor y Whitworth 1976, Kacsóh y cols. 1993, Ellis y cols. 1996). Cuando las crías ingieren la leche materna, la prolactina se absorbe de manera intacta en el yeyuno-ileon, y se detecta en plasma 30 minutos después (16% de la prolactina que se ingirió en la leche) (Grosvenor y Whitworth 1976, Whitworth y Grosvenor 1978, Gonella y cols. 1989). Aunque se desconocen los cambios que sufre la prolactina después de que ingresa en la sangre de las crías, la prolactina se ha detectado en el área hipotalámica lateral a partir del tercer día de vida (Grillon y cols. 1998). También, se sabe de la presencia del ácido ribonucleico mensajero del receptor para la prolactina en el bulbo olfatorio, el área preóptica media y en la corteza entorrinal de neonatos de cinco días de edad (Freemark y cols., 1996). Además, se presenta un incremento súbito de las células productoras de prolactina (lactotrófos) en la hipófisis anterior a los días 4-5 de edad (Hoeffler y cols. 1985). Estos datos muestran la presencia de prolactina, de su receptor y de células lactotróficas dentro del sistema nervioso en etapas tempranas del desarrollo. Sin embargo, se desconoce qué factores inducen la síntesis de dichas moléculas y si éstos son endógenos o exógenos, así como el significado biológico de su expresión temporal y espacial.

Las primeras evidencias que sugerían la participación de la prolactina o de alguno de los componentes de la leche en el desarrollo, fueron que la leche proveniente de los primeros 4 días de lactancia, pero no de los días 6-7, favorecía el desarrollo y la diferenciación de los lactotrófos en la hipófisis anterior (Hoeffler y cols. 1985, Porter y Frawley 1991) y de las neuronas que participan en la secreción de prolactina (neuronas del sistema dopaminérgico tuberoinfundibular) (Shyr y cols. 1986, Iñiguez y cols. 1990, Porter y Frawley 1991, Shieh y Pan 1999, Shah y cols. 2002). Además, se ha reportado que cultivos *in vitro*, la leche proveniente de la lactancia temprana, pero no de la lactancia tardía, es doblemente efectiva en estimular la diferenciación de los lactotrófos y la liberación de prolactina (Porter y Frawley 1991).

Por otro lado, se ha encontrado que la bioactividad de la prolactina (ensayo de linfoma Nb2) proveniente de leche de la lactancia temprana es 5.8 veces más potente, que la de la lactancia tardía (Kacsoh y cols. 1993). Además, Shyr y cols. (1986) y Shah y cols. (1988) mostraron, que la bromocriptina (agonista dopaminérgico; 125 $\mu\text{g}/\text{rata}/\text{día}$) reduce la concentración de prolactina en el plasma y en la leche, sin abolir la lactancia en hembras lactantes en los días 2-5, pero no en los días 9-12. En éstas deprime el recambio de dopamina en el sistema dopaminérgico tuberoinfundibular a dopamina e incrementa la concentración de prolactina en plasma (hiperprolactinemia). Cuando la administración de bromocriptina se acompañó de prolactina ovina (288 $\mu\text{l}/\text{día}$) se previnieron los efectos negativos.

Para evaluar la posibilidad de que la prolactina de la leche de los primeros días de lactancia participa en el desarrollo de la conducta maternal y la emocionalidad en la rata hembra, nosotros administramos bromocriptina (125 $\mu\text{g}/\text{rata}/\text{día}$) o vehículo a hembras lactantes (días 2 a 5). Después del destete (22-24 días de edad), las hembras juveniles fueron expuestas a crías para inducir la expresión de la conducta maternal (sensibilización). Los resultados fueron que el déficit de prolactina en el periodo postnatal temprano disminuyó significativamente la duración de la postura de amamantamiento sobre las crías, el lamido corporal y el lamido genital. Las hembras mostraron un incremento en la duración y en la frecuencia de conductas no-maternales como son: correr, comer y locomoción (similar a los resultados obtenidos por la separación maternal). Los resultados de la prueba de campo abierto mostraron una disminución significativa en la latencia para entrar al campo abierto, desde una caja de inicio, y un incremento en la frecuencia de erguidos, olfateos y locomoción (cruzamientos), en comparación con el grupo control.

Con respecto a la respuesta emocional, se ha mostrado que la prolactina tiene un efecto neuromodulador de los sistemas conductuales y neuroendocrinos involucrados en la respuesta al estrés. Así: a) la prolactina se libera hacia la sangre en respuesta a factores estresantes (Nelly 1990), liberación que disminuye cuando las ratas juveniles interaccionan dentro del ambiente estresante con un conoespecífico (Wilson y Sullivan 1994), b) se han localizado receptores a la prolactina en la amígdala, que es una área neural involucrada en

la regulación de la emocionalidad (Paut-Pagano y cols. 1993), y c) la prolactina disminuye la responsividad conductual y neuroendocrina del eje hipotálamo-hipófisis-adrenales, por ejemplo, en machos, hembras vírgenes y lactantes disminuye la liberación de corticosterona y hormona adrenocorticotrópica ante una situación de estrés (Torner y cols. 2001, Torner y cols. 2002).

En resumen, la prolactina en los animales adultos estimula el inicio de la conducta maternal y modula la respuesta emocional. En contraste, en neonatos, esta hormona, que se encuentra en altas cantidades en la leche de la lactancia temprana, estimula la diferenciación y desarrollo de los lactotrófos de la hipófisis anterior y de las neuronas del sistema dopaminérgico tuberoinfundibular, además de participar en el desarrollo de la conducta maternal en la rata hembra juvenil.

II. ANTECEDENTES

Se ha propuesto que la prolactina es uno de los factores bioactivos de la leche materna involucrados en el desarrollo de diversos sistemas fisiológicos, inmunológicos y

conductuales. La prolactina, hormona que estimula la conducta maternal, el desarrollo de las glándulas mamarias, la producción láctea y regula la respuesta al estrés ha sido involucrada en el desarrollo de las células productoras de prolactina en la hipófisis anterior (Hoeffler y cols. 1985) y del sistema dopaminérgico tuberoinfundibular (Shah y cols. 1988) durante el periodo postnatal temprano (Ellis y Mastro 1995). De esta forma, se ha encontrado que la aplicación de leche proveniente de hembras en la lactancia temprana, pero no tardía, en cultivo de células de hipófisis anterior, estimula la liberación de prolactina (Hoeffler y cols. 1985). Por otro lado, ha reportado que la administración de bromocriptina (agonista dopaminérgico que inhibe la liberación de prolactina) en los primeros días posparto, a dosis que reducen los niveles de prolactina en la leche, sin bloquear la lactancia, suprime el recambio de dopamina dentro del sistema dopaminérgico de la eminencia media e incrementa la liberación de prolactina en el plasma de la progenie juveniles (Shyr y cols. 1986). Estos datos apoyan la hipótesis de que la prolactina que ingieren las crías en la leche participa en el desarrollo de dichos sistemas y posiblemente también participa en el desarrollo de los sistemas neurales que regulan la conducta maternal y la reactividad emocional.

III. JUSTIFICACIÓN

Teniendo en cuenta que la prolactina proveniente de la leche materna de la lactancia temprana participa en el desarrollo de sistemas neuroendocrinos que regulan la liberación

de prolactina (sistema dopaminérgico tuberoinfundibular). Además, los animales que son aislados durante el período postnatal son privados de los estímulos provenientes de la madre y los compañeros de camada, de la leche materna con todos sus componentes bioactivos, principalmente la prolactina, es posible que la falta de esta hormona en este periodo afecte negativamente el desarrollo del sistema prolactinérgico involucrado en la regulación de la conducta maternal. Incluso, existe la posibilidad de que la adición de estímulos táctiles, sociales y odoríferos del nido, induzca la liberación de prolactina endógena desde la hipófisis anterior de los críos aislados y, de ésta manera se reviertan los efectos negativos de la conducta maternal, causados por la separación maternal. Por otro lado, considerando que la prolactina es un neuromodulador de eventos conductuales y neuroendocrinos ante situaciones de estrés, ya que disminuye la reactividad del sistema de respuesta al estrés (Torner y cols. 2001), es posible suponer que dicho péptido también está involucrado en el desarrollo de dicho sistema (eje hipotálamo-hipófisis-adrenales) durante el periodo postnatal temprano. Por lo tanto, se evaluó, además de la conducta maternal, la reactividad emocional de las ratas hembras juveniles y adultas, a través de la prueba de campo abierto.

Para explorar la posibilidad, de que la prolactina (durante el periodo postnatal temprano) esté participando en el desarrollo de la conducta maternal y la respuesta emocional, en el presente proyecto se realizaron dos experimentos que a continuación se describen: en un primer experimento se provocó un déficit de prolactina durante los días dos a cinco postnatales, por la administración de bromocriptina a las madres lactantes a dosis utilizadas por Shyr y cols. (1986) de esta manera, las crías tomaron leche con niveles bajos de prolactina y posteriormente, se evaluó la expresión de la conducta maternal, a través del proceso de sensibilización, y la respuesta emocional ante un ambiente novedoso (campo abierto) de las hembras juveniles y adultas no-gestantes.

Uno de los criterios que tienen que ser cumplidos para aceptar que un factor (hormonal, proteico, enzimático, etc.) participa en el desarrollo de cierto (s) sistema (s) es que, una vez que se encuentra que la falta de dicho factor, por remoción de la fuente o inhibición de la liberación (como ocurre con la prolactina al administrar bromocriptina) causa

modificaciones en el desarrollo de dicho (s) sistema (s), la adición del factor en cuestión tiene que prevenir la expresión del efecto inicial. Así, para validar la hipótesis del presente proyecto, en un segundo experimento se administró de manera concurrente prolactina ovina y bromocriptina a hembras lactantes durante los días 2-5 postparto y se evaluó la expresión de la conducta maternal y la respuesta emocional de la progenie cuando fueron juveniles y adultas.

IV. HIPÓTESIS

Durante el periodo postnatal temprano, la prolactina participa sobre el desarrollo de la conducta maternal y la reactividad emocional en la rata hembra.

V. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la participación de prolactina durante el periodo postnatal temprano sobre el desarrollo de la conducta maternal y la respuesta emocional en la rata hembra.

V.1. Objetivos específicos

- Determinar el efecto del déficit de prolactina, por la administración de bromocriptina a hembras lactantes, durante el periodo postnatal temprano sobre el desarrollo de la conducta maternal y la respuesta emocional en la rata hembra, juvenil y adulta.
- Determinar el efecto del déficit de prolactina y el reemplazamiento de prolactina ovina durante el periodo postnatal temprano sobre el desarrollo de la conducta maternal y la respuesta emocional en la rata hembra, juvenil y adulta.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

VI.1. Animales

Se utilizaron ratas hembras primíparas de 3-4 meses de edad y crías de 1 a 6 días de edad provenientes de madres donadoras (nodrizas), de la cepa Wistar, del bioterio del Centro de

Investigación en Reproducción Animal, CINVESTAV-Universidad Autónoma de Tlaxcala. Se mantuvieron bajo un esquema de luz/oscuridad: 12:12 horas, la luz se encendió a las 8:00 hrs. de la mañana. La temperatura del bioterio osciló entre 22 y 24 °C. Los animales se les proveyó con alimento balanceado para roedores (Rodent Laboratory Chow 5001; Purina) y agua *ad libitum*.

VI.2. Drogas

Se utilizó bromocriptina de Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, EUA). Se disolvió en una solución de etanol al 20 % a una concentración de 625 µg/ml. Además se usó prolactina ovina de Sigma (L 6520) 1000 I.U., 20-50 UI/mg y se disolvió en carbonato de sodio (NaHCO₃) a una concentración de 1.5 mg/ml.

VI.3. Procedimiento

VI.3.1. Experimento I

En el día del parto (día cero), la camada se ajustó a ocho crías; cuatro hembras y cuatro machos, se pesaron y se regresaron con su madre. A partir del día dos postparto, las

hembras lactantes recibieron 125 μg de bromocriptina en 0.2 ml de solución salina vía subcutánea (s.c.) o vehículo, procedimiento que se repitió diariamente hasta el día cinco postparto. Para eliminar la posibilidad de que la conducta maternal desplegada por las madres influya en el desarrollo de la conducta maternal de las hijas (como se mencionó en la introducción), en los días dos, cuatro, seis y ocho postparto, se registró la conducta maternal de las hembras lactantes (ver adelante). La camada permaneció con su madre hasta el final de la lactancia. Al destete (22 días postnatales), las cuatro hembras juveniles se alojaron en jaulas de acrílico y se formaron tres grupos experimentales: Ia) hembras juveniles, Ib) hembras adultas no-gestantes (vírgenes). Para el experimento Ia, una hembra juvenil de 23 día postnatal de cada grupo experimental (bromocriptina o vehículo), fue colocada en una caja de acrílico individual jumbo (33x53x20 cm) con tiras de papel para que construyera el nido. Al día siguiente (24 día postnatal), se inició el registro de la conducta maternal (ver adelante sensibilización) y se continuó por ocho días seguidos. Se realizaron dos pruebas de campo abierto, después del registro de la conducta maternal del día uno y del día ocho (ver adelante). Para el experimento Ib, las tres hembras juveniles restantes se alojaron dentro de una caja de acrílico hasta la etapa adulta (3-4 meses de edad), momento en que se inició el procedimiento de sensibilización de hembras adultas no-gestantes, similar al utilizado para las hembras juveniles.

VI.3.2. Experimento II

Para apoyar la hipótesis de la participación de la prolactina en el periodo postnatal temprano, en un segundo experimento, se intentó reestablecer el déficit de prolactina endógena causado por la administración de bromocriptina, inyectando junto con la bromocriptina, prolactina ovina durante los mismos días de tratamiento. Es decir, de los días 2-5 postparto, las hembras lactantes recibieron vía s.c. bromocriptina (125 $\mu\text{g}/\text{día}$) + prolactina ovina (300 $\mu\text{g}/\text{día}$ en 0.2 ml) (grupo A) o sólo bromocriptina (grupo B) o sólo vehículo (grupo C). Como en el experimento I, se formaron los siguientes grupos experimentales: IIa) hembras juveniles, IIb) hembras adultas no-gestantes (vírgenes). Se realizaron los mismos procedimientos (utilizados en el experimento I) para el registro de la conducta maternal y para las pruebas de campo abierto.

