



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA

---

---

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

CONDUCTA MATERNAL Y RESPUESTA AL ESTRÉS DE RATAS  
CRIADAS POR MADRES DE ALTO Y BAJO BOSTEZO

T e s i s  
Para obtener el grado de  
Maestra en Ciencias Biológicas  
P r e s e n t a  
Q.F.B. Araceli Ugarte Rojano

Codirectores de tesis  
Dr. José Ramón Eguibar Cuenca  
Dr. Angel I. Melo Salazar

Tlaxcala, Tlax.

Agosto 2006

Este trabajo fue realizado en el laboratorio de Fisiología de la Conducta y del Control Motor del Instituto de Fisiología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Trabajo parcialmente financiado por CONACYT a través del proyecto 43674-A y VIEP-BUAP I/G/SAL/05 a cargo de José Ramón Eguibar Cuenca.

Durante los cursos de maestría conté con la beca PROMEP-BUAP No. 664.

La maestría en Ciencias Biológicas está registrada en el Padrón Nacional de Posgrado (PNP) CONACyT.



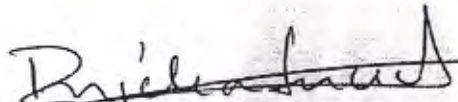
**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA**  
Secretaría de Investigación Científica y de Posgrado  
Coordinación de la División de Ciencias Biológicas  
Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta  
*Maestría en Ciencias Biológicas*

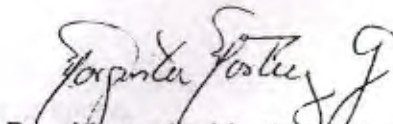
**COORDINACIÓN DE LA MAESTRÍA**  
**CENTRO TLAXCALA DE BIOLOGÍA DE LA CONDUCTA**  
**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA**  
**P R E S E N T E**

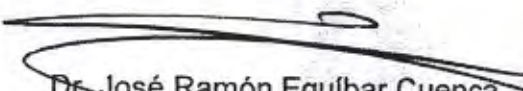
Los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del Proyecto de tesis que la **QFB. ARACELI UGARTE ROJANO** realiza para la obtención del grado de Maestro en Ciencias Biológicas, expresamos que, habiendo revisado la versión final del documento de tesis, damos la aprobación para que ésta sea impresa y defendida en el examen correspondiente. El título que llevará es: **“Conducta maternal y respuesta al estrés de ratas criadas por madres de alto y bajo bostezo”**.

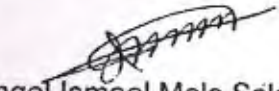
Sin otro particular, aprovechamos para enviarle un cordial saludo.

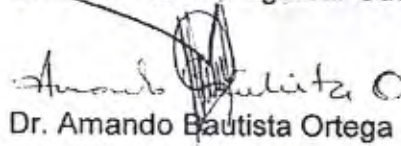
**ATENTAMENTE**  
**TLAXCALA, TLAX., JULIO 8 DE 2006**

  
Dra. Rosa Angélica Lucio Lucio

  
Dra. Margarita Martínez-Gómez

  
Dr. José Ramón Eguíbar Cuenca

  
Dr. Angel Ismael Melo Salazar

  
Dr. Amando Bautista Ortega

  
Dr. Porfirio Carrillo Castilla

Agradezco a los miembros del comité tutorial y revisor por sus valiosas sugerencias y comentarios que fueron de gran ayuda en la elaboración de este trabajo.

A los doctores José Ramón Eguibar y Angel Melo por haber dirigido este trabajo de tesis, por sus enseñanzas y críticas al trabajo, mis más sinceras gracias.

A mis compañeros del laboratorio de Conducta Carmen, Rosa César y Martha que compartieron conmigo los buenos y malos momentos gracias por sus palabras de aliento y su apoyo.

A Jorge García por su valiosa ayuda en la realización de los experimentos y por soportar mis momentos de histeria, gracias Jorgito.

A todos los miembros del Centro Tlaxcala gracias por su apoyo.

A mis padres Soledad y Ramón quienes me alentaron a seguir adelante gracias por su apoyo incondicional y sus consejos.

A mis hermanos Susana, Irma, Antonio, Ramón, Javier y Sergio por haberme apoyado y ayudado a salir adelante en esta fase de mi vida, gracias.

A mis amigas Alicia, Pilar, Elsa, Paty y Miriam, gracias por apoyarme y aguantar juntas los malos ratos.

Esta tesis está dedicada a mi hija Stefany que ha inspirado muchas de mis acciones y decisiones, es mi fuerza para seguir adelante, gracias por tu amor y tu apoyo chaparrita.



## RESUMEN

En el Instituto de Fisiología de la Universidad Autónoma de Puebla se obtuvieron por medio de cruzamientos endogámicos estrictos dos sublíneas de ratas isogénicas que difieren en su frecuencia de bostezo espontáneo, las ratas de alto bostezo o HY (High Yawning por sus siglas en inglés) y las de bajo bostezo o LY (Low Yawning).

Trabajos posteriores en nuestro laboratorio mostraron que estas sublíneas también diferían en otras conductas como son: el aseo, la respuesta al estrés y la conducta sexual masculina. Adicionalmente las hembras HY presentan infertilidad, un menor número de crías al parto y al destete en comparación con las hembras LY. Datos preliminares indicaban que el cuidado materno era diferente entre las sublíneas.

Este trabajo tuvo por objetivo analizar de manera sistemática la conducta maternal en estas dos sublíneas de ratas y compararla con la mostrada por las ratas Sprague-Dawley. Por otro lado era necesario saber si la respuesta al estrés y la misma conducta maternal que presentan estos animales era influenciada por factores epigenéticos como el cuidado materno o era consecuencia del proceso de selección al que fueron sometidos los animales, esto mediante dos paradigmas; hembras que cuidaron a sus propias crías y hembras con intercambio de crías entre sublíneas.

Los resultados obtenidos mostraron que en la conducta maternal de estas sublíneas de ratas están presentes todos los componentes de la conducta (construcción de nido acarreo de las crías, lamido corporal y genital y amamantamiento). Sin embargo, Las principales diferencias encontradas en nuestros animales se presentaron en la construcción del nido y el acarreo de las crías. Las hembras HY construyeron nidos de menor calidad en comparación con las hembras LY y Sprague-Dawley. En relación al acarreo de las crías se presentaron los reacarros, y acarros atípicos sobre todo en las hembras HY con crías propias y con intercambio de crías.

En relación al peso de las camadas los resultados mostraron que las crías Sprague-Dawley y LY pesan más que las HY. Cuando las crías fueron cuidadas por madres de intercambio, las crías LY disminuyeron de peso, esto sugiere un efecto de la madre.

Los resultados de la respuesta al estrés mostraron que las ratas HY criadas por sus madres biológicas se estresan más en el campo abierto en comparación con los animales

LY y Sprague-Dawley. Cuando las ratas HY fueron criadas por madres LY, solamente algunas de las respuestas mostradas en esta prueba se modificaron (visitas al cuadro central, aseo) lo mismo sucedió con los animales LY (aseo, micción). Adicionalmente, las hembras ejecutaron mejor esta prueba que los machos en todos los grupos, sugiriendo que existe un dimorfismo sexual en el desempeño de las conductas analizadas en el campo abierto.

Se encontró un efecto de la madre sobre la duración de la posición de amamantamiento, las hembras HY F1 criadas por madres LY pasaron menos tiempo en posición de amamantamiento en comparación con las hembras HY criadas por sus madres biológicas. El tiempo dentro del nido se afectó en las hembras procedentes de los intercambios, las hembras HY F1 criadas por hembras LY disminuyeron su tiempo dentro del nido. El acarreo de la cola de la madre aumentó en las hembras procedentes de los intercambios en ambas sublíneas de ratas. El peso de las camadas en las hembras F1 que fueron criadas por sus madres fue: crías Sprague-Dawley y LY pesaron más que las camadas de las hembras HY, sin embargo en las hembras procedentes de los intercambios las diferencias en el peso de sus crías desaparecen indicando un claro efecto de la madre sobre esta variable.

En conclusión, la conducta maternal en las hembras HY es deficiente en comparación con la mostrada por las hembras LY y Sprague-Dawley. Algunos de los componentes de la conducta maternal y la respuesta al estrés en las ratas HY y LY son influenciados por factores genéticos y otros por factores epigenéticos (cuidado materno).



## 1. INTRODUCCIÓN

La conducta se define como una secuencia de movimientos espacio temporales que realiza un organismo en respuesta a estímulos internos o externos (Díaz 1985).

La perpetuación de las especies depende del éxito reproductivo, éste reside en el número de crías que sobreviven y que transmiten sus genes a posteriores generaciones (Melo 1999). Por ende una de las conductas importantes en las especies es la sobrevivencia de la progenie.

Las estrategias reproductivas a través de la selección natural dieron lugar a los diferentes tipos de reproducción característicos de cada especie. Esta evolución ocurrió como respuesta a factores extrínsecos a la población (factores ecológicos) como duración de la luz del día, distribución de alimento, presiones de predadores. También a factores intrínsecos: organización social, relaciones entre sexos y entre padres e hijos, esta última dio origen a las conductas parentales (Rosenblatt 1978).

La evolución del cuidado parental y la reproducción en los mamíferos puede ser trazada a los ancestros de los reptiles terápsidos, estos empollaban crías altriciales provenientes de pequeños huevos y los alimentaban de secreciones de glándulas cebáceas modificadas, estableciendo así la lactancia. Sin embargo, la pequeña yema limitaba el tiempo de incubación. Esta situación mejoró en los monotremas los cuales desarrollaron una bolsa que permitía a la hembra movilidad durante el tiempo de incubación. (Rosenblatt y cols. 1985)

El siguiente avance lo realizaron los marsupiales, este género retiene al huevo dentro del útero estableciendo la ovoviviparidad, pero la vida uterina está confinada a la duración del ciclo estral dando origen a dos patrones de reproducción: en el primero la gestación termina antes del final del ciclo estral y el siguiente estro es inhibido por la succión de la cría dentro de la bolsa o unido a las tetillas en las especies carentes de bolsa, el ciclo estral se reestablece cuando el estímulo de la succión disminuye, así la hembra puede quedar preñada nuevamente. En el segundo modo de reproducción la gestación termina poco después del estro permitiendo que la hembra quede preñada nuevamente, el segundo huevo fecundado cesa su desarrollo embrionario (diapausia) mientras la primera

cría está en la bolsa lactando. Una vez que la lactancia disminuye, el segundo embrión termina su desarrollo y entra en la bolsa para amamantarse (Rosenblatt y cols. 1985).

El avance más importante lo presentan los euterianos con el desarrollo de la placenta que permite la transferencia de nutrientes entre la madre y la(s) cría(s) provocando que éstas sean retenidas en el útero por más tiempo, dando como resultado crías más desarrolladas al nacimiento y acortando el periodo de lactancia ((Rosenblatt y cols. 1985).

En los euterianos con crías altriciales (es decir nacen inmaduros tanto funcional como anatómicamente) él o los recién nacidos dependen totalmente de sus padres para su alimentación, protección y termorregulación. Esto implica la rápida manifestación de una conducta de cuidado de la progenie desde el momento del parto, y se conoce como conducta parental si ambos padres intervienen en el cuidado de las crías y maternal cuando sólo interviene la madre (Poindron 2001).

Bridges en 1996 define a la conducta maternal como un grupo de respuestas que la madre despliega antes del nacimiento de las crías, y que se mantienen durante el parto y la lactancia, las cuales ayudan al crecimiento y la sobrevivencia de las mismas.

El grupo de respuestas que conforman la conducta maternal se clasifican en conductas preparto: agresión hacia los intrusos y la construcción del nido (González-Mariscal y Poindron 2002, Melo 1999), conductas postparto: placentofagia e ingestión del fluido amniótico, acarreo de las crías, lamido corporal y genital, amamantamiento, agresión a los intrusos y defensa del nido (Rosenblatt y Lehrman 1963, Kristal, 1980; Mayer y Rosenblatt 1987)

### **1.1 Descripción de la conducta maternal**

El despliegue de la conducta maternal en la rata incluye: construcción del nido, placentofagia, responsividad maternal y acarreo de las crías al nido, aseo corporal y anogenital de las crías, amamantamiento de las crías, conducta de agresión hacia los intrusos (Rosenblatt y Lehrman 1963).