VI.4. Registro de conducta maternal

La conducta maternal de las hembras juveniles y adultas no-gestantes (sensibilización) se observó cada mañana durante ocho días (hembras juveniles y no-gestantes) o cinco días (hembras lactantes). Se utilizó un programa de cómputo *The Observer* (Noldus) instalado en una computadora portátil (COMPAQ, Mod. AMC20493). En el primer día de observación se colocaron cuatro crías de 1-5 días postnatales (de una madre donadora) en una esquina de la caja de acrílico (Figura 2), opuesta al lugar donde se encontró el nido o donde se encuentre ella (si no hay nido) y se iniciará el registro de la conducta maternal durante 10 minutos. Se registró la frecuencia y duración de las siguientes conductas: acarreo de las crías hacia el nido, olfateo de las crías, lamido del cuerpo de las crías, lamido de la región anogenital de las crías, postura de amamantamiento de baja intensidad, postura de amamantamiento de alta intensidad, jugueteo y/o colgarse de la tapa de la jaula, construcción del nido, correr, morder el piso ó la tapa de la jaula, comer/beber agua permanecer junto o lejos de las crías, atacar a las crías. Al finalizar la observación, las crías se dejaron con las hembras toda la noche.



Figura 2 Esta figura muestra la postura de amamantamiento de la hembra y el lamido genital hacia crías durante el registro de la conducta maternal.

VI.5. Registro de prueba de campo abierto

Se utilizó una caja de madera con el interior pintado de negro (60x60x60 cm) con una entrada a la mitad de uno de los lados de la caja que conecta a una caja de inicio (20x20x40 cm y una puerta corrediza entre ambas cajas). El piso se dividió en 16

cuadrículas de 15x15 cm cada una (Figura 3). La prueba se inició al colocar a la hembra dentro de la caja de inicio por 2 minutos para que se habitúe al nuevo ambiente. Posteriormente, se abrió la puerta de (8x8 cm) y se registró la latencia para que la hembra entre al campo abierto. Una vez dentro, se registró, durante 10 minutos, el número de cruzamientos entre los cuadros periféricos y/o centrales, la duración y frecuencia de erguidos, olfateos, acicalamientos, micción y defecación. Se utilizó un programa de cómputo *The Observer* (Noldus) instalado en una computadora portátil (COMPAQ, Mod. AMC20493), utilizando el mismo sistema de claves al que se utilizó para la conducta maternal (Belzung, 1999).

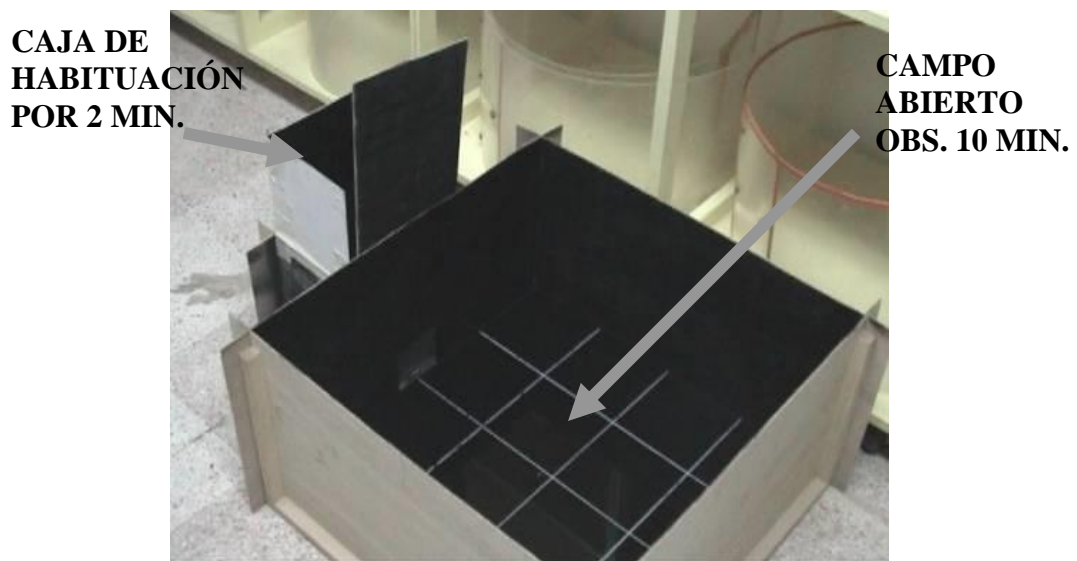


Figura 3 Modelo del campo abierto utilizado para evaluar la respuesta emocional ante el estímulo novedoso.

VII. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

VII.1. Experimentos I y II

Para cada uno de los experimentos se comparó, utilizando la prueba de Kruskal-Wallis para grupos independientes, la frecuencia y duración de cada uno de los componentes

conductuales que se registró obteniendo la media de las medias del total de días de observación de los grupos involucrados: bromocriptina vs. vehículo vs. bromocriptina + prolactina ovina (experimento I). Cuando se encontraron diferencias significativas, se utilizó una prueba *post-hoc* (Dunnett's T3) para comparar la diferencia entre dos grupos individuales. Utilizando el programa estadístico SPSS versión 11.0.

Para evaluar la respuesta emocional, se obtuvo una proporción del número de cuadros cruzados en el centro entre el número total de cuadros cruzados (centro + periferia) y se comparó, utilizando la prueba de Kruskal-Wallis para grupos independientes, entre los grupos bromocriptina vs. vehículo vs. bromocriptina vs. bromocriptina + prolactina ovina usando una serie de pruebas repetitivas de 2 (prueba 1 vs. Prueba 2) x 2 (bromocriptina vs. vehículo, experimento I) o x 3 (bromocriptina vs. bromocriptina + prolactina ovina vs. vehículo, experimento II). Cuando se encontraron diferencias significativas, se utilizó una prueba *post-hoc* (Dunnett's T3) para comparar la diferencia entre dos grupos independientes. Utilizando el programa estadístico SPSS versión 11.0.

VIII. RESULTADOS

Conociendo el efecto que tiene el cuidado maternal sobre el desarrollo de la progenie, durante los primeros días de vida, se registró dicho comportamiento de las hembras tratadas durante los días 1,3, 5 y 7 de lactancia. Así, en la figura 4 se observa que el tiempo

que gastan las madres desplegando la postura de amamantamiento (PA), el lamido genital y corporal, y la permanencia cerca de las crías no fue significativamente diferente entre los grupos experimentales. Además, para eliminar el factor nutricional de la progenie, se registró el peso corporal de las crías durante el período de tratamiento. En la figura 5 se muestra que el peso corporal individual de crías de 7 días postnatales provenientes de los diferentes grupos experimentales no fue significativo. Por otra parte, para determinar si el tratamiento del agonista dopaminérgico: bromocriptina realmente disminuía los niveles circulantes de prolactina, se tomaron muestras de suero hembras lactantes, día 6 postparto, y de sus crías (6 días postnatales) y se determinaron a través de la técnica de Radioinmunoensayo (laboratorio de Dra. Carmen Clapp, UNAM-Juriquilla), los niveles de PRL. Como se puede observar en la figura 6, la bromocriptina disminuyó significativamente los niveles de PRL en suero, tanto en las madres como en las crías, en comparación con los grupos control.

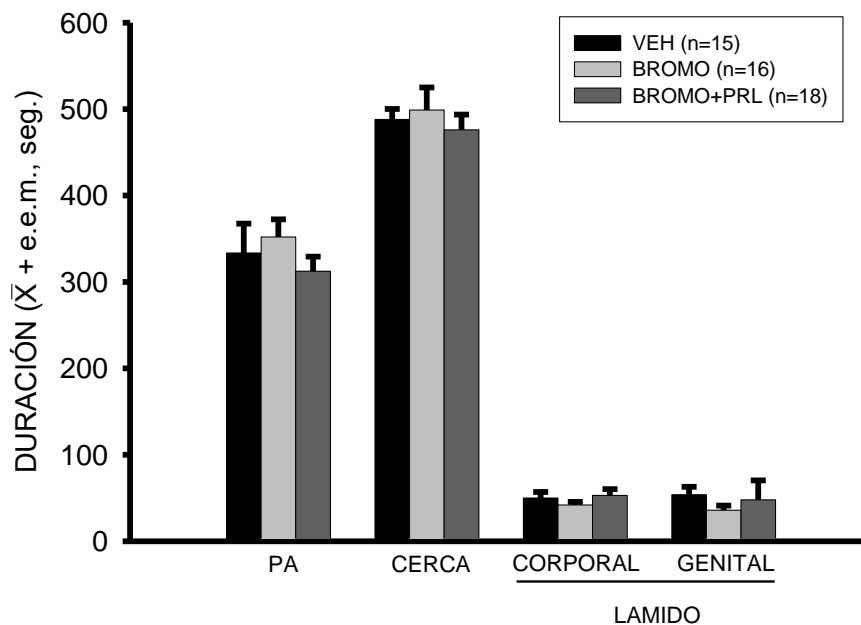


Figura 4 Duración de la postura de amamantamiento (PA), permanencia cerca de las crías (cerca), conducta de lamido corporal y genital. El tiempo en desplegar el cuidado maternal hacia las crías por las hembras tratadas es similar.

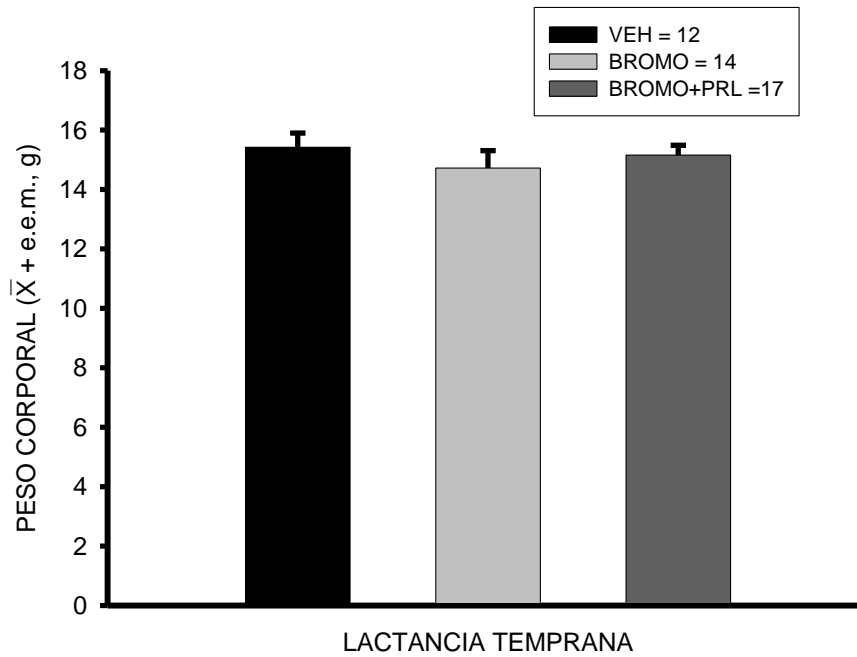


Figura 5 Peso corporal por cría en el día siete de vida. Los datos muestran que no existe desnutrición en las crías.

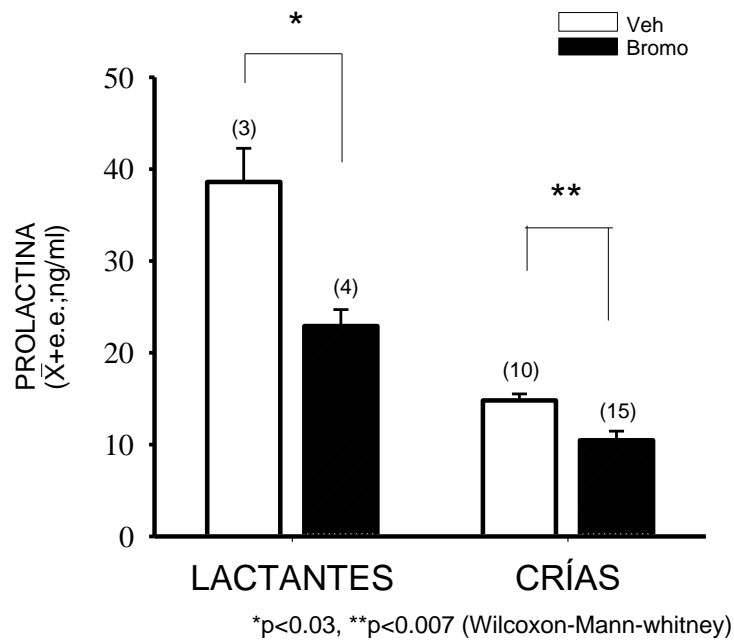


Figura 6 Efecto de la bromocriptina sobre los niveles de PRL en sangre de las hembras tratadas y de las crías provenientes de dichas madres lactantes.

VIII.1. Experimento I: Hembras juveniles

VIII.1.1. Conducta maternal

No se encontró diferencia significativa para la latencia del acarreo de crías al nido maternal en hembras juveniles cuyas madres fueron tratadas con bromocriptina (BROMO; n = 14) en comparación con las hembras juveniles de madres tratadas con vehículo (VEH; n = 12) (Figura 7). Además, las hembras BROMO gastaron significativamente menos tiempo desplegando la postura de amamantamiento, lamiendo el cuerpo y los genitales de los críos, en comparación con las hembras VEH ($p < 0.01$, respectivamente, Figura 8). En relación a la frecuencia de dichas conductas, sólo en el lamido corporal fue significativamente menor a la desplegada por las hembras VEH ($p < 0.001$, $p < 0.01$, respectivamente, Figura 9).

Para tratar de revertir los efectos negativos causados por la administración de BROMO, en un grupo adicional se administró BROMO + prolactina (PRL) durante la lactancia temprana a las madres lactantes y se registró la conducta maternal de las hembras juveniles (hijas de las madres tratadas).

Al comparar la latencia para acarrear a las crías al nido de las hembras juveniles provenientes de madres tratadas con BROMO+PRL con los demás grupos, se encontró que ésta fue significativamente menor que la manifestada por las hembras VEH ($p < 0.01$) y, las hembras BROMO ($p < 0.001$; Figura 7). La co-administración de PRL al tratamiento de bromocriptina (hembras BROMO+PRL), previno el efecto negativo de la bromocriptina, es decir, las hembras juveniles permanecieron más tiempo adoptando la postura de amamantamiento y el lamido corporal que las hembras VEH ($p < 0.05$). Interesantemente, el tiempo que las hembras BROMO+PRL gastaron lamiendo los genitales de las crías fue significativamente mayor, que el utilizado por las hembras BROMO ($p < 0.04$; Figura 8).