### **1.1.1 Placentofagia**

La placenta es un órgano endócrino que produce hormonas durante la gestación, entre ellas estradiol, progesterona y lactógeno placentario. Durante el parto la mayoría de las hembras de los mamíferos expulsan el feto, la placenta, membranas amnióticas y fluidos, a la acción de consumir las placentas, las membranas y los fluidos se le conoce como placentofagia (Kristal 1980).

La literatura anterior a 1980 proponía varias hipótesis acerca de los beneficios de la placentofagia, algunas sostenían que por medio de la ingestión de la placenta la hembra mantenía limpio el nido y evitaba la muerte de las crías por los depredadores atraídos por el olor (Tinklepaugh y Hartman 1930, Slijper 1960, Fraser 1968, citados en Kristal 1980); otras proponían una preferencia alimenticia por la carne (Tinklepaugh y Hartman 1930, 1932, Lehrman 1961, citados en Kristal 1980), hambre basada en la necesidad de reponer los nutrientes perdidos durante la preñez o el parto (Tinklepaugh y Hartman 1930, Richter y Barelare 1938, citados en Kristal 1980) por mencionar algunas

Sin embargo, la hipótesis más acertada acerca del papel fisiológico de la placentofagia la propuso Kristal en 1991. Sus trabajos en ratas Long Evans y Sprague-Dawley mostraron que la ingestión de la placenta y líquido amniótico ayudaban a la aparición de la conducta maternal. También encontró una sustancia en la placenta y el líquido amniótico llamada factor de reforzamiento opioide placentario, que incrementaba la analgesia mediada por opioides durante el parto y el periodo postparto temprano.

### **1.1.2 Construcción del nido**

La construcción del nido comienza en el día 19 de gestación (la gestación en la rata dura 21-22 días) y proporciona calor y protección a las crías. Dos o tres días antes del parto la hembra acarrea paja con el hocico y las patas delanteras y después lo acomoda alrededor de su cuerpo, cabe mencionar que este nido tiene poca paja en el suelo y las paredes son pequeñas, a este se le denomina “nido pre-parto”. Después del parto la rata construye un nido con paredes altas denominado “nido maternal”. Esta conducta se mantiene durante dos semanas postparto (Rosenblatt y Lehrman 1963).

Giordano y cols. proponen que la conducta de construcción del nido esta mediada por dopamina, ya que al administrar un antagonista dopaminérgico (haloperidol) de manera subcutánea se interrumpe la construcción de nido en ratas lactantes (Giordano y cols. 1990). Silva y cols. (2001) concluyen también que la administración de antagonistas dopaminérgicos D<sub>1</sub> y D<sub>2</sub> (SKF-83566, haloperidol y pimozida) provocan una disminución en el porcentaje de hembras que construyen nido (Silva y cols. 2001).

### **1.1.3 Responsividad maternal y conducta de acarreo**

La responsividad maternal se define como la disponibilidad de la hembra para acercarse a las crías y establecer contacto con ellas. Se sugiere que los eventos fisiológicos y/o endócrinos que ocurren al término de la gestación facilitan la responsividad maternal en las hembras gestante y parturienta (Weisner y Sheard 1993, citado en Numan 1994), en la rata esta disponibilidad se presenta en el segundo tercio de la gestación y se incrementa gradualmente hasta que a las dos horas antes del parto tiene un valor similar al de las hembras parturientas, ésta se cuantifica determinando el tiempo que tarda la madre para acarrear a las crías al nido. Giordano y cols. 1990, Silva y cols. 2001, encontraron que la conducta de acarreo estaba mediada por dopamina ya que al administrar antagonistas dopaminérgicos (haloperidol, pimozida y SKF-83566) el porcentaje de ratas hembras que acarreaban crías al nido disminuía de manera dosis dependiente (Giordano y cols. 1990, Silva y cols. 2001).

### **1.1.4 Lamido corporal y genital a las crías**

El lamido a las crías es una característica de la CM en los mamíferos, durante el parto esta conducta tiene como objetivo remover membranas fetales, secar al neonato y estimular su circulación. Durante la lactancia el lamido ocurre a intervalos frecuentes para facilitar la micción y defecación de las crías, al realizar ésta conducta la madre ingiere la orina y las heces de ellas. Gubernick y Alberts (1983) proponen que esto tiene como objetivo

compensar en parte, la pérdida de líquidos y electrolitos que la madre pierde al estar lactando.

Entre la tercera y cuarta semana de lactancia, las crías empiezan a orinar por sí mismas, lo cual es el resultado de la maduración del sistema renal y de los mecanismos nerviosos encargados del control de la micción. Además, conforme la cría crece las concentraciones de sodio y potasio aumentan en la orina provocando una disminución del lamido genital por parte de la madre (Gubernick y Alberts 1983).

La conducta de lamido anogenital está predominantemente dirigida a las crías macho, posiblemente porque éstas necesitan de una mayor estimulación antes de empezar a orinar y cuando esto ocurre es en grandes cantidades, al contrario de las crías hembra (Clark y cols. 1989, citado en Rovirosa 1997)

Se sabe que una molécula, el dodecil propionato, es la responsable de hacer más atractiva la orina de las crías macho que la de las crías hembra para la madre. El dodecil propionato es una feromona que está presente en las glándulas prepuciales tanto en hembras como en machos, por tanto, se propone que la secreción prepucial actúe como un regulador de la conducta de lamido, permitiendo que la madre reconozca cual cría necesita del lamido anogenital, aunado a lo anterior Moore propone que la orina de las crías hembra y macho es diferente debido a que en los machos los testículos están activos y secretan testosterona durante el periodo neonatal lo cual contribuye a que la orina de las crías macho sea más atractiva par la madre (Moore 1981, 1992a).

### **1.1.5 Amamantamiento**

El amamantamiento en la rata hembra se divide en tres fases según se desarrollan las crías. En la primera fase la hembra juega un rol importante en el inicio de la alimentación, ella se aproxima a las crías dentro del nido, las cubre con su región ventral la cual queda disponible para que las crías se unan a las tetillas. Por su parte, la crías comienzan a buscar entre el pelaje de la hembra y cuando localizan una tetilla se unen a ella con su boca y comienzan a succionar. Esta fase llega a su fin alrededor del día 12 ó 14 de lactancia.

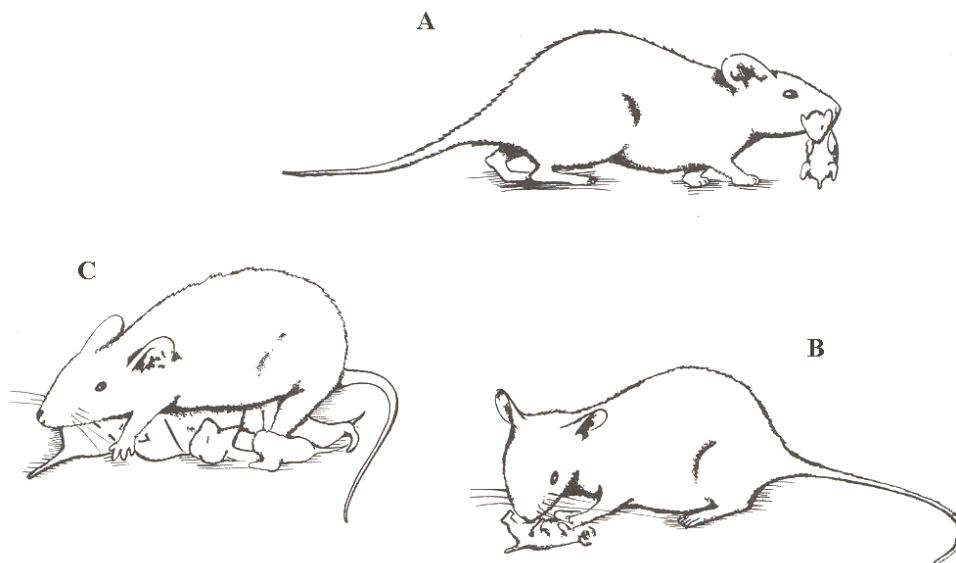
En la segunda fase las crías realizan pequeñas excursiones de manera individual alejándose del nido. Durante estas excursiones las crías se encuentran a la hembra y el



amamantamiento se inicia fuera del nido aparte del resto de la camada, frecuentemente una segunda y tercera cría se unen a la primera para ser alimentadas. Esta manera de alimentar a las crías reemplaza a la primera.

La tercera fase de amamantamiento es más variable en duración que las anteriores, ésta comienza alrededor del día 16 y continúa hasta el destete. En este periodo las crías inician el amamantamiento siguiendo a la hembra, se colocan debajo de su región ventral y buscan las tetillas, una vez localizadas comienzan a succionar. La hembra puede permitir el amamantamiento por un periodo corto mientras ella permanece de pie, o puede recostarse y permitir la succión por largo tiempo.

Al final de la tercera semana la hembra evade frecuentemente el amamantar a las crías de varias maneras, puede alejarse cada vez que alguna de ellas se acerca, también puede presionar su región ventral contra el piso o ponerse de pie y presionarse contra las paredes, esto para mantener la región ventral de su cuerpo y por ende las tetillas fuera del alcance de las crías, esto provoca que éstas busquen otra fuente de alimento (Rosenblatt y Lehrman 1963).



**Figura 1. Representación de las principales conductas maternas.** Acarreo (A), lamido de las crías (B) y amamantamiento (C) (Tomado de Martínez-Gómez y cols. 2002).

### **1.1.6 Agresión a intrusos**

En la rata de laboratorio, las hembras vírgenes no presentan agresión hacia machos conespecíficos. Sin embargo, las hembras preñadas presentan conducta agresiva hacia los machos intrusos. Esta conducta se manifiesta desde 4-6 días antes del parto hasta las dos primeras semanas de lactancia y está asociada a los altos niveles de estradiol que se presentan al final del parto (Mayer y Rosenblatt 1987). Numan ha propuesto que el núcleo peripeduncular está íntimamente ligado a la expresión de dicha conducta, ya que si se daña este núcleo, se interrumpe exclusivamente la agresión sin afectar la conducta maternal (Numan 1999).

La interacción madre-crías es dinámica y cambia conforme las crías crecen por este motivo la conducta maternal se ha dividido en tres fases para su mejor comprensión.

## **1.2 Fases de la conducta maternal**

Después del parto existe un periodo que lleva a la madre a consolidar su responsividad a través de su interacción con los recién nacidos. Los estudios clásicos de Rosenblatt y Lehrman en 1963 en ratas albinas de laboratorio muestran que cuando se retiran las crías durante el parto, la conducta maternal declina rápidamente. Sin embargo, ésta se mantiene cuando se permite a la madre tener contacto con sus crías. Los estímulos sensoriales provistos por los neonatos permiten que la madre mantenga su responsividad maternal una vez que las hormonas implicadas en la conducta maternal retornan a sus niveles basales.

La conducta maternal en la rata lactante puede ser dividida en tres fases:

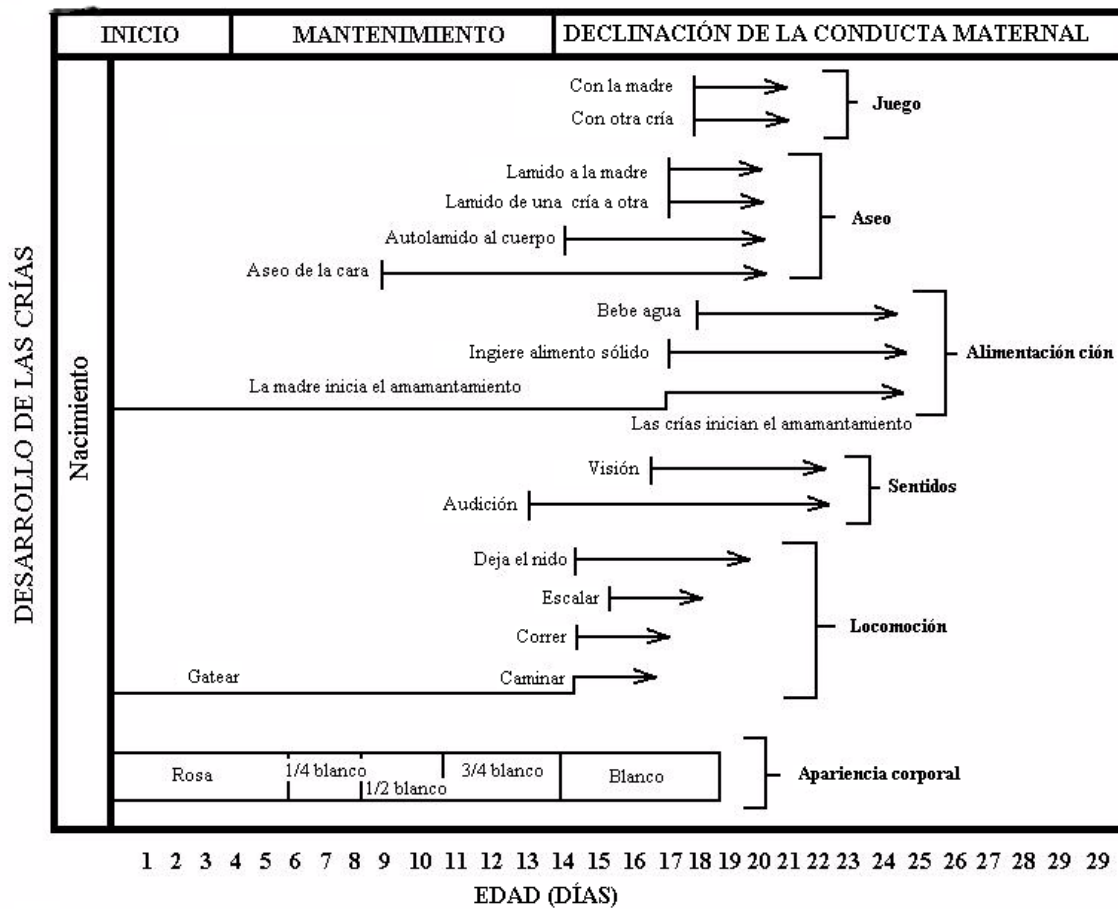
- 1.2.1** Inicial: del primero al tercer día después del parto e incluye construcción del nido, acarreo y lamido de las crías, amamantamiento, tales conductas se practican con vigor e intensidad.

**1.2.2 Mantenimiento:** del cuarto al treceavo día postparto. En esta fase se presentan el acarreo, el lamido y el amamantamiento de las crías de forma constante.

**1.2.3 Declinación:** del quinceavo día al destete, que puede ser a partir del día 21 posparto, durante esta fase ya no se presenta el acarreo, disminuye el lamido y el amamantamiento de las crías.

La fase de mantenimiento coincide con el desarrollo rápido de las crías, esto es, les crece el pelaje, mejoran su locomoción progresando de caminar con dificultad a caminar coordinadamente, se abren los párpados y el pabellón auricular. Este desarrollo coincide con las interacciones sociales entre las crías por un lado, y por otro, de la madre con la camada involucrando aseo y juego (Rosenblatt y Lehrman 1963). Alrededor del día 16 las crías comienzan a beber y comer por sí mismas iniciando el proceso de destete, esto provoca que la madre no responda hacia ellas como lo hacía en la fase inicial. El proceso de destete se evidencia porque las crías buscan a la madre para ser alimentadas (Rosenblatt y Lehrman 1963).

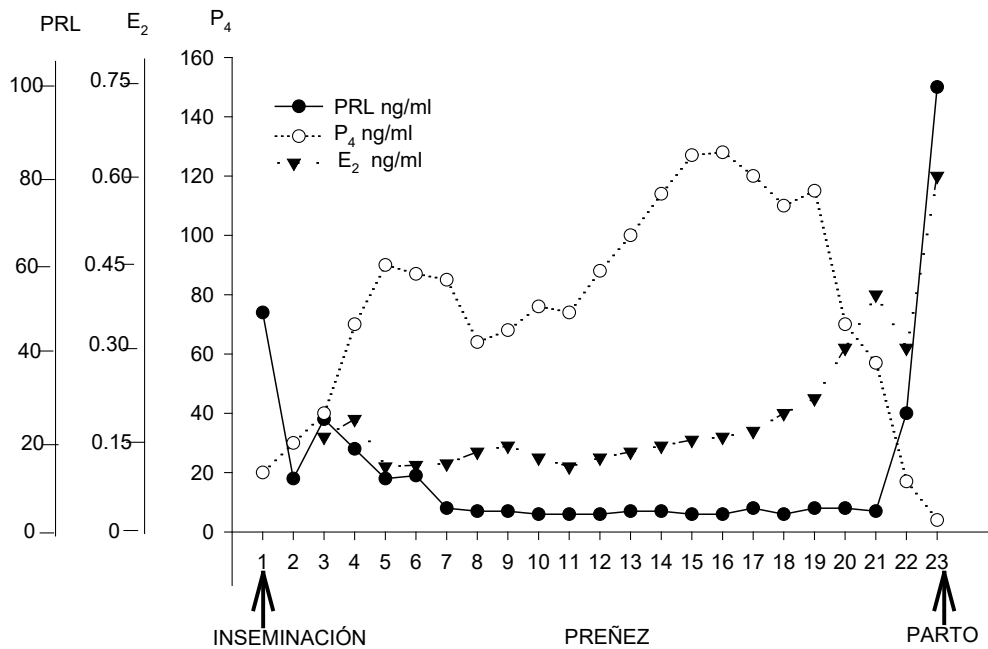
En la figura 2 se muestra el desarrollo conductual de las crías y su relación con las fases de la CM. Como se puede apreciar, alrededor del día 19 las crías pueden movilizarse y alimentarse por sí solas, es decir, ya no dependen completamente de la madre para su supervivencia (Rosenblatt y Lehrman 1963).



**Figura 2. Fases de la conducta maternal.** La figura muestra las fases de la conducta maternal y el desarrollo de las crías en ratas de laboratorio Sprague-Dawley. El inicio de cada conducta está indicado por el inicio de las flechas. Note que el decline de la CM se asocia con el desarrollo morfológico y motor de las crías (modificado de Rosenblatt y cols. 1985).

### 1.3 Hormonas que regulan la conducta maternal

Diversos estudios han establecido la existencia de varias hormonas que preparan a la hembra modulando o disparando el despliegue de las actividades maternas. Algunas de estas hormonas tienen la misma acción en diferentes especies o, por el contrario una hormona que está claramente asociada con la expresión de las conductas maternas en una especie, en otra no tiene un papel relevante (González-Mariscal y Poindron 2002).



**Figura 3.** Niveles circulantes de progesterona (P<sub>4</sub>), estradiol (E<sub>2</sub>), y prolactina (PRL) durante la preñez en la rata albina de laboratorio. Note que los niveles de P<sub>4</sub> decrecen al final de la preñez mientras que los de E<sub>2</sub> y PRL aumentan, estos cambios son los responsables de desencadenar la Conducta maternal (modificado de Rosenblatt y cols. 1985).

### 1.3.1 Progesterona y estradiol

En la mayoría de las especies estudiadas los niveles de progesterona (P<sub>4</sub>) en sangre se mantienen altos durante el periodo de gestación, pero conforme se acerca el momento del parto sus concentraciones plasmáticas decrecen notablemente y permanecen así durante la lactancia (Rosenblatt y cols. 1979). Niveles elevados de progesterona al término de la gestación pueden retrasar el parto (Herrenkohl 1974) inhibir la conducta maternal (Rosenblatt y cols. 1979) y la liberación de leche de las glándulas mamarias (Herrenkohl 1974).

Por otra parte el estradiol se eleva antes del parto en las hembras de rata, ratón, cobayo, conejo, gato y chimpancé. En ratas el aumento de este estrógeno facilita el despliegue de la conducta maternal elevando la responsividad de las hembras hacia las crías y estimulando la agresión maternal (Mayer y Rosenblatt 1987), el acarreo de las crías y la adopción de la postura de amamantamiento (Mayer y Rosenblatt 1979).



### **1.3.2 Prolactina y lactógeno placentario**

La prolactina es una hormona luteotrópica en ratas y ratones, sus concentraciones séricas aumentan en el periodo inmediato al parto y se mantienen elevadas durante la lactancia. Una de sus funciones durante la lactogénesis es estimular la transcripción de los genes para la caseína (Tucker 1988). Bridges en 1994 y Mann en el 2001 proponen que la prolactina y los lactógenos placentarios ejercen sus acciones en el área preóptica media y en el núcleo ventromedial del hipotálamo para estimular la aparición de la conducta maternal en la rata.

Por otra parte, el lactógeno placentario que es secretado por la placenta cerca de la mitad de la gestación en rata y ratón, decrece su concentración sérica muy cerca del momento del parto y está involucrado en la estimulación del crecimiento de la glándula mamaria (Tucker 1988). La infusión de lactógeno placentario de humano o de rata en el área preóptica media de hembras nulíparas ovariectomizadas y pretratadas con estrógenos y progesterona provocaba una rápida aparición de la CM (Bridges 1994).

### **1.3.3. Oxitocina**

En las especies de mamíferos estudiadas las concentraciones de oxitocina en el plasma se incrementan durante el parto, especialmente durante la fase de expulsión de la cría.

Algunos reportes sugieren que el efecto de la oxitocina es dependiente de estrógeno. Estudios realizados en ratas hembras sin estrógenos donde se administra oxitocina intracerebroventricularmente no hay despliegue de la conducta maternal (Pedersen y Orange 1979, Fahrbach y cols. 1984, citados en Gómora 2002). Otros investigadores encontraron que al final de la gestación donde los niveles de estradiol son altos y los de progesterona son bajos, la oxitocina se incrementa en el núcleo paraventricular y supraóptico del hipotálamo (Caldwell y cols. 1987, citado en Melo 1999).

La administración de antisuero contra oxitocina en ratas vírgenes ovariectomizadas tratadas con estrógenos y progesterona inhibe la conducta maternal. La administración de un antagonista a oxitocina al momento del parto incrementa la latencia de acarreo hasta por una hora, expresándose normalmente al día siguiente. Cuando se administra un antagonista

de oxitocina una vez que la conducta maternal se ha establecido este no tiene efecto alguno, por lo que se sugiere que la acción de esta hormona sobre la conducta maternal es mayor al inicio que en el establecimiento de la misma (González-Mariscal y Poindron 2002).

#### **1.4 Control nervioso de la conducta maternal**

Las áreas cerebrales relacionadas con el control de la conducta maternal se dividen en dos grupos a groso modo: las que inhiben su despliegue: el bulbo olfatorio principal y accesorio, la amígdala, el hipotálamo ventromedial, el hipotálamo dorsal y área hipotalámica anterior y aquellas que la estimulan: el área preóptica media y lateral, el área ventral tegmental, el núcleo accumbens, el núcleo paraventricular hipotalámico, el tegmento del cerebro medio y la sustancia negra, entre otras.

##### **1.4.1 Amígdala**

La amígdala medial, el área hipotalámica anterior y el hipotálamo dorsal inhiben la conducta maternal, las lesiones a estas áreas permiten la expresión de esta conducta (Bridges y cols. 1999, Sheehan y cols. 2001).

Oxley y Fleming en el 2000, demuestran que lesionando la amígdala en ratas hembras juveniles sensibilizadas se facilita la expresión e la conducta maternal. Fleming y cols. (1983) realizaron lesiones a la amígdala corticomedia y encontraron que en pruebas de sensibilización las hembras lesionadas presentaban conducta maternal más rápido que las hembras control y proponen que esta facilitación estaba mediada por el área preóptica media puesto que, cuando las lesiones se realizaban a la amígdala medial y el área preóptica media las hembras no presentaban conducta maternal pero si se acercaban a las crías, lo que no sucedió con las hembras control.