En relación a la frecuencia, las hembras BROMO+PRL adoptaron la postura de amamantamiento con mayor frecuencia que las hembras VEH y las BROMO ($p < 0.01$, para ambos grupos; Figura 9). Además, la frecuencia del lamido corporal de dicha hembras hacia las crías fue significativamente mayor que la mostrada por las hembras VEH y BROMO ($p < 0.001$; para ambos grupos Figura 9).

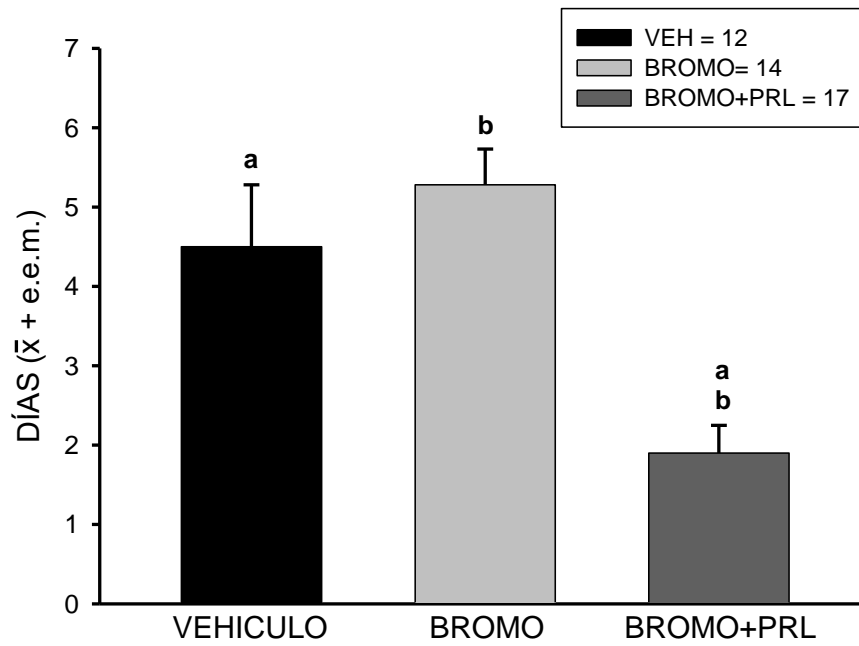


Figura 7 Latencia para iniciar el acarreo de las crías. Los grupos que comparten la misma letra son significativamente diferentes entre sí, $p < 0.05$.

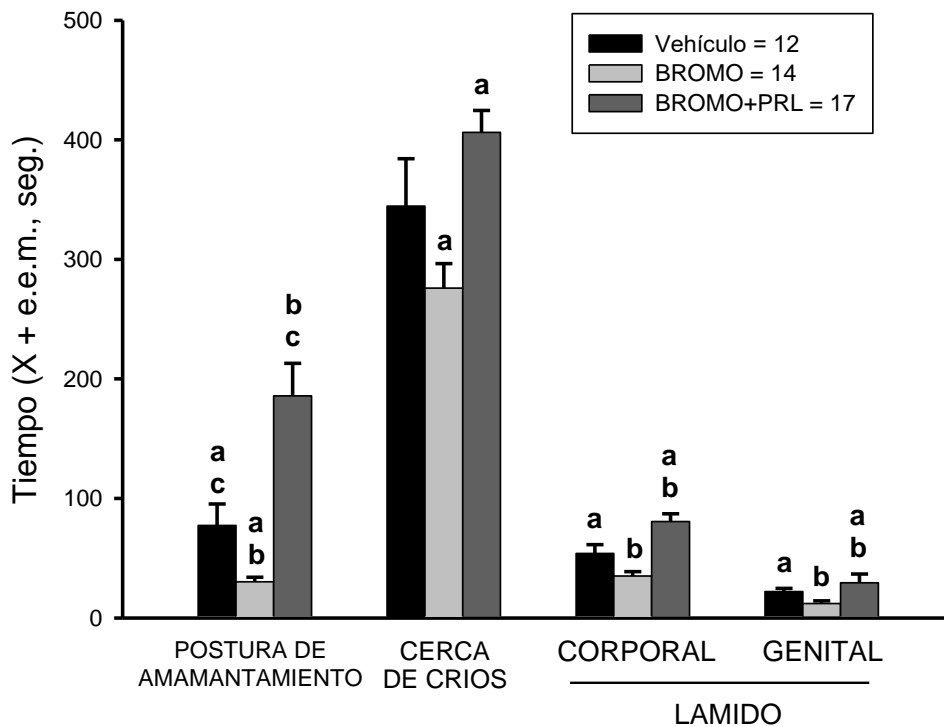


Figura 8 Duración de la postura de amamantamiento (PA), permanencia cerca de las crías (cerca), conducta de lamido corporal y genital. Los grupos que comparten la misma letra son significativamente diferentes entre sí, $p < 0.05$.

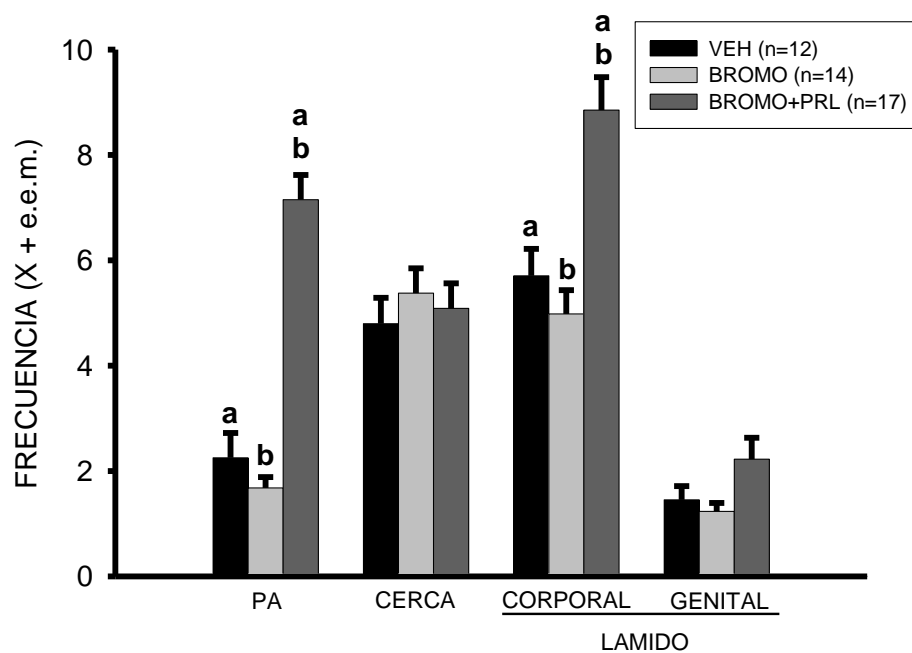


Figura 9 Frecuencia de la postura de amamantamiento (PA), permanencia cerca de las crías (cerca), conducta de lamido corporal y genital. Los grupos que comparten la misma letra son significativamente diferentes entre sí, $p < 0.05$.

VIII.1.2. Conductas no-maternales

Durante las observaciones conductuales, se registraron conductas no-maternales. Así, las hembras BROMO mostraron un incremento significativo en la duración de conductas NO-MATERNALES como: correr, comer y locomoción en general ($p=0.056$, $p<0.01$, $p<0.04$, respectivamente Figura 10) al comparar con las hembras VEH. Además, las hembras BROMO+PRL mostraron un incremento significativo de levantamientos (exploración) que la expresada por las hembras VEH ($p<0.04$; Figura 10) y una disminución significativa del tiempo que dichas hembras gastan corriendo y acicalándose, en comparación con las hembras BROMO ($p<0.01$, $p<0.001$; Figura 10). Incluso, las hembras VEH también mostraron la misma tendencia. Además, la frecuencia del número de veces para correr fue significativamente mayor, en comparación con las VEH ($p=0.056$, Figura 11).

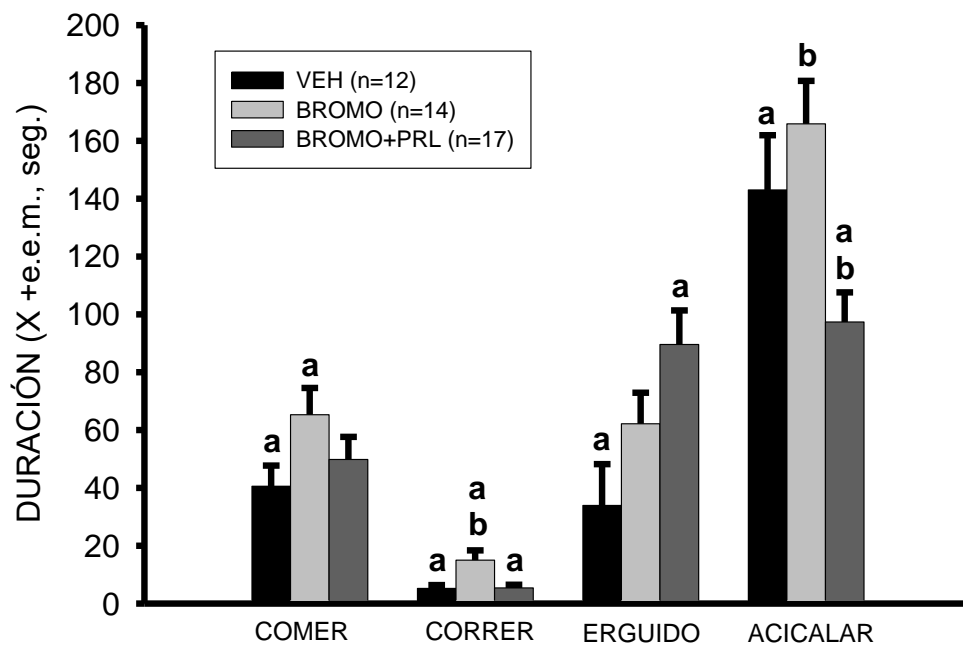


Figura 10 Duración del tiempo en que gastaron para realizar las conductas ingesta, correr, erguido y acicalamiento. Los grupos que comparten la misma letra son significativamente diferentes entre sí, $p<0.05$.

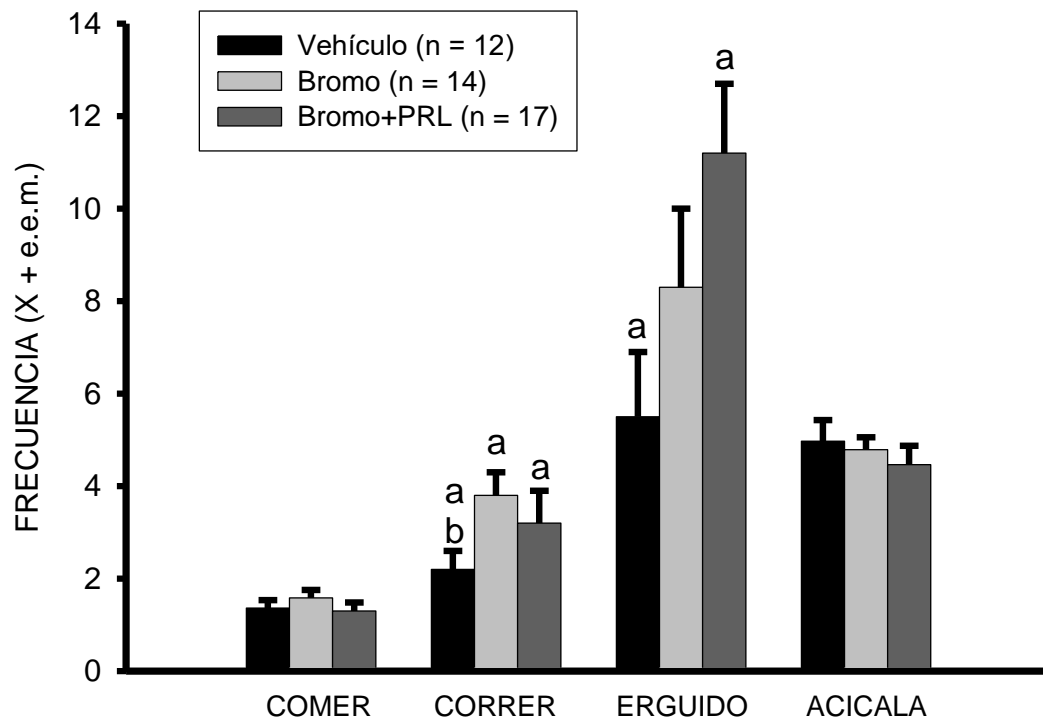


Figura 11 Frecuencia de las conductas ingesta, correr, erguido y acicalamiento. Los grupos que comparten la misma letra son significativamente diferentes entre sí, $p < 0.05$.

VIII.1.3. Campo abierto

La figura 12 muestra que hembras juveniles de madres tratadas con BROMO, manifestaron una menor latencia para entrar al campo abierto en la prueba 1, que la mostrada por las hembras VEH ($p < 0.04$). Además, la frecuencia de locomoción y de investigación (erguidos + olfateos) desplegada por las hembras juveniles de madres tratadas con BROMO+PRL fue mayor comparada con la de las hembras VEH y BROMO ($p < 0.02$, Figuras 13 y 14).

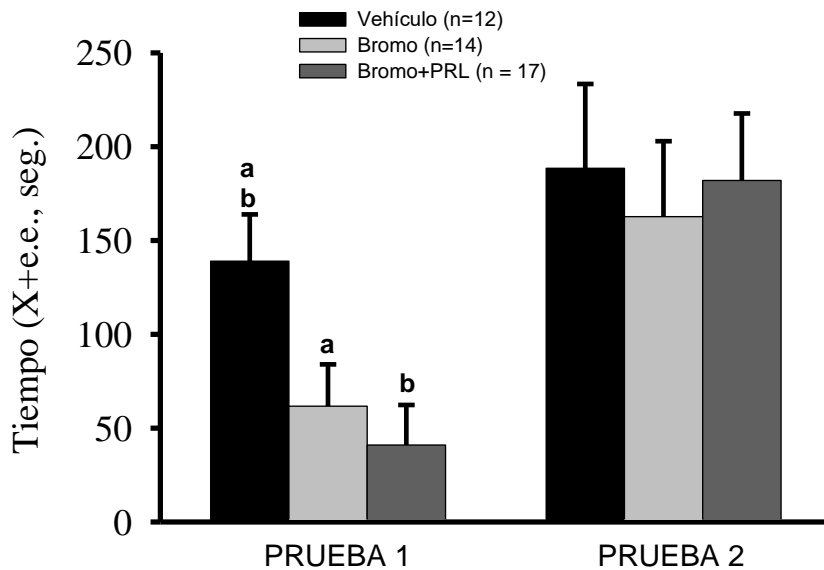


Figura 12 Latencia para entrar al campo abierto. Los grupos que comparten la misma letra son significativamente diferentes entre sí, $p < 0.05$.

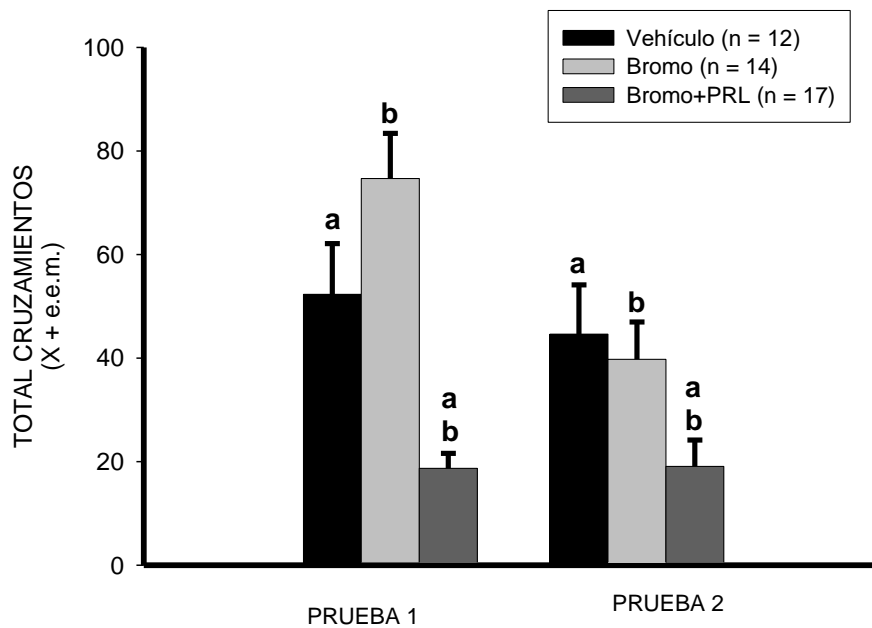


Figura 13 Frecuencia de locomoción. Los grupos que comparten la misma letra son significativamente diferentes entre sí, $p < 0.05$.

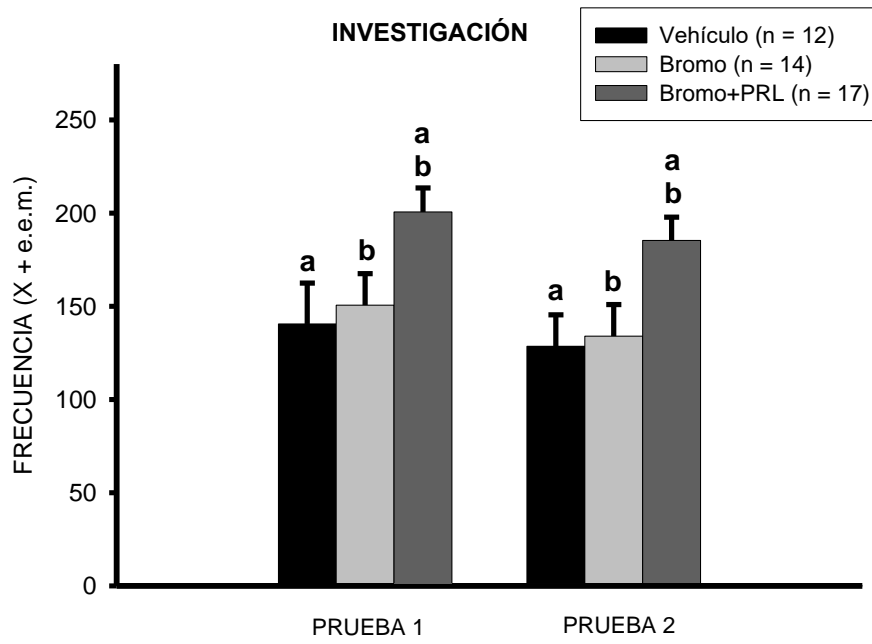


Figura 14 Frecuencia de investigación (ergidos + olfateos). Los grupos que comparten la misma letra son significativamente diferentes entre sí, $p < 0.05$.

VIII.2. Experimento II: Hembras adultas no-gestantes (vírgenes)

VIII.2.1. Conducta maternal

De similar manera, no se encontró diferencia significativa para la latencia del inicio de acarreo de crías al nido maternal en hembras adultas no-gestantes cuyas madres fueron tratadas con bromocriptina (BROMO) en comparación con en hembras adultas no-gestantes cuyas madres fueron tratadas con vehículo (VEH) (Figura 15). En la figura 16, se observa que las hembras adultas no-gestantes BROMO disminuyeron significativamente la postura de amamantamiento, permanencia cerca de las crías, duración del lamido corporal y genital hacia las crías ($p < 0.056$, $p < 0.01$, respectivamente) en comparación con el grupo VEH. De igual forma, en la figura 17 se observa una disminución significativa en la frecuencia del lamido corporal y de los genitales de los críos ($p < 0.04$ para ambas conductas) por parte de las hembras BROMO, en comparación con las hembras VEH.

Las hembras provenientes de madres tratadas con BROMO+PRL en los días 2-5 PP, gastaron significativamente más tiempo cerca de las crías, adoptando la postura de amamantamiento, en comparación con las hembras BROMO ($p < 0.01$, para los dos parámetros; Figura 16). Además, la conducta de lamido corporal y genital disminuyó significativamente en comparación con las hembras VEH ($p < 0.01$, Figura 16).

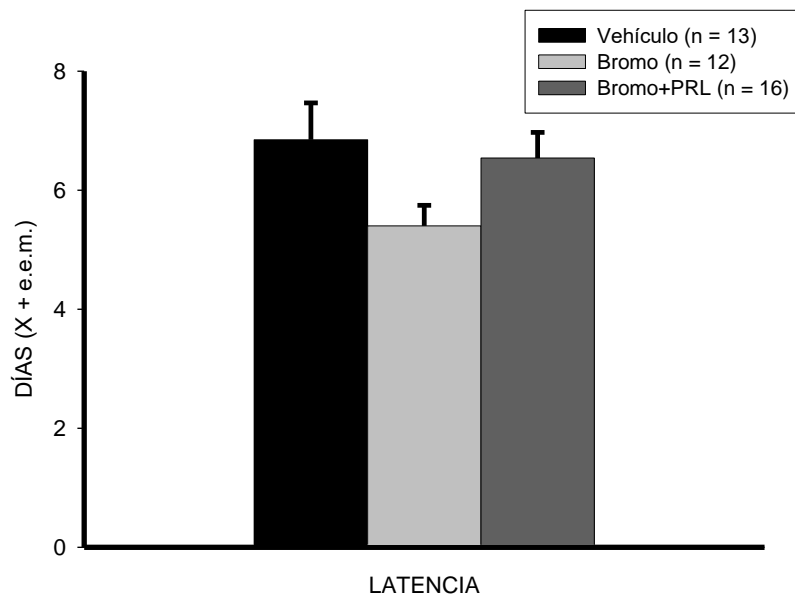


Figura 15 Latencia para iniciar el acarreo de las crías. En esta prueba no se encontró diferencia estadística significativa entre los grupos.

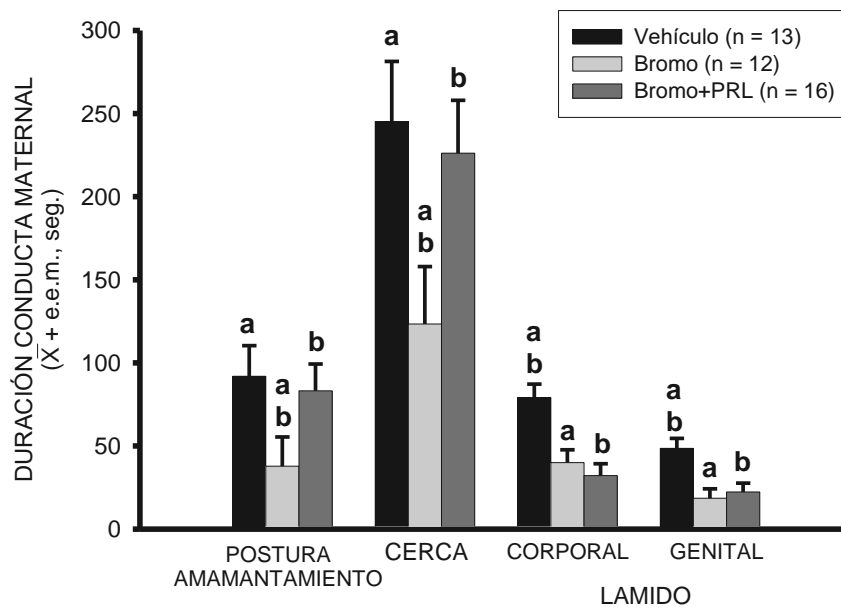


Figura 16 Duración de la postura de amamantamiento (PA), permanencia cerca de las crías (cerca), conducta de lamido corporal y genital. Los grupos que comparten la misma letra son significativamente diferentes entre sí, $p < 0.05$.

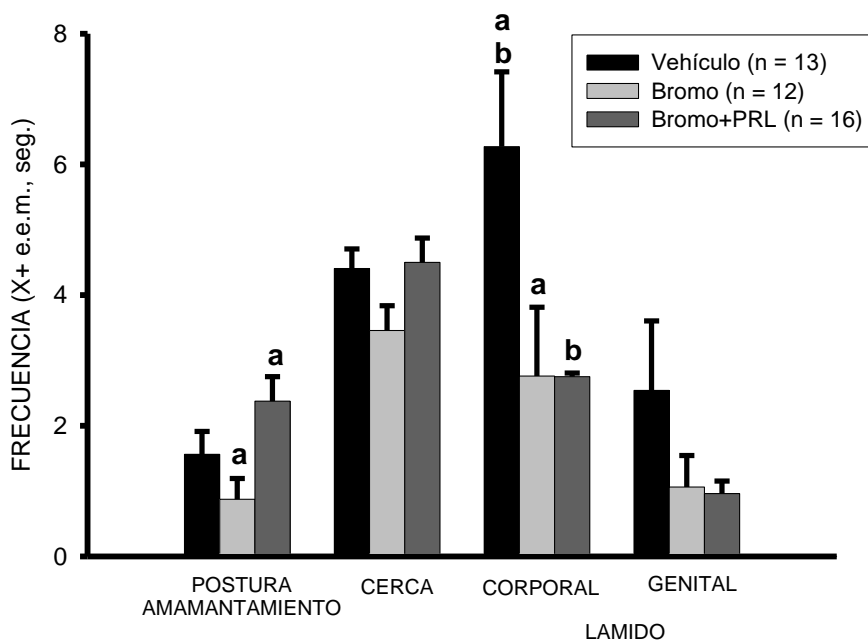


Figura 17 Frecuencia de la postura de amamantamiento (PA), permanencia cerca de las crías (cerca), conducta de lamido corporal y genital. Los grupos que comparten la misma letra son significativamente diferentes entre sí, $p < 0.05$.

VIII.2.2. Conductas no-maternales

Con respecto a las conductas NO-MATERNALES no se encontró diferencia alguna en la duración y frecuencia en comparación con las hembras adultas no-gestantes de madres tratadas con VEH, como se puede ver en las figuras 18, 19. Sin embargo, la co-administración de BROMO+PRL incrementó el tiempo de la conducta de ingesta y de erguido en comparación con el grupo VEH (Figura 18). Además, el grupo BROMO+PRL registró mayor frecuencia de erguidos en comparación con el grupo VEH (Figura 19)

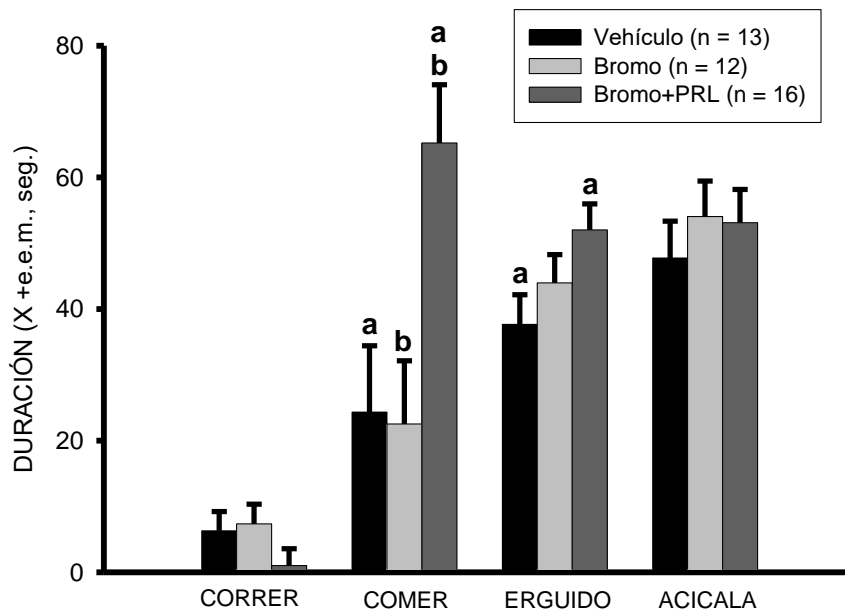


Figura 18 Duración del tiempo en que gastaron para realizar las conductas ingesta, correr, erguido y acicalamiento. Los grupos que comparten la misma letra son significativamente diferentes entre sí, $p < 0.05$.