### **1.4.2 Hipotálamo ventromedial, hipotálamo dorsal y área hipotalámica anterior**

El hipotálamo ventromedial, el hipotálamo dorsal y el área hipotalámica anterior inhiben tónicamente a la conducta maternal. Durante la preñez y el parto los cambios neuroquímicos que ocurren en estas regiones y la interacción con otras regiones del cerebro como el área preóptica media probablemente se conjugan para regular la conducta maternal. En experimentos de sensibilización, las lesiones neurotóxicas bilaterales en éstas regiones provocaron que las hembras vírgenes inyectadas con estradiol respondieran rápidamente hacia las crías en comparación con las hembras control (Bridges y cols. 1999).

### **1.4.3 Área preóptica media**

Existen evidencias que muestran que el área preóptica media es crucial para la expresión de la conducta maternal; las lesiones en esta área interrumpen el acarreo y la construcción de nido en ratas juveniles (Oxley y Fleming 2000). Ratas vírgenes ovariectomizadas o intactas con lesiones en el área preóptica media no muestran conducta maternal a pesar de varios días de exposición a las crías (Numan y Sheehan 1997), la inducción de la conducta maternal producida por la lesión de la amígdala corticomedia no ocurre si tales hembras también tienen lesionada el área preóptica media (Fleming y cols. 1983).

Varios trabajos (Miceli y cols. 1983, Numan y cols. 1988, Numan y Sheehan 1997, Numan 1994), mostraron que las conexiones laterales del área preóptica media ejercían una importante influencia sobre la expresión de la CM ya que la sección de tales conexiones interrumpían severamente los componentes orales de esta conducta como el acarreo y la construcción de nido, además provocaban alteraciones en la conducta de amamantamiento (Numan y cols. 1980).

Estudios realizados en ratas [(Numan 1977, (Parsons y cols. 1982, Farbach y cols.1986, citados en Gómora 2002)] proponen que el área preóptica media capta estradiol. Estos estudios muestran que la concentración de receptores a esta hormona aumenta en el área preóptica al final de la gestación en hembras preñadas y ovariectomizadas-histerectomizadas en el día 16 de gestación tratadas con estrógenos.

Bridges y cols. (1990) inyectaron bilateralmente prolactina en el área preóptica media en ratas sin experiencia maternal en presencia de crías, los resultados mostraron una latencia corta para la aparición de la conducta maternal en estas hembras y más del 50% de ellas fueron maternales, Sin embargo, cabe mencionar que el efecto de la prolactina fue dependiente de la presencia de estradiol pues en ausencia de esta hormona la prolactina no mostró ningún efecto.

#### **1.4.4 Área ventral tegmental**

Las conexiones laterales del área preóptica media viajan a través del área ventral tegmental por medio de una ruta directa y una indirecta la cual involucra una sinapsis en el área preóptica lateral.

Numan y cols. (1988) tratando de distinguir cual de las dos rutas la directa o la indirecta conectaban al área preóptica media con el área ventral tegmental realizaron lesiones por radiofrecuencia y con la administración de NMDA en el área preóptica lateral. Estos autores encontraron que ambos tipos de lesiones provocaban severas alteraciones en la conducta maternal. Estos estudios apoyaron la existencia de un circuito maternal que involucra el área preóptica media, el área preóptica lateral y fibras aferentes que pasan a través del hipotálamo lateral y el área ventral tegmental (Numan y cols. 1988).

También se propone que el esta área es importante en la regulación del inicio de la conducta maternal porque algunas de sus proyecciones ascendentes llegan hasta el núcleo estriado y están involucradas en el control de las respuestas motoras orales. Numan y cols. (1988) realizaron lesiones electrolíticas en el área ventral tegmental y encontraron que se interrumpía la conducta maternal en ratas lactantes. Cuando las lesiones unilaterales de esta área se combinaron con cortes contralaterales de las conexiones del área preóptica media se observaron severas alteraciones en la conducta maternal, lo que indica que las conexiones bilaterales entre el área preóptica media y el área ventral tegmental son esenciales para el adecuado despliegue de esta conducta (Numan y cols. 1988).

### **1.4.5 Núcleo accumbens**

Se ha demostrado que el núcleo accumbens juega un papel importante en el control de la expresión normal de la Conducta Maternal. Li y Fleming (2003) lesionaron electrolíticamente dos subregiones de este núcleo: la corteza y el núcleo. Estos autores mostraron que las lesiones de la corteza del núcleo accumbens en ratas Sprague-Dawley no tuvieron efecto sobre el acarreo de la primera cría pero si afectaron el acarreo de la camada, esto es, las hembras tardaban más tiempo en acarrear a las crías al nido comparadas con los animales controles. Los otros componentes de la conducta maternal (lamido corporal y genital, postura de amamantamiento y construcción del nido) no se vieron afectados. Las lesiones realizadas a la otra subregión (núcleo) del accumbens no interfieren con ninguno de los componentes de la conducta maternal.

Champagne y cols. (2004) midieron por voltametría los cambios en la dopamina extracelular en la corteza del núcleo accumbens en las ratas lactantes de alto y bajo lamido (high y low lickin/grooming) provenientes de la cepa Long Evans interactuando con sus crías. Estos autores encontraron que la dopamina se incrementa cuando la madre realiza el lamido corporal y genital de las crías, el comienzo de este incremento precede a la conducta en cuestión, la magnitud y duración del incremento de la señal de dopamina correlaciona de forma significativa con la duración del lamido a las crías. Estudios de autorradiografía para los receptores mostraron niveles elevados de receptores D<sub>1</sub> y D<sub>3</sub> en la corteza del núcleo accumbens en estas ratas.

### **1.4.6 Núcleo paraventricular del hipotálamo**

El núcleo paraventricular del hipotálamo y el núcleo supraóptico están involucrados en el reflejo de eyección de leche. Estudios electrofisiológicos e inmunocitoquímicos muestran que el núcleo paraventricular es la principal fuente de oxitocina en el cerebro y sus fibras proyectan a varias estructuras límbicas, hipotalámicas y la neurohipófisis. Lesiones de este núcleo en el día uno postparto en ratas bloquearon la lactancia e interfirieron con la construcción del nido. Cuando las lesiones se realizaron en el día cuatro de lactancia la



conducta maternal no se alteró sugiriendo que el papel del núcleo paraventricular es al inicio de la conducta maternal (Numan y Corodimas 1985, Insel y Harbaugh 1989, citados en Gómora 2002).

#### **1.4.7 Tegmento del cerebro medio**

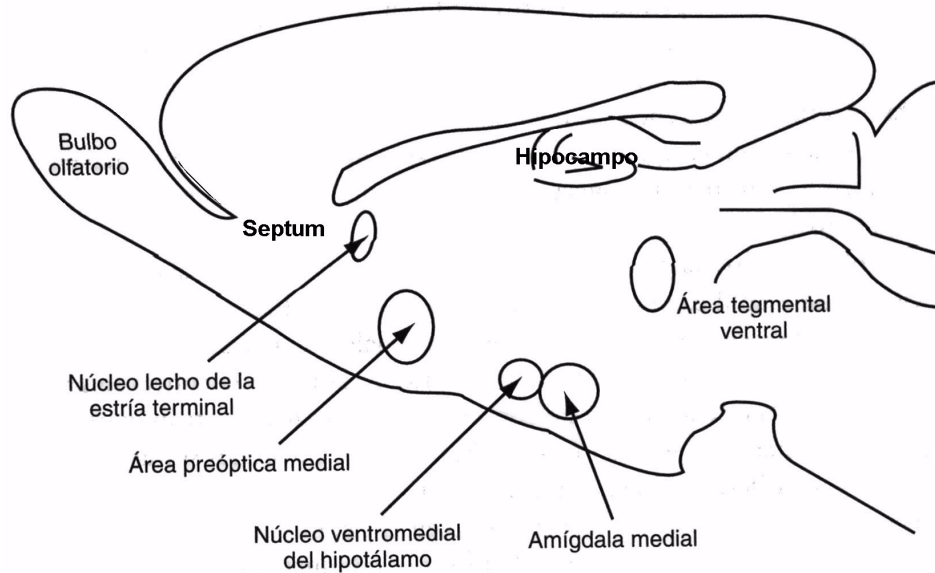
El tegmento del cerebro medio el cual incluye al núcleo peripeduncular recibe vías descendentes eferentes preópticas y vías sensoriales trigeminales que pasan a través del área ventral tegmental y llevan señales de la región perioral. Las lesiones a esta área abolieron la agresión maternal hacia los intrusos, bloquearon la eyección de leche sin interferir con la conducta de amamantamiento (González-Mariscal y Poindron, 2002).

#### **1.4.8 Sustancia negra**

El área preóptica media proyecta fibras hacia estructuras límbicas, del telencéfalo y el tallo cerebral. Estudios neuroanatómicos realizados por Swanson en 1976 mostraron que la sustancia negra recibe fibras preópticas asociadas con la vía nigroestriatal dopaminérgica implicada en el control extrapiramidal de la locomoción.

Numan y Nagle en 1983 mostraron que la lesión electrolítica de la vía nigroestriada en ratas lactantes afectaba de manera drástica el acarreo y la postura de amamantamiento (Swanson 1976, Numan y Tagle 1983, citados en Gómora 2002).

## Estructuras cerebrales implicadas en la conducta maternal



**Fig. 4.** Esquema de un corte sagital de cerebro de rata donde se muestran las principales estructuras implicadas en la conducta maternal. Note que la conducta maternal está influenciada por estructuras que pertenecen al circuito de las emociones y áreas hipotálamicas (Modificado de Martínez-Gómez y cols. 2002)

El ambiente dentro del nido es importante en el desarrollo del eje hipotálamo-hipófisis-adrenales en las crías, la manipulación de este ambiente y la interacción de las crías con la madre durante las dos primeras semanas de vida alteran permanentemente la respuesta de este eje en los individuos adultos (Meaney 2001, Gómez-Serrano y cols. 2001).

### 1.6 Respuesta al estrés

La vida se mantiene gracias a un equilibrio dinámico y complejo conocido como homeostasis, éste constantemente es atacado por fuerzas adversas intrínsecas o extrínsecas conocidas como estresores. Cuando la homeostasis es alterada se provoca una respuesta

conocida como estrés, que tiene como objetivo activar mecanismos que van a neutralizar los efectos de los estresores y restablecer la homeostasis (Retana y cols. 2001).

La respuesta desplegada ante estos estresores tiene tres componentes: conductual, autonómico y endócrino. Las situaciones estresantes generalmente requieren de actividad vigorosa, por lo que las respuestas autonómicas y endócrinas son de tipo catabólico, es decir; ayudan a movilizar las fuentes de energía del cuerpo. La inervación simpática del sistema nervioso autónomo se activa, las glándulas adrenales secretan adrenalina, noradrenalina y hormonas esteroidales en respuesta al estrés (Carlson 2001).

La noradrenalina afecta el metabolismo de la glucosa causando que los nutrientes almacenados en los músculos estén disponibles y provean energía ante una situación de ejercicio extremo. La noradrenalina incrementa el flujo sanguíneo a los músculos incrementando el gasto cardíaco. Algunas respuestas conductuales y fisiológicas producidas ante estímulos aversivos parecen estar mediadas por neuronas noradrenérgicas. Estudios con microdiálisis han encontrado que ante situaciones estresantes se incrementa la liberación de noradrenalina en el hipotálamo y en la corteza frontal (Yokoo y cols. 1990, Cenci y cols. 1992 citados en Carlson 2001).

El cortisol en humanos y la corticosterona en roedores son las hormonas relacionadas con el estrés, estas son secretadas por la corteza de la glándula adrenal. También son llamados glucocorticoides debido a que tienen efectos sobre el metabolismo de la glucosa, ayudan a degradar proteínas y convertirlas en glucosa (gluconeogénesis) y contribuir a suministrar energía de una manera rápida, además incrementan el flujo sanguíneo y estimulan la responsividad conductual ante estímulos ambientales (Carlson 2001).

La secreción de los glucocorticoides está controlada por neuronas en el núcleo paraventricular del hipotálamo cuyos axones terminan en la eminencia media donde son localizados los capilares hipotalámicos que suministran el flujo sanguíneo portal a la hipófisis anterior. Las neuronas del núcleo paraventricular secretan un péptido llamado factor liberador de corticotropina que estimula a su vez a la hipófisis anterior para liberar la hormona adrenocorticotrópica que entra a la circulación general y estimula a la corteza adrenal para secretar glucocorticoides.