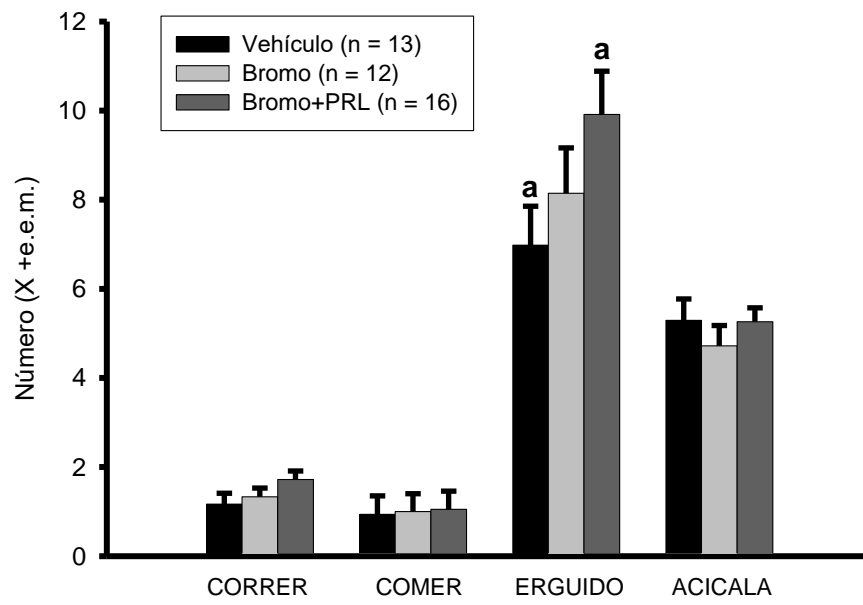


Figura 19 Frecuencia de las conductas ingesta, correr, erguido y acicalamiento. Los grupos que comparten la misma letra son significativamente diferentes entre sí, $p < 0.05$.

VIII.2.3. Campo abierto

De acuerdo a la Figura 17, las hembras adultas no-gestantes de madres tratadas con BROMO mostraron similar latencia para entrar al campo abierto solo en la prueba 1. Sin embargo, la actividad locomotora e investigación registrada por el grupo BROMO+PRL fue significativamente mayor en ambas pruebas comparado con el de las hembras BROMO, $p < 0.05$ respectivamente (ver Figuras 18 y 19).

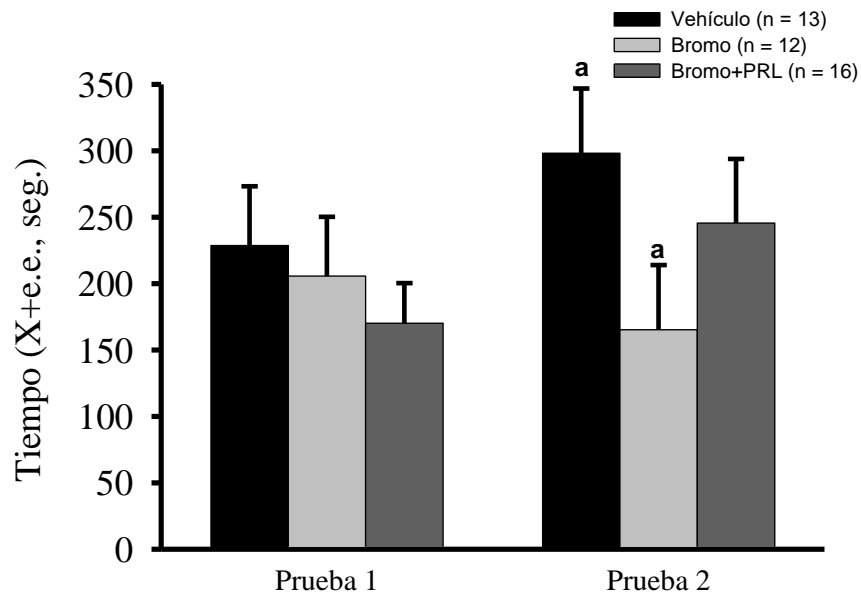


Figura 17 Latencia para entrar al campo abierto. Los grupos que comparten la misma letra son significativamente diferentes entre sí, $p < 0.05$.

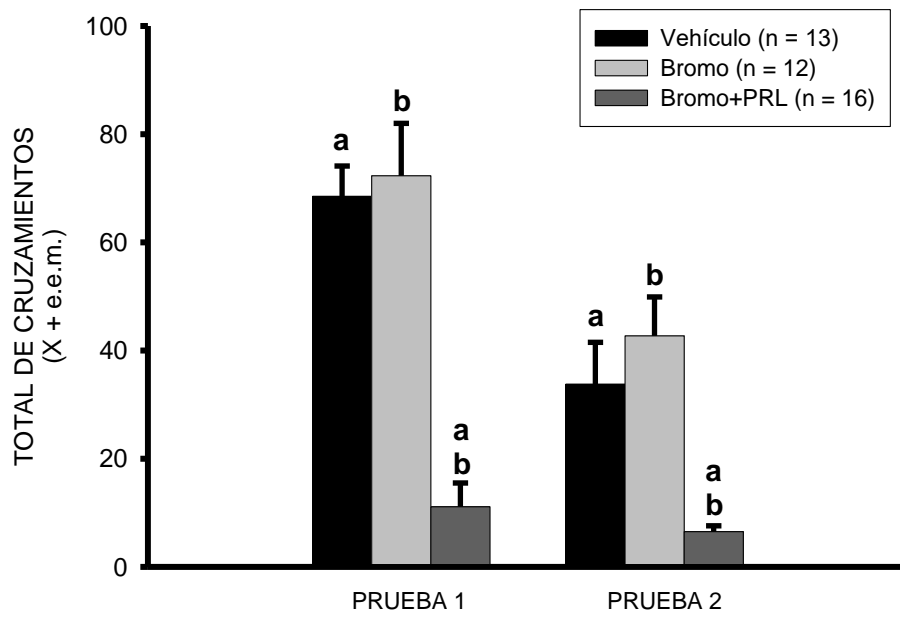


Figura 18 Frecuencia de locomoción. Los grupos que comparten la misma letra son significativamente diferentes entre sí, $p < 0.05$.

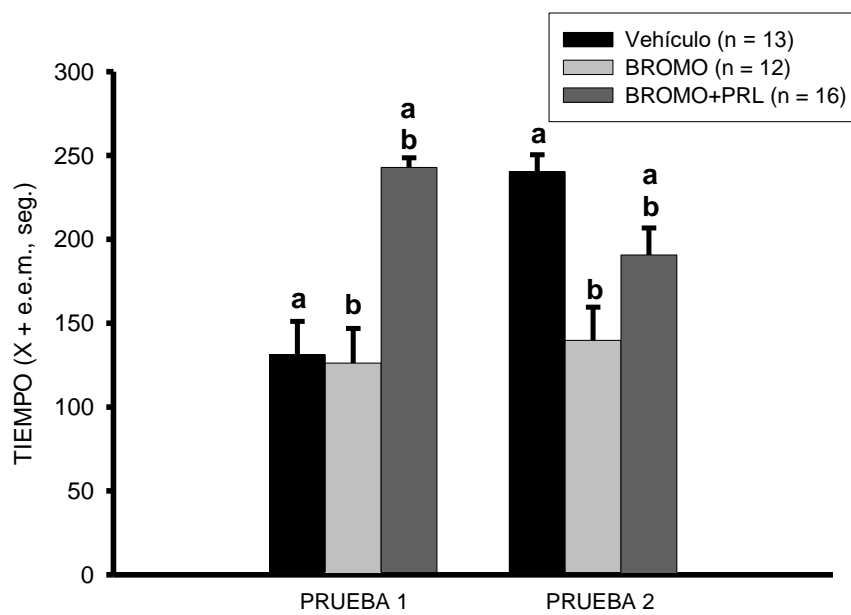


Figura 19 Frecuencia de investigación. Los grupos que comparten la misma letra son significativamente diferentes entre sí, $p < 0.05$.

IX. DISCUSIÓN GENERAL

Los resultados de la presente tesis aportan evidencia de que la prolactina (PRL) que las crías ingieren a través de la leche materna durante el periodo postnatal temprano (PPNT) influye en el desarrollo de la conducta maternal y sugieren su posible participación en el desarrollo del sistema de respuesta al estrés en la *rata* hembra juvenil y adulta no gestante.

Así, el déficit de PRL materna, causado por la administración de bromocriptina a las hembras lactantes durante los días 2 a 5 postparto, redujo significativamente el tiempo que las hembras, juveniles y adultas, gastaron adoptando la postura de amamantamiento (PA) y lamiendo a las crías (corporal y genital) durante la prueba, en comparación con los datos obtenidos de los animales cuyas madres recibieron el vehículo (VEH). Incluso, el tiempo que las hembras cuya madre recibió bromocriptina (BROMO) permanecieron “junto” a las crías, independientemente de la actividad que estuvieran realizando, fue marginalmente menor al utilizado por las hembras VEH. Además, otro de los datos relevantes que apoyan nuestra hipótesis es el hecho que la co-administración de prolactina ovina (PRL_o) con la BROMO, en un grupo adicional, durante similar período postnatal previno los efectos causados por el déficit de PRL materna. Efecto que concuerda con los requisitos experimentales endocrinológicos del “quitar y reemplazar” donde el “quitar” implica remover la fuente de la (s) hormona (s) en cuestión lo cual causa “cierto” efecto endocrinológico-conductual, y el reemplazamiento, sistémica o intracerebral, de dicha (s) hormona (s) previene, o revierte, el efecto inicial (Pfaff y Modianos, 1985). Es decir, nosotros causamos cierto efecto al reducir la liberación de la PRL desde la hipófisis anterior por la administración de bromocriptina, y prevenimos dicho efecto al reemplazar la PRL endógena.

Aunque no se tiene evidencia hasta el momento, es posible especular que la PRL que las crías ingieren a través de la leche materna en los primeros días de vida, viaja hasta las áreas neurales del sistema nervioso involucrado en la regulación de la CM. Esta especulación se basa en el hecho que: 1) los niveles de PRL en la leche de la lactancia temprana son altos, en comparación con los de la lactancia media y tardía (Kacsoh et al, 1989; Ellis y Picciano, 1995; Grosvenor y Whitworth, 1976), 2) la PRL en la leche se absorbe en el yeyuno-ileon de las crías (Grosvenor y Whitworth, 1976), 3) el 16% de la PRL de la leche es detectada

en el plasma de las crías poco después de la succión (Gonella et al, 1989; Whitworth y Grosvenor, 1978), 4) se ha encontrado PRL en el hipotálamo en crías de 3 días postnatales en adelante (Grillon et al, 1998), 5) las células secretoras de PRL (Grillon et al, 1999) y de hormona de crecimiento (Kacsoh et al, 1990) se incrementan abruptamente en las crías de 3-5 días postnatales.

Es necesario enfatizar que la manipulación experimental utilizada en este estudio sólo afectó la expresión “fina”, i.e., reducción en la intensidad de la conducta maternal, pero no la motivación maternal, pues el déficit de PRL, en las hembras BROMO, durante el PPNT sólo afectó la duración de la conducta. Así, la latencia para el acarreo de las crías, un parámetro para medir motivación maternal, no fue significativamente diferente entre las hembras BROMO y las hembras VEH. Esto no es sorprendente ya que muchas conductas se consideran como motivacionales, el control, regulación y/o modulación neural es muy compleja e involucra a varios sistemas neurales. Aunque para la conducta maternal, el control neural esta dado por un sistema denominado “circuito maternal” (núcleo “lecho” de la estría terminalis, septum, amígdala, sustancia gris periacueductal, bulbos olfatorios, núcleo acumbens) se ha propuesto que el área preóptica media (APOm) es la región de integración final de todas las aferencias sensoriales motoras de los núcleos del “circuito” (Numan, 1994; Gonzalez-Mariscal y Poindron, 2002; Oxley y Fleming, 2000). Así, lesiones del APOm en la rata, en etapa juvenil (Cohn y Gerall, 1989) o adulta (Gray y Brooks, 1984; Kalinichev y cols., 2000a), bloquean el inicio y la expresión “fina” de la conducta maternal (Numan, Corodimas, Numan, Factor y Piers, 1988; Kalinichev y cols., 2000b). Estos datos sugieren que el déficit de PRL en el PPNT podría estar afectando sólo algunos componentes celulares del APOm involucrados en la regulación “fina” de la conducta maternal.

La pregunta de cómo la PRL, durante este período crítico, influye en el desarrollo de los sistemas evaluados, no es claro. Sin embargo es posible especular que la PRL que las crías ingieren a través de la leche materna en los primeros días de vida, viaja hasta las áreas neurales del sistema nervioso involucrado en la regulación de la CM e influye en el desarrollo/diferenciación de células somáticas y nerviosas de diversos sistemas durante el período postnatal (Ellis y Cols., 1996; Lorie, Ellis, Mastro y Picciano, 1997; Karabulut y

Parten, 1998; Iñiguez, Tamayo, Romero, Gayoso y De Juan, 1990; Advis, White y Ojeda, 1981; Shieh y Pan, 1999). Esta especulación se basa en el hecho que: 1) los niveles de PRL bioactiva en la leche de la lactancia temprana son altos, en comparación con los de la lactancia media y tardía (Kacsoh et al, 1989; Ellis y Picciano, 1995; Grosvenor y Whitworth, 1976), 2) la PRL en la leche se absorbe en el yeyuno-ileon de las crías (Grosvenor y Whitworth, 1976), 3) el 16% de la PRL de la leche es detectada en el plasma de las crías poco después de la succión (Gonella et al, 1989; Whitworth y Grosvenor, 1978), 4) se ha encontrado PRL en el hipotálamo en crías de 3 días postnatales en adelante (Grillon et al, 1998), 5) las células secretoras de PRL (Grillon et al, 199) y de hormona de crecimiento (Kacsoh et al, 1990) se incrementan abruptamente en las crías de 3-5 días postnatales, 6) crías recién nacidas que son amamantadas por madres lactantes a partir del día 4 postparto no muestran el pico de crecimiento de células lactotropas en la hipófisis anterior característico de las crías amamantadas por madres lactantes a partir del parto (). Incluso, el efecto trófico de la PRL durante el PPNT se ha probado a nivel somático y a nivel neural. Así, se ha reportado que el crecimiento de embriones de rata de 9.5 días dentro de un cultivo con suero sin PRL se retarda notablemente en comparación con aquellos cultivados con PRL humana, de oveja y de rata (Karabulut y Pratten, 1998).

Además, la PRL afecta al sistema inmunológico, reproductor, neuroendocrino. Así, Advis y cols. (1981) han encontrado que la supresión crónica de PRL después del destete, por la administración de bromocriptina, retarda la pubertad, reduce el peso de los ovarios y del útero. Incluso, Shah y cols. (1988) y Shry y cols. (1986) encontraron que el déficit de PRL durante el PPNT causado por el mismo tratamiento que usamos en este trabajo, i.e., bromocriptina, reducía el recambio de dopamina del sistema dopaminérgico del TIDA y una hiperprolactinemia en ratas juveniles, pero dicho efecto no se retenía hasta la etapa adulta. Sin embargo, a diferencia de ellos, nosotros encontramos que el efecto sobre la conducta maternal se presentaba hasta la etapa adulta, pues hembras adultas no gestantes cuyas madres fueron tratadas con bromocriptina durante la lactancia temprana manifestaron similar deficiencia en la expresión de la conducta maternal, incluso, el efecto negativo sobre la postura de amamantamiento y la permanencia cerca de las crías de la bromocriptina se revirtió. Sin embargo, se desconocen las razones por las que el efecto negativo de la bromocriptina sobre el lamido genital y corporal no se revirtió.

En adición a los resultados antes descrito, durante las pruebas de conducta maternal, las hembras juveniles BROMO mostraron un incremento significativo en la expresión de conductas no-maternales, tales como comer y correr. En concordancia con lo encontrado para la conducta maternal, la co-administración de BROMO con PRL, revierte los efectos antes descritos. Estos resultados sugieren que la PRL no sólo participa en regular el desarrollo de la conducta maternal, sino también en modifica sistemas no reproductivos como la ingesta y la actividad locomotora posiblemente a través de modificar otros sistemas dopaminérgicos que regulan la actividad ambulatoria (núcleos talámicos; Shieh y Pan, 1999). Estos resultados concuerdan con lo encontrado en la prueba de campo abierto, donde las hembras juveniles BROMO realizan un mayor número de cruzamientos durante la prueba 1.

Respecto a los resultados del reemplazamiento exógeno de PRL en las hembras juveniles BROMO+PRL, rebasaron nuestras expectativas ya que no sólo revirtió el efecto de la BROMO sino causó, aunque sólo en las hembras juveniles, una mayor responsividad maternal o social (Stern y Siegel, 1978) hacia las crías “extrañas” pues ellas mostraron una menor latencia de acarreo de las crías y el tiempo que gastaron desplegando la PA, el lamido genital y corporal fue mayor que expresado por el grupo VEH, e incluso por el grupo BROMO.

El ¿por qué? el grupo de BROMO+PRL mostró mayor responsividad hacia las crías recién nacidas, y ¿por qué? la latencia fue muy corta, i.e., ¿por qué éstas hembras mostraron mayor motivación maternal?, se desconoce. Sin embargo, se puede especular que la dosis de PRL fue mayor que la requerida, i.e. se causó un efecto de hiperprolactinemia y que este exceso de PRL durante este periodo crítico pudiera causar un mayor efecto en el desarrollo, diferenciación y organización del sistema neural que regula la CM y/o la motivación maternal. Así, teniendo en cuenta la posibilidad de que las crías fueron expuestas a altas concentraciones de PRL durante este período crítico, en un futuro es necesario utilizar diferentes dosis de PRL.

Otra de las posibilidades por las cuales la PRL influye en el desarrollo de la conducta maternal, y la respuesta hacia ambientes novedosos (campo abierto) es que esta hormona

sufre cambios metabólicos. Así, se ha propuesto que la molécula de PRL (23kDa) ejerce muchas de sus funciones a través de los productos de modificaciones post-transcripcionales i.e., la molécula puede sufrir un proceso de fosforilación (tiene efectos antagónicos a PRL), glicosilación (baja la actividad biológica de la PRL) y rompimiento proteolítico de 23 a 16kDa (abole la unión a receptores a PRL y tiene efectos antiangiogénicos; Sinha, 1995; Goffin et al, 2002). La posible participación de cada una de estos compuestos durante los procesos de desarrollo, específicamente aquellos involucrados en este trabajo, queda pendiente para su determinación a través de experimentos dirigidos a evaluar cada una de estas moléculas.

Es necesario señalar que actualmente se está evaluando el efecto del déficit de PRL en el PPNT sobre la expresión de la CM en las hembras lactantes hacia sus propias crías. Ya que existe la posibilidad de que las hormonas de la gestación, sobrepasen el efecto del déficit de PRL y el efecto que se pueda encontrar sea poco significativo. De hecho, para corroborar que el efecto encontrado en las hembras BROMO+PRL, fue causado por el efecto mismo de la PRL, i.e., a los altos niveles de PRL en sangre (hiperprolactinemia), madres lactantes fueron tratadas únicamente con PRL durante los mismos días de tratamiento de los demás grupos (2-5 post-parto) y las crías de éstas fueron sensibilizadas durante la etapa juvenil. Los resultados hasta el momento muestran que las hijas de madres tratadas con PRL gastan significativamente más tiempo desplegando la postura de amamantamiento, lamiendo los genitales y el cuerpo de las crías, en comparación con las hembras BROMO y VEH. Así, estos datos corroboran la participación de la PRL durante este periodo temprano sobre el desarrollo de la conducta maternal en hembras juveniles. No obstante, sería interesante determinar si el efecto persiste hasta la etapa adulta, como ocurre en las hembras BROMO. Incluso, evaluar si el efecto se presenta en hembras lactantes. Para ello, se están diseñando experimentos encaminados a evaluar dicha posibilidad.

El sustento científico del uso del paradigma de “sensibilización” se debe a que aunque se ha propuesto que la “sensibilización” es mediada por factores no-hormonales, se ha reportado que la exposición continua a crías recién nacidas estimula la liberación de PRL en hembras no gestantes y lactantes (Terkel et al, 1979; Sakaguchi y cols., 1996; Stern y

Siegel, 1978; Bridges y Kinsley, 1988). Además, Kinsley y Bridge (1988) encontraron una correlación entre niveles altos de PRL con la expresión de la CM en ratas juveniles sensibilizadas. Es decir, hembras y machos juveniles con altos niveles de CM mostraron altos niveles de PRL en sangre. Además, al administrar un agonista dopaminérgico, droga que inhibe la liberación de PRL, los niveles de PRL en sangre disminuyen y la latencia para iniciar la CM se incrementa. Otro dato que apoya esta hipótesis es el reportado por Södersten y Eneroth (1984), quienes encontraron que la administración sistémica de un antagonista a dopamina en hembras no gestantes expuestas a crías recién nacidas reducían la latencia para iniciar la CM. Rosenblatt, (1967) reportó que factores no hormonales activa la liberación de PRL. Mientras que otros estudios reportan que al administrar antagonistas de dopamina se incrementan los niveles PRL en plasma y de disminuye la latencia para acarreo de críos en animales juveniles y adultos (Terkel y cols., 1979; Sakaguchi y cols., 1996; Stern y Siegel, 1978; Bridges y Kinsley, 1988; Södersten y Eneroth, 1984). Asimismo, estos datos concuerdan con lo encontrado en animales intactos, respecto a la latencia para iniciar conductas maternas en hembras juveniles es de 2-4 días y en hembras adultas vírgenes es de 4-6 días. Incluso, aunque las expectativas del estudio eran que la latencia para acarrear a las crías en las hembras BROMO iba a ser larga en comparación con la de las hembras VEH, esto no contradice el hecho que la deficiencia de PRL en dicho período si modificó de alguna manera aun no demostrada, el desarrollo normal de la CM.

El hecho que el efecto se observó en animales juveniles y adultos sugieren que el efecto persiste más allá de la etapa juvenil, i.e., el efecto se expresa en diferentes periodos de vida; juvenil y adulto. Esto no significa que este estudio tiene una dirección ontogenética, porque no se evaluó el efecto en los mismos animales. Es decir el objetivo era determinar si el efecto encontrado en juveniles, permanecía en animales adultos.

Para determinar si la PRL participa en la inducción de la CM en hembras juveniles y adultas no gestantes, es necesario determinar los niveles de PRL en sangre de éstos animales y correlacionar con los niveles de CM. Pues de acuerdo a la propuesta de Rosenblatt (1981) en la *rata* la CM a través de la sensibilización no es mediada por

factores hormonales, sería necesario realizar otros experimentos, en donde se evalúe dicha participación, p.e., hembras ovariectomizadas más hormonas.

Por otra parte, los datos encontrados en la prueba de campo abierto sugieren que el sistema de respuesta al estrés fue modificado por la falta de PRL en el PPNT. Aunque no es clara la evidencia encontrada en este trabajo, ya que la latencia para entrar al campo abierto, en la prueba 1, de las hembras juveniles BROMO y las del grupo BROMO+PRL fue significativamente menor que el de las hembras VEH. Aunque dichas diferencias no se encontraron en la segunda prueba, esto no es inusual ya que se sabe que la repetición de estas pruebas causa habituación. El hecho que la latencia para entrar al campo abierto fue menor no significa que ellas eran menos estresantes ante ambientes novedosos, sino más bien, coinciden con la propuesta que animales con problemas en la evaluación del riesgo realizan conductas sin medir las consecuencias. A este tipo de eventos también se le conoce como conductas impulsivas, descritas en humanos (Carobrez, A.P. y Bertoglio, L.J., 2005) Entonces es posible suponer que el déficit de PRL durante el PPNT afecte el desarrollo normal de sistemas involucrados en modular la conducta de los animales ante ambientes novedosos, de tal manera que las hembras BROMO expuestas a un campo abierto no miden las consecuencias de salir inmediatamente de la caja de inicio, incluso esta sugerencia se refuerza con observaciones personales de que cuando estas hembras se dan cuenta de donde se encuentran, i.e., ambiente novedoso y posiblemente peligroso, intentan regresar a la caja de inicio y pasan algún tiempo tratando de explorar y abrir la puerta que divide el campo abierto y la caja de inicio. Es interesante señalar que, las hembras BROMO+PRL, en las dos pruebas, exploraron significativamente más dentro del campo abierto que las VEH y las BROMO. Pero, registraron menor locomoción que las VEH y las BROMO, en ambas pruebas. Interesantemente este efecto se replicó en las hembras adultas. Como en la discusión de los resultados de CM, es posible suponer que el exceso de PRL durante el PPNT modifique los sistemas de percepción del ambiente. Para evaluar la anterior posibilidad es necesario realizar experimentos en un futuro.

Por otro lado, la latencia para entrar al campo abierto en la prueba 1 en hembras adultas no gestantes, no se encontró diferencias significativas entre los grupos. Sin embargo, en la prueba 2, la latencia para entrar al campo abierto de las hembras BROMO fue

significativamente menor en comparación con la del grupo VEH. Estos datos, aunque contrarios a los encontrados en las hembras juveniles, apoyan la hipótesis de que el déficit de PRL en el PPNT afecta los sistemas involucrados en la evaluación del riesgo, ya que estas hembras no mostraron una menor latencia para entrar al nido en la primera prueba, sino lo hicieron hasta la segunda. Es decir, la latencia para entrar al campo abierto en la primera prueba fue similar a la mostrada por los demás grupos, pero en la segunda prueba no recordaron que ya habían estado en ese mismo tipo de ambiente novedoso. Además, no se encontraron diferencias en el número de cuadros cruzados entre las hembras VEH y las BROMO, pero el grupo BROMO+PRL registró significativamente menor cantidad de cuadros cruzados comparado sólo con las hembras VEH, en ambas pruebas, como lo hicieron las hembras juveniles.

Estudios preliminares realizados con el laberinto elevado en cruz (LEC) muestran que hembras BROMO pasan más tiempo en los brazos cerrados que en los abiertos, sugiriendo que estas hembras son más ansiosas ante este tipo de ambiente novedoso (Melo y cols., 2006). A diferencia de lo encontrado en las hembras, machos adultos cuya madre fueron tratadas con BROMO en la lactancia temprana, gastaron más tiempo en los brazos abiertos que en los brazos cerrados, sugiriendo que son menos ansiosos. Denotando así la posible existencia de un efecto sexualmente dimórfico de la PRL en el PPNT.

Así, estos en conjunción con lo reportado en este trabajo nos sugieren que la PRL durante el período en cuestión participa en el desarrollo del sistema de respuesta al estrés y la ansiedad.

X. CONCLUSIONES

- La prolactina que ingieren las crías a través de la leche materna durante el periodo postnatal temprano influye en el desarrollo la conducta maternal.
- La prolactina que ingieren las crías a través de la leche materna durante el periodo postnatal temprano modula el desarrollo del sistema de respuesta conductual al estrés.

XI. PERSPECTIVAS

- Evaluar la responsividad de los sistemas que regulan la atención.
- Evaluar la responsividad del circuito maternal de sujetos privados de prolactina en el postparto ante el estímulo de los críos.
- Para corroborar el efecto del déficit de prolactina en el periodo postnatal temprano, es necesario utilizar otros paradigmas experimentales: cross fostering (hembras en día postparto siete con críos recién nacidos, hembras en día postparto cero con críos en día de lactancia siete y hembras en día postparto cero con críos recién nacidos).
- Evaluar el sistema de respuesta al estrés con otros paradigmas experimentales: laberinto elevado en cruz, conducta de enterramiento.
- Evaluar la propiedad trófica de prolactina en el periodo postnatal temprano.
- Evaluar al sistema que regula la expresión de la conducta maternal a través de inducir en animales ovariectomizados la conducta maternal por tratamiento de estrógenos y progesterona, de esta manera se evaluaría la responsividad del animal que fue privado de prolactina en el periodo postnatal temprano ante estímulos hormonales que normalmente inducen conducta maternal con latencia corta.

XII. REFERENCIAS

1. Advis JP, Smith W y Ojeda SR. 1981. Delayed puberty induced by chronic suppression of prolactin release in the female rat. *Endocrinology* 109: 1321-1330.
2. Arita J, Kojima Y y Kimura F. 1991. Identification by the sequential cell immunoblot assay of a subpopulation of rat dopamine-unresponsive lactotrophs. *Endocrinology* 128: 1887-1894.
3. Bakowska JC y Morrell JI. 1997. Atlas of the neurons that express mRNA for the long form of the prolactin receptor in the forebrain of the female rat. *J Comp Neurol* 386: 161-177.
4. Bauer JH. 1983. Effects of maternal state on the responsiveness to nest odors of hooded rats. *Physiol Behav* 30: 229-232.
5. Beach FA y Jaynes J. 1954. Effects of early experience upon the behavior of animals. *Psychological Bulletin* 51: 239-263.
6. Bell RW. 1979. Ultrasonic control of maternal behavior: Developmental implications. *Amer Zool* 19: 413-418
7. Belzung C. 1999. Measuring rodent exploratory behavior. En: *Handbook of Molecular genetic techniques for brain and behavior research (Techniques in the behavioural and neural sciences, Vol. 13)* Crusio WE y Gerlai RT (eds.) Editorial Elsevier. Amsterdam. pp. 738-749.
8. Bern HA y Nicoll CA. 1968. The comparative endocrinology of prolactin. *Rec Prog Horm Res* 24: 681-720.
9. Bole-Feysot C, Goffin V, Edery M, Binart N y Kelly PA. 1998. Prolactin (PRL) and its receptor: actions signal transduction pathways and phenotypes observed in PRL receptor knockout mice. *Endocr Rev* 19: 225-268.
10. Boockfor FR y Frawley LS. 1987. Functional variations among prolactin cells from different pituitary regions. *Endocrinology* 120: 874-879.
11. Boockfor FR, Hoeffler JP, y Frawley LS. 1986. Estradiol induces a shift in cultured cells that release prolactin or growth hormone. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 250: E100-E103.