El factor liberador de corticotropina también es secretado dentro del cerebro donde funciona como neuromodulador/neurotransmisor, especialmente en regiones del sistema límbico que están involucradas en las respuestas emocionales, estas áreas son: la materia gris periacueductal, el locus coeruleus y el núcleo central de la amígdala. Los efectos conductuales producidos por una inyección de factor liberador de corticotropina en el cerebro son similares a aquellos producidos por situaciones aversivas. Las inyecciones intracerebroventriculares de factor liberador de corticotropina disminuyen el tiempo que las ratas permanecen en el centro de una caja de campo abierto lo cual significa un aumento de la ansiedad, por otra parte; la inyección intracerebroventricular de un antagonista del factor liberador de corticotropina reduce la ansiedad provocada por situaciones estresantes (Carlson 2001).

## 2. ANTECEDENTES

Durante años, diversos grupos de investigación dedicados al estudio de la conducta maternal han aportado conocimiento acerca de la aparición y desarrollo de esta conducta en distintas especies, incluyendo a los roedores de laboratorio. Pero poco se sabe de la conducta maternal en animales que han sido alterados genéticamente como son los isogénicos.

Los animales isogénicos son herramientas de gran valor para la investigación biomédica ya que los fenotipos conductuales que muestran suelen ser diferentes a los de la cepa de origen. Este tipo de animales surgen a partir de cruces hermano con hermana por al menos 20 generaciones, la isogenicidad elimina la heterocigocidad y los animales resultantes son idénticos genéticamente (Plomin 1990).

Aunque las diferencias conductuales que se observan en varias cepas isogénicas son atribuidas a variaciones genéticas, también se ha demostrado que los factores ambientales tempranos como el cuidado ejercido por la madre durante el desarrollo postnatal juegan un papel significativo (Francis y cols. 1999 b)

Existen varias cepas como las ratas de alto y bajo lamido y amamantamiento [high y low LG-ABN (Licking Grooming-Arched Back Nursing)] (Liu y cols. 1997, Champagne y cols. 2001), las cuales difieren en la frecuencia de lamido corporal y genital que la madre proporciona a las crías durante la lactancia así como en el arqueamiento de la hembra durante el amamantamiento. Otras son las ratas Romanas (high y low RLA/Verh) las cuales difieren en la ejecución de las pruebas de evitación pasiva (Fernández-Teruel y cols. 1997, Steimer y cols. 1997). Estos animales también presentan diferencias en los niveles de lamido corporal y genital que la madre proporciona a las crías así como del arqueamiento de la madre durante el amamantamiento. Estas diferencias influyen sobre las respuestas conductuales, endocrinas y cognitivas al estrés en los animales en etapa adulta.

Fleming y cols. 1999 y González y cols. 2001, modificaron la intensidad o calidad de la estimulación maternal y evaluaron su impacto sobre la conducta maternal y la respuestas al estrés de la descendencia. Estos autores encontraron cambios en la conducta maternal de la progenie, así como cambios estructurales en áreas cerebrales relacionadas

con las respuestas al estrés como son: el hipocampo, la amígdala central y basolateral, y el locus coeruleus.

Ante estos hallazgos varios autores sugieren que las diferencias en la estimulación maternal durante el periodo postnatal constituyen un mecanismo de transmisión no genómica a través de las generaciones, a éste se le ha denominado “**transferencia intergeneracional**” de las conductas que se adquieren durante el periodo postnatal temprano. (Caldji y cols. 1998, Fleming y cols. 1999, Francis y cols. 1999 a, González y cols. 2001, Champagne y cols. 2001).

En el Instituto de Fisiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla se obtuvieron dos sublíneas de ratas de la cepa Sprague-Dawley que difieren en su frecuencia de bostezo espontáneo denominadas de alto bostezo o HY (del inglés High Yawning) con un promedio de 20 bostezos/hora (Urbá-Holmgren y cols. 1990). Estos animales fueron obtenidos de un pie de cría proveniente del Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS y sometidas a cruzamientos consanguíneos por 66 generaciones, eligiendo los machos más bostezadores de cada generación.

La segunda sublínea, las ratas de bajo bostezo o LY (del inglés Low Yawning) con un promedio de 2 bostezos/hora (Urbá-Holmgren y cols. 1990) se obtuvo de un pie de cría proveniente del Instituto de Enfermedades Respiratorias, SSA; para mantener esta sublínea se cruzan machos poco bostezadores con hembras seleccionadas al azar, así por 59 generaciones sucesivas.

La conducta de bostezo además de presentar una expresión diferente entre ambas sublíneas es sexualmente dimórfica, las hembras bostezan menos que los machos como se muestra en la Tabla 1 (Urbá- Holmgren y cols. 1990).

**Tabla 1. Bostezo en las ratas de las sublíneas HY y LY**

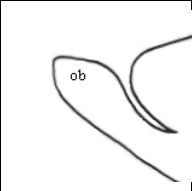
<b>Sublínea/generación</b>	<b>n</b>	<b>Promedio Bostezos</b>	<b>Sublínea/generación</b>	<b>n</b>	<b>Promedio bostezos</b>
<b>HY/F13</b>			<b>HY/F65</b>		
Machos	19	28.9	Machos	30	25.1
Hembras	26	0.8	Hembras	18	0.7
<b>LY/F9</b>			<b>LY/F58</b>		
Machos	61	2.1	Machos	18	2.1
Hembras	21	0.3	Hembras	19	0.3

En esta tabla *n* representa el número de animales de 2 meses de edad; F13 y F65, generaciones filiales de la sublínea HY; F9 y F58 generaciones filiales de la sublínea LY. Como se puede observar la conducta de bostezo no ha variado a largo de 52 generaciones en las ratas HY y de 49 generaciones en las ratas LY.

Adicionalmente a las diferencias encontradas en la frecuencia de bostezo, los machos HY presentan más episodios de aseo ante un ambiente novedoso (Eguibar y Moyaho 1997) y se estresan menos que las ratas LY en pruebas de campo abierto (Moyaho y cols.,1995).

Barajas (2002) tratando de saber si el cuidado materno ejercía alguna influencia sobre la respuesta al estrés realizó intercambio de crías entre las ratas HY y LY, y mostró que las ratas HY criadas por madres LY presentaban mayor cantidad de aseo en un ambiente novedoso, pero no encontró cambios en su respuesta al estrés en el campo abierto, por lo que concluye que el cuidado materno no influye sobre la respuesta al estrés en éstas sublíneas de ratas. Sin embargo; vale la pena destacar que los animales se mantuvieron aislados socialmente después del destete, (Schjiver y cols. 2002) reportan que el aislamiento social influye sobre respuesta al estrés y quizá este factor influyó sobre los resultados encontrados por Barajas, por lo cual nos pareció pertinente analizar si el cuidado materno ejerce alguna influencia sobre la respuesta al estrés en ratas que crecen en condiciones de interacción social.

Hallazgos recientes en nuestro laboratorio indican que los animales HY tienen menos dopamina extracelular (aproximadamente 50%) en el núcleo accumbens con respecto a los LY y SD. En relación a los receptores dopaminérgicos los D<sub>1</sub> se encuentran aumentados en el estriado medial, ventral y fundus estriatali en las ratas HY, en cambio los



D<sub>2</sub> solo muestran una tendencia a la baja, sin diferencias significativas en ambas sublíneas. Los receptores se encuentran aumentados en la corteza del núcleo accumbens en los animales HY (Díaz-Romero y cols. 2005, Díaz-Romero 2006).

Observaciones preliminares realizadas por nuestro grupo mostraron que las madres HY invertían más tiempo en posición de amamantamiento en comparación con las hembras LY. También construían nidos de menor calidad y proporcionaban menor tiempo de lamido a sus crías en comparación con las madres LY.

Por otra parte, sabemos que las hembras HY presentan mayores porcentajes de infertilidad medida como el número de hembras que quedan preñadas, presentan un menor número de crías al parto y el promedio de crías al destete es bajo, todo esto comparado con las hembras LY como se aprecia en la tabla 2.

**Tabla 2.** Características reproductivas en las ratas LY y HY

	<b>Hembras HY</b>	<b>Hembras LY</b>
Fertilidad	60%	90%
Crías/camada	4-8	10-14
Reabsorción fetal	25%	8%
Crías al destete	6	10-13
Peso camada	Bajo	Semejante al reportado para ratas Sprague-Dawley

Todos estos antecedentes nos han llevado a proponer que además de los factores genéticos que están impactando el despliegue diferencial de la respuesta de las ratas HY y LY ante un estrés moderado y la conducta maternal de estos animales, existen factores de tipo epigenético, específicamente el cuidado materno, que posiblemente afecten la expresión genética en estos animales. Estos factores requieren ser analizados con detalle.



### 3. JUSTIFICACIÓN

Existen evidencias experimentales de que el cuidado materno es de vital importancia para el desarrollo de varios sistemas: neuroendócrinos, fisiológicos y conductuales de las crías, así como en la respuesta al estrés y la conducta maternal en la edad adulta de las crías. Aunque es bien claro que el fenotipo depende de la expresión de los genes, se ha encontrado que esta expresión es modulada por factores epigenéticos durante la etapa intrauterina o postnatal, efectos que se verán reflejados en la etapa adulta de la progenie. Es importante señalar que en los roedores los factores postnatales tienen un papel preponderante en el desarrollo de las crías.

Observaciones preliminares realizadas por nuestro grupo mostraron que ratas isogénicas de la sublínea HY, tienen menos crías al parto, destetan menos crías y los pesos de las camadas son bajos respecto de las hembras de la sublínea LY.

Por otra parte, las sublíneas de ratas HY y LY responden de diferente manera ante situaciones estresantes (Moyaho y cols. 1995). Por lo que es necesario determinar si estas diferencias, tanto en la respuesta al estrés, como en el cuidado ejercido por la madre se deben a factores genéticos o a factores epigenéticos, esto es, si son susceptibles de ser modificados por el cuidado materno.

En vista de que este proyecto es algo complejo está dividido en tres partes cada una con su objetivo específico, metodología, resultados y discusión.

## **4. HIPÓTESIS**

**1)**

La conducta maternal de las ratas HY es deficiente comparada con la conducta de las hembras LY y Sprague-Dawley.

**2)**

El cuidado materno recibido en la etapa postnatal influye en el desarrollo de la conducta maternal y la respuesta al estrés en la etapa adulta.

## **5. OBJETIVOS**

### **5.1 Objetivo general**

Describir la conducta maternal de las hembras de las sublíneas HY, LY y de ratas Sprague-Dawley. Analizar el efecto del cuidado materno sobre la conducta maternal de las hembras y la respuesta al estrés de las hembras y los machos evaluada en la etapa adulta en la generación filial 1 (F1).

## **6. METODOLOGÍA GENERAL**

### **6.1 Animales**

Las ratas de las sublíneas HY y LY provinieron del bioterio de investigación del Instituto de Fisiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Las ratas Sprague-Dawley provinieron de un pie de cría obtenido del Bioterio del Instituto de Neurobiología, UNAM, Juriquilla, Qro.

Las ratas se mantuvieron en el bioterio bajo un régimen de luz oscuridad de 12:12 horas con encendido de la luz a las 7:00 a.m, con una temperatura de  $22 \pm 1^\circ \text{C}$  y una humedad relativa de 40 a 50%, los animales tuvieron libre acceso a alimento balanceado para animales de laboratorio (Harlan, Teklan) y agua purificada. Todos los procedimientos

realizados en este trabajo estuvieron de acuerdo a la Norma Mexicana para el uso y cuidado de los animales de laboratorio.

## **6.2 Análisis estadístico**

Los resultados de las observaciones de conducta maternal fueron analizados mediante análisis de tipo paramétrico, utilizando una ANOVA de medidas repetidas y una prueba de comparaciones múltiples de Tukey. Para el experimento de campo abierto se utilizó una prueba de Kruskal Wallis seguido de la prueba de comparaciones múltiples de Dunn. El valor de significancia estadística fue de una probabilidad menor o igual a 0.05. Los programas utilizados para realizar los análisis estadísticos fueron Sigma Stat versión 3.1 y el GraphPad versión 3.0 para Windows.