12. Bridges RS. 1990. Endocrine regulation of parental behavior in rodents. En: Mammalian parenting: Biochemical, Neurobiological and Behavioral Determinants. Krasnegor NA y Bridges RS (eds.) Editorial Oxford University Press, New York. pp. 93-117.
13. Bridges RS, Dibiase R, Loundes DD y Doherty PC. 1984. Prolactin stimulation of maternal behavior in female rat. *Science*. 227: 782-784.
14. Bridges, R.S., Numan, M., Ronsheim, P.M., Mann, P.E. y Lupini, C.E. (1990). Central prolactin infusions stimulate maternal behavior in steroid-treated, nulliparous female rats. *Proc Natl Acad Sci EUA* 87: 8003-8007.
15. Bridges RS, Zarrow MX, Goldman BD y Denenberg VH. 1974. A developmental study of maternal responsiveness in the rat. *Physiol Behav* 12: 149-151.
16. Brunelli SA, Shindledecker RD y Hofer MA. 1985. Development of maternal behaviors in prepuberal rats at three ages: age-characteristic patterns of responses. *Dev Psychobiol* 18: 309-326.
17. Carobrez AP y Bertoglio LJ. 2005. Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: the elevated plus-maze model 20 years on. *Neurosci Biobehav Rev* 29: 1193-1205.
18. Cohen LE, Wondisford FE y Radovick S. 1996. Role of Pit-1 in the gene expression of growth hormone, prolactin, and thyrotropin. *Endocrinol Metab Clin North Am* 25: 523-540.
19. Cohn J y Gerall AA. 1989. Pre- and postpubertal medial preoptic area lesions and maternal behavior in the rat. *Physiol Behav* 32: 423-444.
20. De Paul AL, Pons P, Auki A y Torres AI. 1997. Heterogeneity of pituitary lactotrophs: immunocytochemical identification of functional subtypes. *Acta Histochem* 99: 277-289.
21. Devito WJ. 1988. Distribution of immunoreactive prolactin in the male and female rat brain: effects of hypophysectomy and intraventricular administration of colchicine. *Neuroendocrinology* 47: 284-289.

22. Devito WJ, Avakian C, Stone S y Ace CI. 1992. Estradiol increases prolactin synthesis and prolactin messenger ribonucleic acid in selected brain regions in the hypophysectomized female rat. *Endocrinology* 131: 2154-2160.
23. Devito WJ, Stone S y Vakian CA. 1991. Stimulation of hypothalamic prolactin release by veratridine and angiotensin II in the female rat: effect of ovariectomy and estradiol administration. *Neuroendocrinology* 54: 391-398.
24. Ellis LA y Picciano MF. 1995. Bioactive and immunoreactive prolactin variants in human milk. *Endocrinology* 136: 2711-2720.
25. Ellis LA, Mastro AM y Picciano MF. 1996. Milk-borne prolactin and neonatal development. *J Mammary Gland Biology Neoplasia* 1: 259-267.
26. Farhbach SE y Pfaff DW. 1982. Hormonal and neural mechanisms underlying maternal behavior in the rat. En: *The Physiological Mechanisms of Motivation*. Pfaff DW (ed.) Editorial Springer-Verlag New York. Heidelberg Berlin. pp. 253-285.
27. Fleming AS y Luebke C. 1981. Timidity prevents the virgin female rat from being a good mother: emotionality differences between nulliparous and parturient females. *Physiol Behav* 27: 863-868.
28. Fleming AS y Rosenblatt JS. 1974. Olfactory regulation of maternal behavior in rats. I. Effects of olfactory bulb removal in experienced and inexperienced lactating and cycling females. *J Comp Physiol Psychol* 86: 221-232.
29. Fleming AS, Kraemer GW, Gonzalez A, Lovic V, Ress S y Melo AI. 2002. Mothering begets mothering: the transmission of behavior and its neurobiology across generations. *Pharm Biochem Behav* 73:61-75.
30. Fleming AS, O Day D.H. y Kraemer GW. 1999. Neurobiology of mother-infant interactions: experience and central nervous system plasticity across development and generations. *Neurosc Biobehav* 23: 673-685.
31. Francis D, Diorio J, Laplante P, Weaver S, Seckl JP y Meaney MJ. 1996. The role of early environmental events in regulating neuroendocrine development. *Psychiatry* 794: 136-152.
32. Freeman ME, Kanyicska B, Lerant A y Nagy G. 2000. Prolactin: structure, function, and regulation of secretion. *Physiol Rev* 80:1523-1631.

33. Freemark M, Driscoll P, Andrews J, Kelly PA y Royster M. 1996. Ontogenesis of prolactin receptor gene expression in the rat olfactory system: potential role for lactogenic hormones in olfactory development. *Endocrinology* 137: 934-942.
34. Fuxe K, Hökfelt T, Eneroth P, Gustafsson JA y Skett P. 1977. Prolactin-like immunoreactivity: localization in nerve terminals of rat hypothalamus. *Science* 196: 899-900.
35. Galef BG. 1990. Tradition in animals: field observations and laboratory analyses. En: Interpretation and explanation in the study of animal behavior. Bkof M y Jamieson D (eds.) Editorial Westriew Press. Boulder, CO. pp. 74-95.
36. Goffin V, Ferrag F y Kelly PA. 1998. Molecular aspects of prolactin and growth hormone receptors. En: Advances in Molecular and Cellular Endocrinology. LeRoith D (ed.) Editorial JAI. London. pp. 1-33.
37. Gonella P, Harnatz P y Walker QA. 1989. Prolactin is transported across the epithelium of the jejunum and ileum of suckling rat. *J Cell Physiol* 140: 138-149.
38. Gonzalez A y Fleming AS. 2002. Artificial rearing causes changes in maternal behavior and c-fos expression in juvenile female rats. *Behav Neurosci* 116: 999-1013.
39. Gonzalez A, Lovic V, Ward GR, Wainwright PE y Fleming AS. 2001. Intergenerational effects of complete maternal deprivation and replacement stimulation on maternal behavior and emotionality in female rats. *Dev Psychobiol* 38: 11-32.
40. González-Mariscal G y Poindron P. 2002. Parental care in mammals: Immediate internal and sensory factors of control. En: D.W. Pfaff, A.P. Arnold, A.M. Etgen, S.E. Fahrbach, R.T. Rubin (Eds.), *Hormones, Brain and Behavior*. Academic Press, San Diego, pp. 215-298.
41. González-Mariscal G, Melo AI, Chirino R, Jiménez P, Beyer C y Rosenblatt JS. 1998. Importance of mother/young contact at parturition and across lactation for the expression of maternal behavior in rabbits. *Dev Psychobiol* 32: 101-111.
42. Gonzalez-Parra S, Chowen JA, Garcia SL y Argente J. 1996. Ontogeny of pituitary transcription factor-1 (Pit-1), growth hormone (GH) and prolactin (PRL) mRNA levels in male and female rats and the differential expression of Pit-1 in lactotrophs and somatotrophs. *J Neuroendocr* 8: 211-225.

43. Goodman L. 1932. Effect of total absence of function on the optic system of rabbits. *Am J Physiol* 100: 46-63.
44. Gray P y Brooks PJ. 1984. Effect of lesion location within the medial preoptic-anterior hypothalamic continuum on maternal and sexual behavior in female rats. *Behavioral Neuroscience* 98: 703-711.
45. Greenan JR, Balden E, Ho TWC y Walker AM. 1989. Biosynthesis of the secreted 24 K isoforms of prolactin. *Endocrinology* 125: 2041-2048,
46. Grillon S, Colard C, Risold PY, Fellmann D y Griffond B. 1998. Ontogenic development of prolactin immunoreactive neurons in the rat lateral hypothalamus. *Neuropeptides* 32: 327-332.
47. Grosvenor CE. 1965. Evidence that exteroceptive stimuli can release prolactin from the pituitary gland of the lactating rat. *Endocrinology* 76: 340-342.
48. Grosvenor CE y Mena F. 1969. Failure of self-licking of nipples to alter pituitary prolactin concentration in lactating rats. *Horm Behav* 1: 85-91.
49. Grosvenor CE y Mena F. 1973. Evidence for a time delay between prolactin release and the resulting rise in milk secretion rate in the rat. *Endocrinology* 58: 31-39.
50. Grosvenor CE y Whitworth NS. 1976. Incorporation of rat prolactin into rat milk in vivo and in vitro. *Endocrinology* 70: 71-79.
51. Grosvenor CE, Maiweg H y Mena F. 1970. A study of factors involved in the development of the exteroceptive release of prolactin in the lactation rat. *Horm Behav* 1: 111-120.
52. Grosvenor CE, Whitworth NS y Mena F. 1981. Evidence that the depletion and release phase of prolactin secretion in the lactating rat have different activation thresholds in response to exteroceptive stimulation from rat pups. *Endocrinology* 108: 820-824.
53. Harlow CM. 1986. *Learning to love: The selected papers of H.F. Harlow*. Praeger. New York.
54. Herrenkohl LR y Campbell C. 1976. Mechanical stimulation of mammary gland development in virgin and pregnant rats. *Horm Behav* 7: 183-197.
55. Herrenkohl LR y Sachs BD. 1972. Sensory regulation of maternal behavior in mammals. *Physiol Behav* 9: 689-692.

56. Ho TWC, Leon FS, Olaso, CH y Walker AM. 1993. Secretion of specific nonphosphorylated and phosphorylated rat prolactin isoforms at different stages of the estrous cycle. *Neuroendocrinology* 58: 160-165.
57. Hoeffler JP, Boockfor FR y Frawley LS. 1985. Ontogeny of prolactin cells in neonatal rats: initial prolactin secretors also release growth hormone. *Endocrinology*. 117: 187-195.
58. Hofer MA. 1978. Hidden regulatory processes in early social relationships. *Perspectives in Ethology*. Klopfer, P. O. G. New York, Plenum Press. 9: 135-166.
59. Hofer MA. 1994. Early relationships as regulators of infant physiology and behavior. *Acta Pediatr Suppl* 397: 9-18.
60. Hofer MA y Shair HN. 1978. Ultrasonic vocalizations during social interactions and isolation in 2-week-old rats. *Dev Psychobiol* 11: 495-504.
61. Iñiguez C, Tamayo P, Romero E, Gayoso MJ y De Juan J. 1990. Alterations in prolactin secretion during the 1st postnatal month following perinatal dopaminergic blockade with haloperidol. *Neuroendocrinology* 51: 700-704.
62. Jakobowski M y Terkel J. 1986. Prolactin release and milk ejection in rats suckling underfeed pups. *Endocrinology* 118: 8-13.
63. Kacsoh B, Meyers JS, Crowley WR y Grosvenor CE. 1990. Maternal modulation of growth hormone secretion in the neonatal rat: involvement of mother-offspring interactions. *Endocrinology* 124: 233-240.
64. Kacsoh B, Terry LC, Meyers JS, Crowley WR y Grosvenor CE. 1989. Maternal modulation of growth hormone secretion in the neonatal rat. I. Involvement of milk factors. *Endocrinology* 125: 1326-1336.
65. Kacsoh B, Veress Z, Avery LM, y Grosvenor CE. 1993. Bioactive and immunoreactive variants of prolactin in milk and serum of lactating rats and their pups. *Endocrinology* 138: 243-257.
66. Kalinichev M, Rosenblatt JS y Morrell JI. 2000a. The medial preoptic area necessary for adult maternal behavior in rats is only partially established as a component of the neural circuit that supports maternal behavior in juvenile rats. *Neuroscience* 114: 196-210.
67. Kalinichev M, Rosenblatt JS, Nakabeppu Y y Morrell JI. 2000b. Induction c-Fos and FosB-like immunoreactivity reveals forebrain neuronal populations differentially

- involved in pup-mediated maternal behavior in juvenile and adult rats. *Journal of Comparative Neurology* 416: 45-78.
68. Karabulut AK y Pratten M. 1998. Species-specificity of growth promoting effects of prolactin during rat embryogenesis. *Anat* 192: 1-12.
69. Kehoe P, Shoemaker WJ, Arons C, Triano L y Suresh G. 1998. Repeated isolation stress in the neonatal rat: relation to brain dopamine systems in the 10-day-old rat. *Neuroscience* 112: 1466-1472.
70. Kinsley CH y Bridges RS. 1988. Prolactin modulation of the maternal-like behavior displayed by juvenile rats. *Horm Behav* 22: 49-65.
71. Koldovsky O. 1996. The potential physiological significance of milk-borne hormonally active substances for the neonate. *J Mam Gland Biol Neoplasia* 1: 317-323.
72. Lashley KS y Russell JT. 1934. The mechanism of vision. XI. A preliminary test of innate organization. *J Genet Psychol* 45: 136-144.
73. Le Blond CP y Nelson WO. (1937). Maternal behavior in hypophysectomized male and female mice. *Am. J. Physiol.* 120: 167-172.
74. Lee, M.S.H. y Williams, D.I. (1974). Changes in licking behavior of rat mother following handling of young. *Anim. Behav.* 36: 79-85.
75. Levy, F., Melo, A., Gonzalez, A., Lovic, V., Antondianis, E., McDonald, R. y Fleming, A. S. Effects of early rearing experiences on learning spatial and non-spatial tasks in rats raised with and without mothers. (en preparacion).
76. Levy, F., Melo, A.I., Galef, B.G., Madden, M. y Fleming, A.S. (2003). Complete maternal deprivation affects social but not spatial learning in adult rats. *Dev. Psychobiol.* 43:177-191.
77. Lovic, V., Gonzalez, A. y Fleming, A.S. (2001). Maternally separated rats show deficits in maternal care in adulthood. *Dev. Psychobiol.* 39: 19-33.
78. Mangurian, L.P., Walsh, R.J. y Posner, B.I. (1992). Prolactin enhancement of its own uptake at the choroid plexus. *Endocrinology.* 131: 698-702.
79. Mayer, A.D. y Rosenblatt, J.S. (1980). Hormonal interaction with stimulus and situational factors in the initiation of maternal behavior in nonpregnant rats. *J. Comp. Psychol.* 94: 1040-1059.

80. Mayer, A.D. y Rosenblatt, J.S. (1984). Parturition changes in maternal responsiveness and nest defense in *Rattus norvegicus*. *J. Comp. Psychol.* 98: 177-188.
81. Mayer, A.D., Carter, L., Jorge, W.A., Mota, M.J., Tannu, S. y Rosenblatt J.S. (1987). Mammary stimulation and maternal aggression in rodents: thelectomy fails to reduce pre- or postpartum aggression in rats. *Horm. Behav.* 21: 501-10.
82. Mayer, A.D., Freeman, N.C. y Rosenblatt, J.S. (1979). Ontogeny of maternal behavior in the laboratory rat: factors underlying changes in responsiveness from 30 to 90 days. *Dev. Psychobiol.* 12: 425-439.
83. Mayer, A.D., Monroy, M.A. y Rosenblatt, J.S. (1990). Prolonged estrogen-progesterone treatment of nonpregnant ovariectomized rats: factors stimulating home-cage and maternal aggression and short-latency maternal behavior. *Horm. Behav.* 24: 342-64.
84. Meaney, M.J., Aitken, D.H., Bhatnagar, S. y Sapolsky, R.M. (1999). Postnatal handling attenuates certain neuroendocrine, anatomical, and cognitive dysfunctions associated with aging in female rats. *Neurobiology of Aging.* 12: 31-38.
85. Melo, A.I., Lovic, V., Gonzalez, A., Madden, M. y Fleming, A.S. (en prep.). Social (PEER)-rearing and nest odor reverses partially the negative effects of complete maternal deprivation on the development of affiliative and social recognition in juvenile and adult rats.
86. Melo, A.I., Lovic, V., Gonzalez, A., Madden, M., Sinopoli, K. y Fleming, A.S. (2006). Maternal and littermate deprivation disrupts maternal behavior and social-learning of food preference in adulthood: tactile stimulation, nest odor, and social rearing prevent these effects. *Dev. Psychobiol.* 48: 209-219.
87. Mena, F. y Grosvenor, C.E. (1971). Release of prolactin in rats by exteroceptive stimulation: sensory stimuli involved. *Horm. Behav.* 2: 107-116.
88. Mena, F. y Grosvenor, C.E. (1971). Release of prolactin in rats by exteroceptive stimulation: sensory stimuli involved. *Horm. Behav.* 2:107-116.
89. Mezey, E. y Palkovits, M. (1982). Two-way transport in the hypothalamohypophyseal system. En: W.F. Ganong y L. Martini (Eds). *Frontiers in Neuroendocrinology*. New York, Raven. p. 1-29.

90. Mukherjee, P., Salada, T., y Hymer, W.C. (1991). Function of prolactin cells in the individual rat pituitary gland is location dependent. *Mol. Cell. Endocrinol.* 76: 35-44.
91. Nakane, P.K. (1970). Classifications of anterior pituitary cell types with immunoenzyme histochemistry. *J. Histochem. Cytochem.* 18: 9-21,
92. Nelly, J.D. (1970.). Effect of "stress" on serum prolactin and luteinizing hormone levels during the estrous cycle of the rat. *Division of basic health Sciences.* 87: 69-73.
93. Nissen, H.W., Chow, K.L. y Semmes, J. (1951). Effects of restricted opportunity for tactual, kinesthetic, and manipulative experience on the behavior of a chimpanzee. *Am. J. Psychol.* 64: 485-507.
94. Numan, M. (1994). Expression of fos-like immunoreactivity in the preoptic area of maternally behaving virgin and postpartum rats. *Neuroscience.* 108: 379-394.
95. Numan, M., Corodimas, K.P., Numan, M.J., Factor, E.M. y Piers, W.D. (1988). Axon-sparing lesions of the preoptic region and substantia innominata disrupt maternal behavior in rats. *Behavioral Neuroscience.* 102: 391-396.
96. Numan, N., Leon, M. y Moltz, H. (1972). Interference with prolactin release and the maternal behavior of female rats. *Horm. Behav.* 3: 29-38.
97. Oliver, C., Mical, R.S. y Porter, J.C. (1977). Hypothalamic-pituitary vasculature: evidence for retrograde blood flow in the pituitary stalk. *Endocrinology.* 101: 598-604.
98. Oxley, G. y Fleming, A.S. (2000). The effects of medial preoptic area and amygdala lesions on maternal behavior in the juvenile rat. *Dev. Psychobiol.* 37: 253-265.
99. Panksepp, J. (1981). The ontogeny of play in rats. *Dev. Psychobiol.* 14; 649-652.
100. Parks, J.S., Adess, M.E. y Brown, M.R. (1997). Genes regulating hypothalamic and pituitary development. *Acta Paediatr.* 86: 28-32.
101. Paut-Pagano, L., Roky, R., Valatx, J., Kitahama, K. y Jouvett, M. (1993). Anatomical distribution of prolactin-like immunoreactivity in the rat brain. *Neuroendocrinology.* 128: 503-510.
102. Pfaff, D. y Modianos, D. (1985). Neural mechanisms of female reproductive behavior. En: N. Adler, D. Pfaff y R.W. Goy (Eds.). *Handbook of Behavioral Neurobiology, Vol. 7. Reproduction.* Vol. 7: 423-493.

103. Popik, P. y van Ree, J.M. (1998). Neurohypophyseal peptides and social recognition in rats. En: I.J.A. Urban, J.P.H. Burbach y D. de Wied (Eds.). Prog. Brain Res. Advances in Brain Vasopressin. 119: 415-436.
104. Porter, T.E. y Frawley, L.S. (1991). Stimulation of prolactin cell differentiation in vitro by milk-borne peptide. Endocrinology. 129:2707-2713.
105. Porter, T.E., Chapman, L.E, Van Dolah, F.M. y Frawley, L.S. (1991). Normal differentiation of prolactin cells in neonatal rats requires a maternal signal specific to early lactation. Endocrinology. 128:792-796.
106. Rees, S., Champagne, F., Chatterjee, M., Meaney. M., & Fleming, A.S. Effects of maternal separation through artificial rearing on estrogen and oxytocin receptor distribution in the brain. In preparation.
107. Riddle, O., Bates, R.W. y Dykshorn, S.W. (1933). The preparation, identification and assay of prolactin-a hormone of anterior pituitary. Am. J. Physiol. 105: 191-216.
108. Rosenblatt, J.S. (1965). The basis of synchrony in the behavioral interaction between the mother and her offspring in the laboratory rat. En: B.M. Foss (ed): Determinants of Infant Behavior. London; Methuen. 3: 3-41.
109. Rosenblatt, J.S. (1967). Nonhormonal basis of maternal behavior in the rat. Science 156:1512-1514.
110. Rosenblatt, J.S. (1975). Selective retrieving by maternal and nonmaternal female rats. J. Comp. Physiol. Psychol. 88: 678-686.
111. Rosenblatt, J.S. (1980). Hormonal and nonhormonal regulation of maternal behavior: a theoretical survey. Reprod. Nutr. Dev. 20: 791-800.
112. Rosenblatt, J.S. (1990). Landmarks in the physiological study of maternal behavior with especial reference to the rat. En: N.A. Krasnegor and R.S. Bridges (eds): Mammalian Parenting: Biochemical, Neurobiological and Behavioral Determinants. New York, Oxford University Press, Chapter 4: 40-60.
113. Rosenblatt, J.S. y Lehrman, D.S. (1963). Maternal behavior of the LABORATORY RAT. En: H.L. Rheingold (ed): Maternal Behavior in Mammals. New York: Wiley. Chapter 1:8-57.

114. Rosenblatt, J.S., Mayer, A.D. y Siegel, H.I. (1985). Maternal behavior among the nonprimate mammals. En: N. Adler, D. Pfaff and R.W. Goy (eds): *Reproduction. Handbook of Behavioral Neurobiology*. Plenum Press, New York. 7: 229-298.
115. Roth, L.L. y Rosenblatt, J.S. (1967). Changes in self-licking during pregnancy in the rat. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 63: 397-400.
116. Sakaguchi, K., Tanaka, M., Ohkuo, T., Doh-ura, K., Fujikawa, T., Sudo, S. y Nakashima, K. (1996). Induction of brain prolactin receptor long-form RNAm expression and maternal behavior in pup-contacted male rats: promotion by prolactin administration and suppression by female contact. *Neuroendocrinology.* 63:559-568.
117. Shah, A., Oxley, G., Lovic, V. y Fleming, A.S. (2002). Effects of early olfactory experiences associated with mother on the development of maternal behavior and olfactory preferences in the adult mother. *Dev. Psychobiol.* 41: 187-196.
118. Shah, V., Shyr, S.W., Grosvenor, C.E. y Crowley, W.R. (1988). Hyperprolactinemia after neonatal prolactin (PRL) deficiency in rats: evidence for altered anterior pituitary regulation of PRL secretion. *Endocrinology.* 182: 1883-1889.
119. Shapiro, S (1971). Hormonal and environmental influences on rat brain development and behavior. En: M.B. Serman, D.J. McGinty and A.M. Adinolfi (Eds). *Brain development and behavior*. New York, 17: 307-333.
120. Sharp, Z.D. (1995). Rat Pit-1 stimulates transcription in vitro by influencing preinitiation complex assembly. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 206: 40-45.
121. Shieh, K.R. y Pan, J.T. (1999). Stimulatory role of prolactin on the development of tuberoinfundibular dopaminergic neurones in prepubertal female rats: studies with cysteamine and somatostatin. *J. Neuroendocrinology.* 11:907-917.
122. Shyr, S.W., Crowley, W.R. y Grosvenor, C.E. (1986). Effect of neonatal prolactin deficiency on prepubertal tuberoinfundibular and tuberohypophyseal dopaminergic neuronal activity. *Endocrinology.* 119: 1217-1221.
123. Siegel, H.I, Clark, M.C. y Rosenblatt, J.S. (1983). Maternal responsiveness during pregnancy in the hamster (*Mesocricetus auratus*). *Anim. Behav.* 31: 497-502.
124. Sinha, Y.N. (1995). Structural variants of prolactin: occurrence and physiological significance. *Endocr. Rev.* 16: 354-369,

125. Söderstern, P. y Eneroth, P. (1984). Effects of exposure to pups on maternal behaviour, sexual behaviour and serum prolactin concentrations in male rats. *J. Endocr.* 102: 115-119.
126. Stern, J.M. (1983). Maternal behavior priming in virgin and caesarean-delivered Long-Evans rats: effects of brief contact or continuous exteroceptive pup stimulation. *Physiol. Behav.* 31: 757-763.
127. Stern, J.M. (1990). Multisensory regulation of maternal behavior and masculine sexual behavior: A revised view. *Neurosc. Biobehav. Rev.* 14: 183-200.
128. Stern, J.M. (1996). Somatosensation and maternal care in Norway rats. En: J.S. Rosenblatt and C.T. Snowdon (eds): *Parental Care: evolution, mechanisms, and adaptative significance.* *Adv. Study Behav.* Academic Press, San Diego, U.S.A. 25: 243-294.
129. Stern, J.M. y Johnson, S.K. (1990). Ventral somatosensory determinants of nursing behavior in Norway rats. *J. Comp. Psychol.* 103: 269-280.
130. Stern, J.M. y Mackinnon, D.A. (1978). Sensory regulation of maternal behavior in rats: effects of pup age. *Dev. Psychobiol.* 1: 579-586.
131. Stern, J.M. y Siegel, H.I. (1978). Prolactin release in lactating, primiparous, multiparous thelectomized and maternal virgin rat exposed to pup stimuli. *Biology of Reproduction.* 19: 177-182.
132. Terkel, J., Damassa, D.A. y Sawyer, C.H. (1979). Ultrasonic cries from infant rats stimulate prolactin release in lactating mothers. *Horm. and Behav.* 12:95-102.
133. Torner, L., Toschi, N., Nava, G., Clapp, C. y Neumann, I.D. (2002). Increased hypothalamic expression of prolactin in lactation: involvement in behavioral and neuroendocrine stress responses. *Eur. J. Neurosc.* 15: 1381-1389.
134. Torner, L., Toschi, N., Pohlinger, A., Landgraf, R. y Neumann, I.D. (2001). Anxiolytic and anti-stress effects of brain prolactin: improved efficacy of antisense targeting of the prolactin receptor by molecular modeling. *Neuroscience.* 21: 3207-3214.
135. Tyson, J.E. (1982). The evolutionary role of prolactin in mammalian osmoregulation: effects on fetoplacental hydromineral transport. *Semin. Perinatol.* 6: 216-228.

136. Velkeniers, B., Hooghe-Peters, E.L., Hooghe, R., Belayew, A., Smets, G., Claeys, A., Robberecht, P. y Vanhaelst, L. (1988). Prolactin cell subpopulations separated on discontinuous percoll gradient: an immunocytochemical, biochemical and physiological characterization. *Endocrinology*. 123: 1619-1630.
137. Werner, E.E. (1989). High risk children in young adulthood: a longitudinal study from birth to 32 years. *Am J Orthopsychiatry*. 59:72-81.
138. Whitworth, N.S. y Grosvenor, C.E. (1978). Transfer of milk prolactin to the plasma of neonatal rats by intestinal absorption. *J. Endocr.* 79: 191-199.
139. Whitworth, N.S. y Grosvenor, C.E. (1984). The effect of exteroceptive pup stimuli on the responsiveness of prolactin release mechanisms to suckling stimuli in the lactating rat. *Endocrinology*. 115: 1135-1140.
140. Wiesner, B.P. y Sheard, N.M. (1933). *Maternal behavior in the rat*. Edinburgh, London, Oliver and Boyd.
141. Wilson, D.A. y Sullivan, R.M. (1994). Neurobiology of associative learning in the neonate: early olfactory learning. *Behav. Neural. Biol.* 61:1-18.