## **7. CONDUCTA MATERNAL DE RATAS DE ALTO Y BAJO BOSTEZO**

### **7.1. Objetivo específico**

Describir la conducta maternal en las sublíneas de ratas HY y LY y de la cepa Sprague-Dawley con sus propias crías y con crías de intercambio entre las sublíneas HY y LY.

### **7.2 Predicciones**

Las madres HY pasarán menos tiempo cuidando a sus crías respecto de las madres LY y Sprague-Dawley.

El tiempo que las hembras HY dedican al cuidado de sus crías será modificado cuando se realiza el intercambio de las mismas.

### 7.3. Metodología

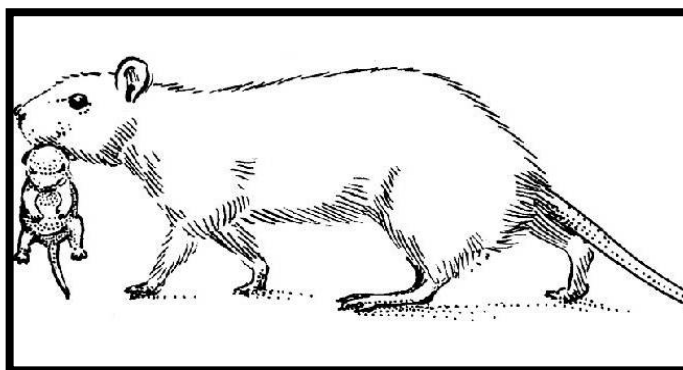
Todos los animales se colocaron en las unidades de reproducción en harem a la edad de 90 días teniendo tres hembras con uno o dos machos. Para los grupos de intercambio se coordinaron los apareamientos de manera que las crías nacieran el mismo día. En el día cero (día del parto) se realizó el intercambio de crías. Todas las camadas se ajustaron a ocho crías tratando de dejar igual número de hembras y machos.

Para el grupo de hembras que cuidó a sus propias crías se utilizaron 10 hembras SD, LY y HY, el grupo de intercambio estuvo compuesto de siete hembras HY y siete LY,

Las observaciones tuvieron una duración de 15 minutos, y se realizaron entre las 10:00 a.m. y la 1:00 p. m. (Grota y cols. 1969). Se llevaron a cabo en el bioterio con el objetivo de evitar el estrés que representa para los animales el traslado a otro cuarto.

Para el registro de las conductas se utilizó el programa “The Observer Video Pro” versión 2.0 para Windows (Noldus, Holanda), las variables registradas fueron:

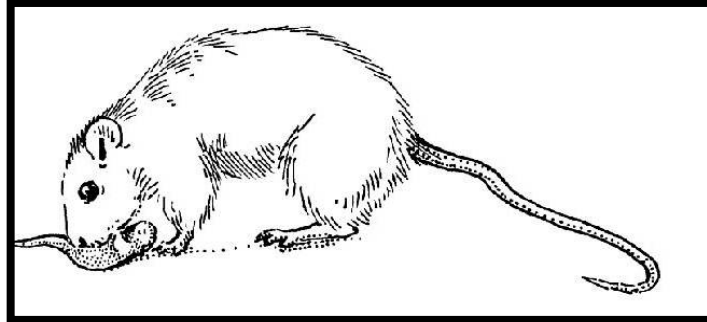
**1) Latencia acarreo de la primera cría.** Las crías fueron retiradas de la caja por el observador, después de dos minutos se introdujeron nuevamente dispersándolas en el lado opuesto al nido, en este momento inició la observación, registrando el tiempo en segundos que tardó la madre en acarrear a la primera cría hacia el nido.



**Figura 5. Acarreo de las crías.** Este esquema representa la manera en como las ratas acarrear a sus crías al nido, se observa que la madre sujeta a la cría por la piel del cuello.

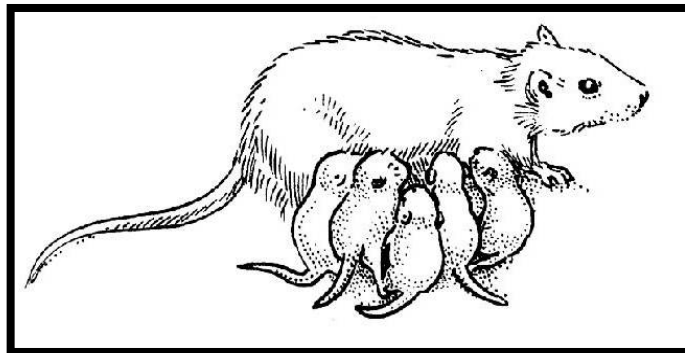
**2) Acarreo de toda la camada.** Es el tiempo (segundos) que tarda la madre en acarrear toda la camada al nido.

**3) Lamido corporal y genital de las crías.** Tiempo (segundos) de lamido corporal y anogenital a las crías por parte de la madre.



**Figura 6. Lamido de las crías.** En este esquema se observa de manera particular el lamido anogenital de una cría por parte de su madre.

**4) Posición de amamantamiento.** Duración (segundos) que la madre pasa adoptando la posición de amamantamiento (dorsoflexión del vientre).



**Figura 7. Conducta de amamantamiento de las crías.** En esta figura se observa la posición que adquiere la madre al amamantar a sus crías.

**5) Reconstrucción de nido.** Tiempo (segundos) en que la madre construye otro nido o bien reconstruye el que ya tenía.

**6) Calidad del nido.** Para calificar la calidad del nido se utilizaron puntajes arbitrarios de acuerdo al estado que el nido presentó, tomando los criterios propuestos por Rosenblatt y Lehrman en 1963.

**1** no hay formación de nido.

**2** intento de construcción con material esparcido.

**3** nido mal construido.

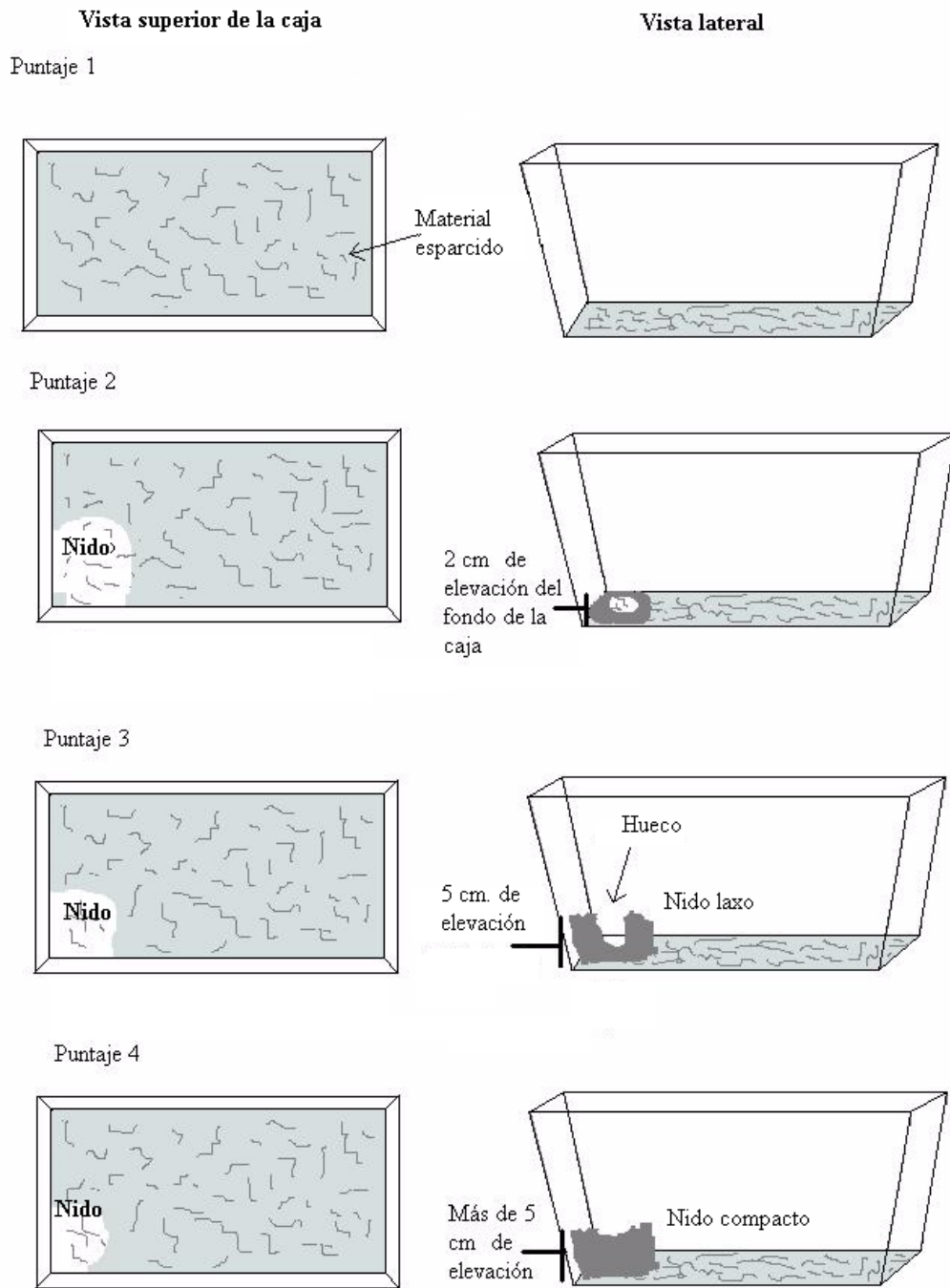
**4** nido bien construido y con forma definida (véase figura 8).

También se registraron algunas conductas que la madre dirige hacia sí misma:

**7) Autoaseo de la madre.** Duración (segundos) de aseo de la madre.

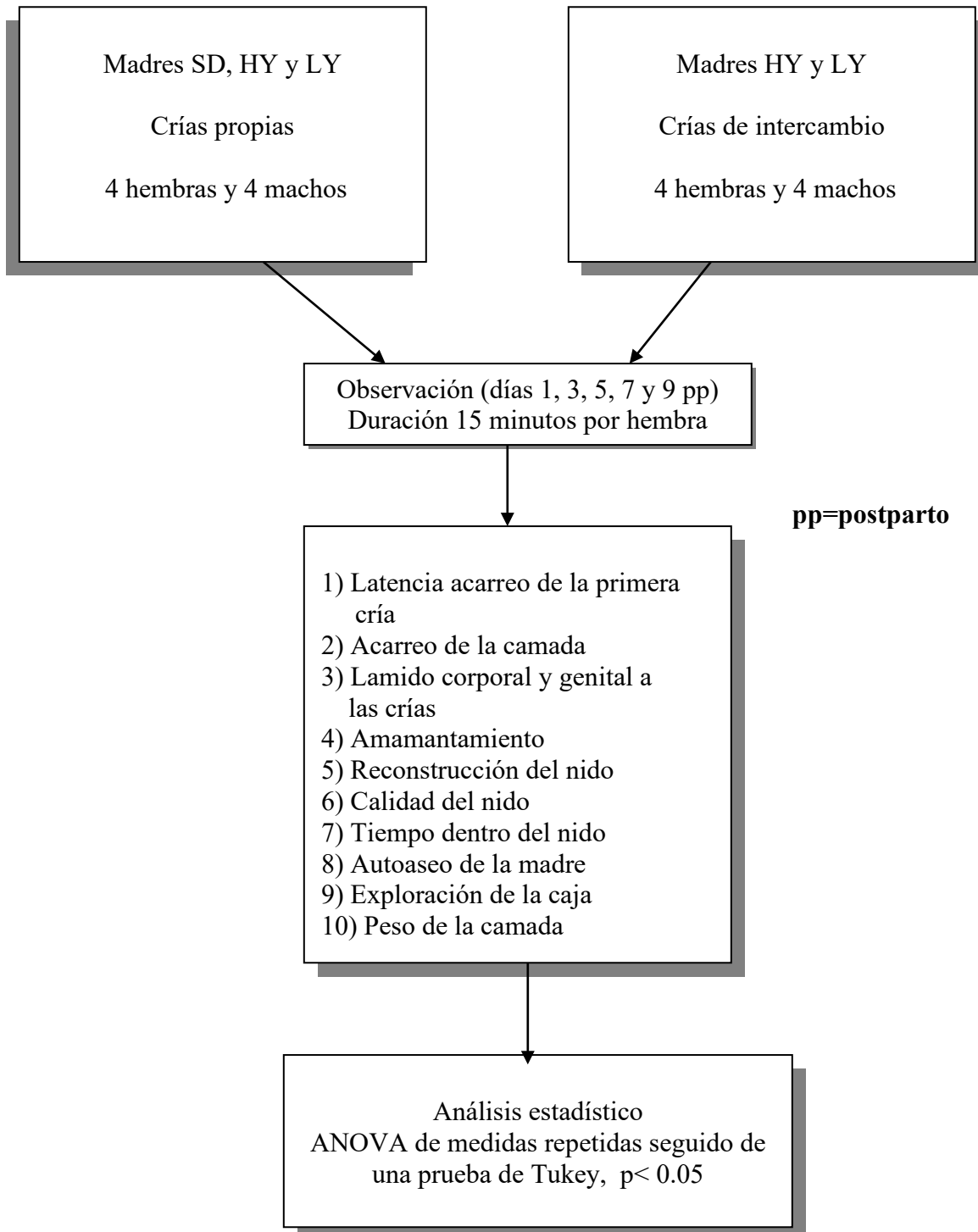
**8) Exploración.** Duración (segundos) de la conducta de exploración de la caja por parte de la hembra.

Finalizadas las observaciones de conducta maternal las hembras permanecieron en sus cajas con sus respectivas camadas hasta el destete el cual se realizó a los 30 días postparto. Posteriormente, las crías fueron mantenidas en grupos de cuatro animales del mismo sexo.



**Figura 8. Calidad del nido.** Observe que los diferentes puntajes de nido se adjudican con base en su altura y compactación.

## DIAGRAMA DE TRABAJO CONDUCTA MATERNAL





## 7.4. Resultados

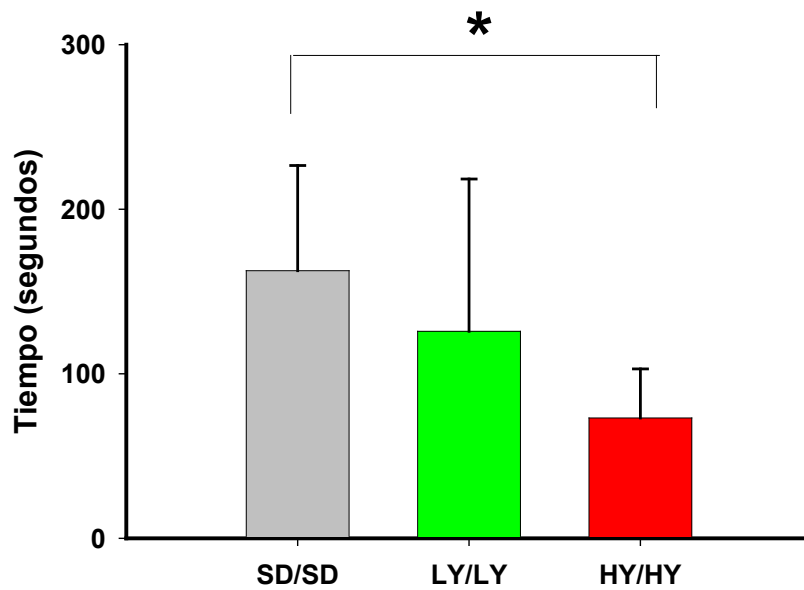
### Hembras con crías propias

#### 1) Latencia al acarreo de la primera cría

Lo que encontramos en estos animales es que la menor latencia para acarrear a la primera cría la presentan las hembras HY. La mayor latencia encontramos en las hembras SD. Al realizar el análisis estadístico no se encontraron diferencias significativas en ningún grupo de hembras  $F_{(2,135)}=2.38$ ,  $p>0.05$  tampoco en ninguno de los días observados  $F_{(4,135)}=1.01$   $p>0.05$ , no hubo interacción entre los días observados y las sublíneas de ratas  $F^{(8,135)}=0.66$   $p>0.05$ .

#### 2) Acarreo de la camada

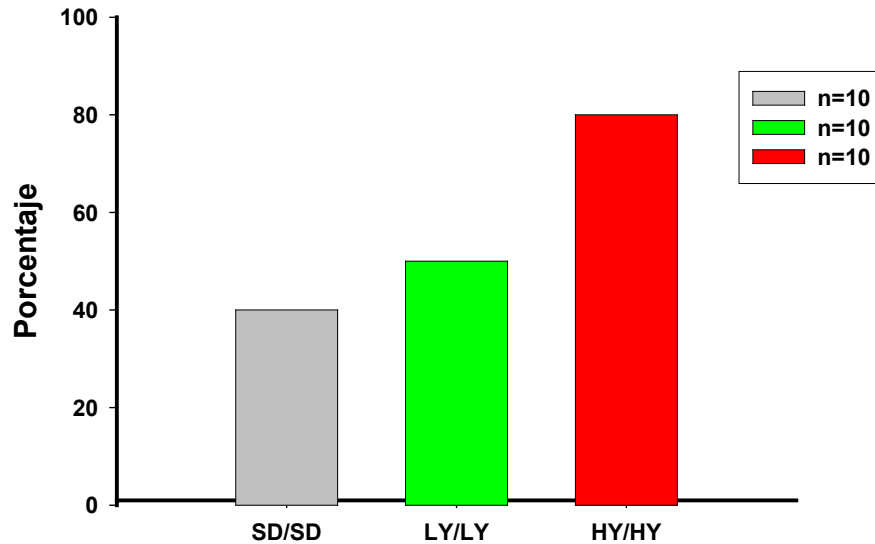
Los resultados encontrados para esta conducta mostraron que hubo diferencias entre los grupos de ratas en la duración del acarreo de toda la camada al nido  $F_{(2,135)}=4.48$ ,  $p<0.05$ , la prueba de Tukey mostró que las hembras HY invirtieron el menor tiempo en acarrear a sus crías  $q=4.21$ ,  $p<0.05$  en comparación con las hembras SD, en cuanto a los días observados no se encontraron diferencias significativas  $F_{(4,135)}=0.05$ ,  $p>0.05$ , tampoco hubo interacción entre los días de observación y los grupos de hembras  $F_{(8,135)}=0.71$ ,  $p>0.05$ , véase figura 9.



**Figura 9. Tiempo de acarreo de la camada.** Observe que las ratas HY son las que invierten el menor tiempo en el acarreo de la camada. Cada barra representa la media  $\pm$  el error estandar de 10 hembras SD, LY y HY. \*  $p < 0.05$  Prueba de Tukey.

Aunque el tiempo es similar en todas las hembras, las ratas HY realizan varios intentos para acarrear a sus crías, pues en el primer intento muchas veces no lo logran y dejan a las crías esparcidas en la caja.

También encontramos lo que denominamos como reacarros, esto es, cuando todas las crías están en el nido la hembra las toma llevándolas fuera del nido y posteriormente las regresa al mismo, los resultados mostraron que todas las hembras presentan esta conducta por lo menos en uno de los días observados, por lo que el criterio que establecimos para considerar una hembra como reacarreadora es que tuviera tres o más reacarros en cualquiera de los días observados, los resultados se muestran en la figura 10. La prueba de chi cuadrada no mostró diferencias significativas entre los grupos de hembras ( $\chi^2 = 3.54$   $p > 0.05$ ).

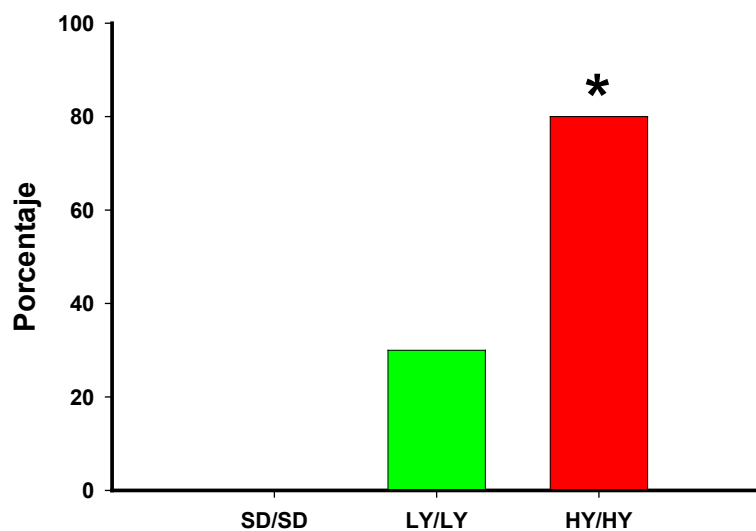


**Figura 10. Reacareos en hembras con crías propias.** Observe que para esta conducta las hembras LY y HY con sus propias crías presentan más reacareos que las hembras con intercambio de crías. Cada barra representa el porcentaje de hembras que reacarearon sus crías.

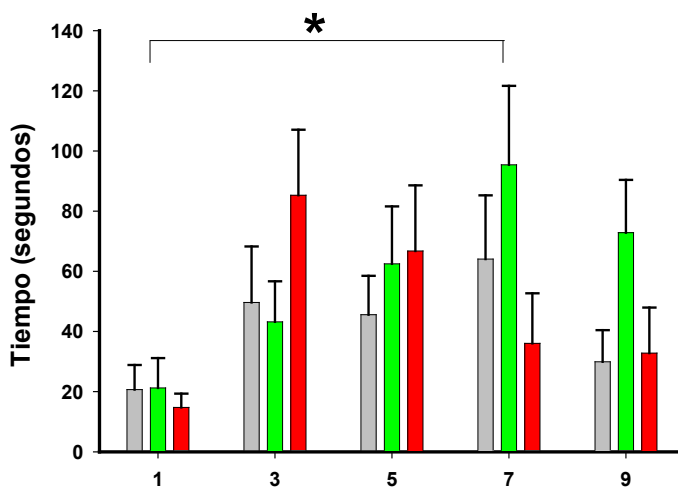
Una conducta que se presentó solo en las sublíneas de ratas HY/HY y LY/LY es el acarreo atípico de las crías, el porcentaje de hembras LY que realizaron esta conducta es de 29% predominando el acarreo de las crías por la parte abdominal, para las hembras HY es de 88%, encontrando acarreo de las crías tanto de la parte abdominal como de las extremidades inferiores. Se realizó una prueba de chi cuadrada para determinar si existían diferencias entre los grupos de animales, los resultados muestran diferencias para las hembras HY ( $X^2= 13.88$   $p<0.05$ ), véase figura 11.

### 3) Lamido corporal a las crías

En los resultados obtenidos para esta variable no encontramos diferencias significativas en los grupos de ratas  $F_{(2,135)}=0.87$ ,  $p>0.05$ , con respecto a los días observados si encontramos diferencias significativas  $F_{(4,135)}=4.2$ ,  $p<0.05$ , La prueba de Tukey mostró diferencias entre los días uno y siete,  $q=5.1$   $p<0.05$  véase figura 12, no hubo interacción entre los días y las sublíneas de ratas  $F_{(8,135)}=1.7$ ,  $p>0$ .



**Figura 11. Acarreos atípicos.** Observe que las hembras HY presentan el mayor porcentaje de reacarreos atípicos de las crías. \*  $p < 0.05$  prueba de Chi cuadrada.

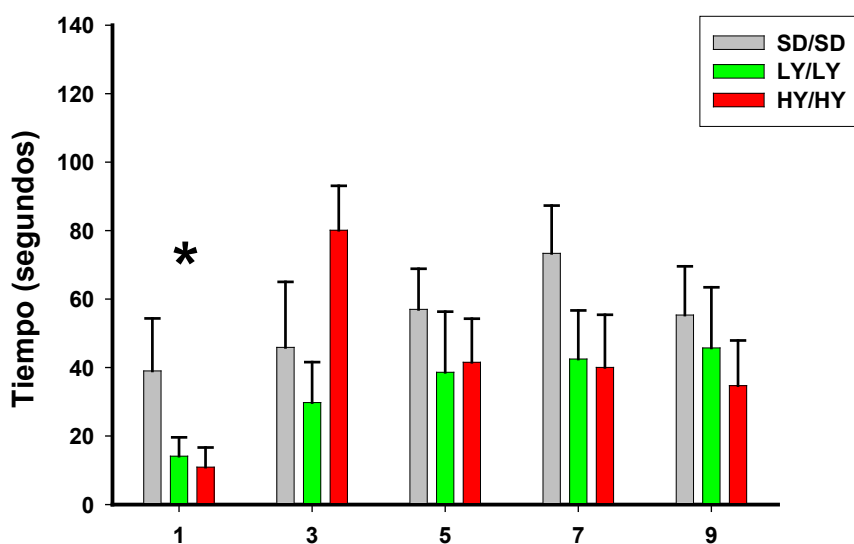


**Figura 12. Lamido corporal a las crías.** Note que en el día uno de lactancia es en donde se presenta la menor duración de esta conducta en los tres grupos de ratas. Cada barra representa la media  $\pm$  el error estándar. \*  $p < 0.01$  prueba de Tukey.

### Lamido genital a las crías

Los resultados obtenidos muestran que para esta conducta existe una gran variación a lo largo de los días observados, al realizar el análisis estadístico encontramos diferencias

significativas en esta variable  $F_{(4,135)}=2.8$ ,  $p<0.05$ , la prueba de Tukey mostró que las diferencias estaban entre los días uno y siete de lactancia  $q=4.1$ ,  $p<0.05$  véase figura 13, no hubo diferencias entre los grupos de hembras  $F_{(2,135)}=2.6$ ,  $p<0.05$  tampoco hubo interacción entre los días observados y los grupos de hembras  $F_{(8,135)}=1.2$ ,  $p>0.05$ .



**Figura 13. Lamido genital.** Observe que al igual que para el lamido corporal la menor duración de lamido genital la encontramos en el día uno de lactancia para los tres grupos de hembras. Cada barra representa la media  $\pm$  error estándar de 10 hembras SD, LY y HY. \* $p<0.04$  prueba de Tukey.

#### 4) Amamantamiento

Los resultados para esta conducta no mostraron diferencias significativas en las hembras que criaron a sus propias crías para ninguno de los tres grupos de hembras  $F_{(2,135)}=0.7$ ,  $p>0.05$  y en ninguno de los días observados  $F_{(4,135)}=0.8$ ,  $p>0.05$ , no hubo interacción entre los días y los grupos de hembras  $F_{(8,135)}= 1.2$ ,  $p>0.05$ .

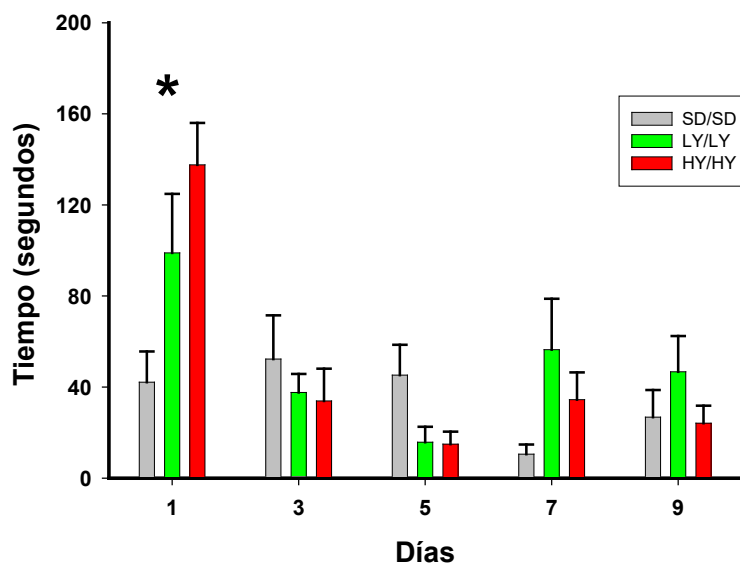
#### 5) Reconstrucción del nido

Los resultados encontrados para esta variable indicaron que todas las hembras invirtieron tiempos similares en la construcción del nido, el análisis estadístico mostró que hay

diferencias en los días  $F_{(4,135)}=10.4$ ,  $p<0.05$  la prueba de Tukey mostró que hubo diferencias entre el día uno y los demás días observados, día uno vs. día tres  $q=6.4$ ,  $p<0.05$ , día uno vs. día cinco  $q=8.3$ ,  $p<0.05$ , día uno vs. día siete  $q=7.3$ ,  $p>0.05$ , día uno vs. día nueve  $q=7.4$   $p<0.05$  véase figura 14. También encontramos una interacción entre los grupos de hembras y los días  $F_{(8,135)}=3.8$ ,  $p<0.05$

## 6) Calidad del nido

Otra variable que tomamos en cuenta fue la calidad del nido y los resultados encontrados mostraron que las hembras SD presentaron nidos con puntaje 3 y 4 es decir nidos compactos con altura de cinco centímetros o más. Las hembras LY presentaron nidos con puntaje 3 y 2, es decir nidos de regulares a bien construidos y la mayoría de las hembras HY presentaron nidos con puntaje 1 y 2, esto es nidos con mala calidad, con poca altura, laxos y con el material del nido esparcido.

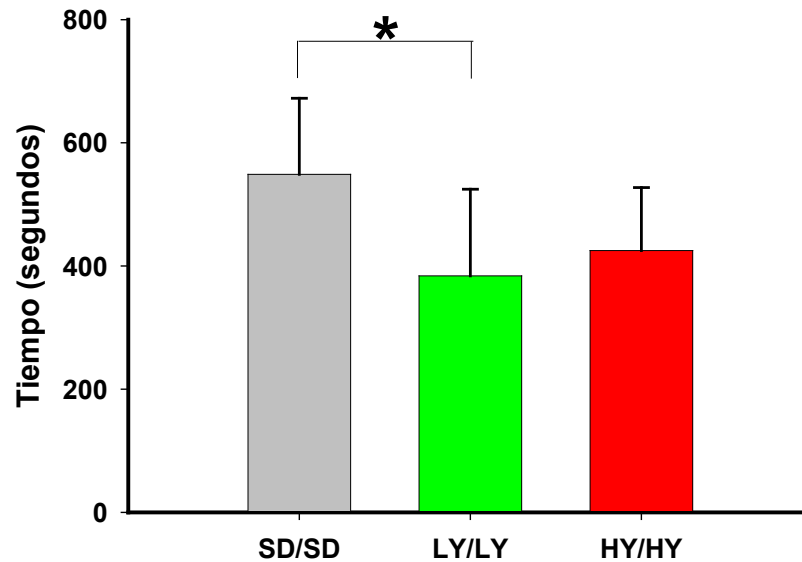


**Figura 14. Duración de reconstrucción de nido.** Note que en el día uno es donde se presenta la mayor duración de reconstrucción de nido. Cada barra representa la media  $\pm$  el error estándar. \* $p<0.05$  día 1 vs. Los demás días.

## 7) Tiempo dentro del nido

En cuanto al tiempo que las hembras pasan dentro del nido el análisis estadístico mostró que las hembras LY pasan menos tiempo dentro del nido  $F_{(2,135)}=6.8$ ,  $p<0.05$ , prueba de

Tukey  $q=4.23$ ,  $p<0.05$  véase figura 15. Con respecto a los días de lactancia los resultados no mostraron diferencias significativas  $F_{(4,135)}=2.3$ ,  $p>0.05$ , no se encontró interacción entre los días y los grupos de hembras  $F_{(8,135)}=1.0$ ,  $p>0.05$ .



**Figura 15. Tiempo dentro del nido.** Observe que el menor tiempo dentro del nido lo presentan las hembras LY. \*  $p<0.05$  prueba de Tukey. Cada barra representa la media  $\pm$  el error estándar de 10 hembras SD LY y HY.

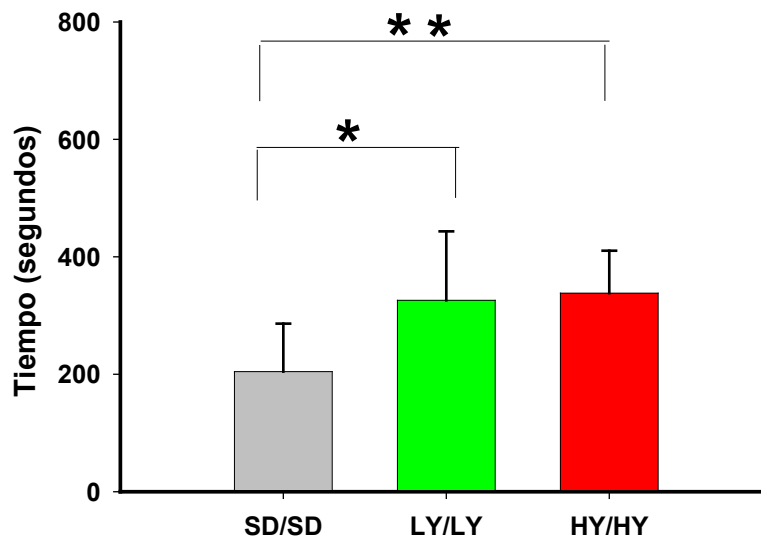
### 8) Autoaseo de la madre

Una conducta no maternal que despliegan con más intensidad las hembras durante el periodo de observación es el autoaseo. Para esta conducta el análisis de los resultados no mostró diferencias significativas entre los tres grupos de hembras  $F_{(2,135)}=2.7$ ,  $p>0.05$  ni para los cinco días observados  $F_{(4,135)}=1.7$ ,  $p>0.05$ , tampoco encontramos interacción entre los grupos de hembras y los días  $F_{(8,135)}=0.7$ ,  $p>0.05$ .

### 9) Exploración de la caja

Cuando la madre se encuentra fuera del nido una de las conductas más observada es la exploración de la caja. El análisis estadístico de los resultados mostró diferencias significativas entre los grupos de hembras  $F_{(2,135)}=6.4$ ,  $p<0.05$  prueba de Tukey  $q=4.6$

$p < 0.05$  SD vs. HY,  $q = 4.1$ ,  $p < 0.01$  SD vs. LY, véase figura 16. Con respecto a los días no se encontraron diferencias significativas  $F_{(4,135)} = 1.2$ ,  $p > 0.05$ , no hubo interacción entre los días observados y los grupos de hembras  $F_{(8,135)} = 1.0$ ,  $p > 0.05$

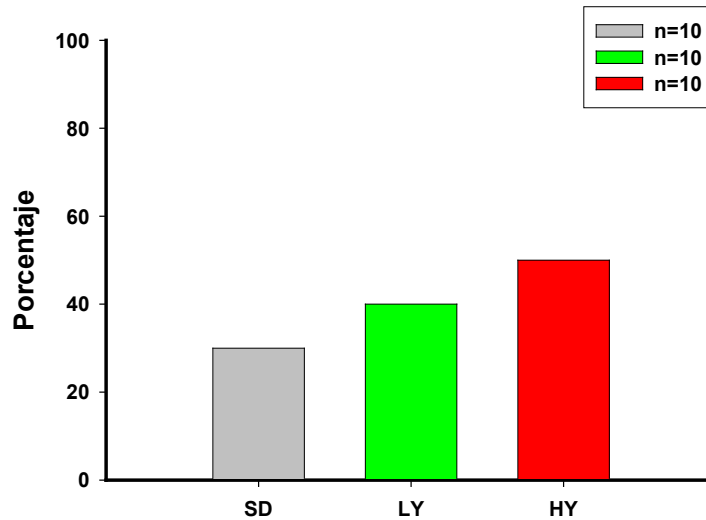


**Figura 16. Exploración de la caja.** Note que las hembras SD emplean menos tiempo en la exploración de la caja en comparación con las LY y HY. Cada barra representa la media  $\pm$  el error estándar. Prueba de Tukey \* $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ .

### Acarreo de la cola de la madre (circling)

Una conducta que observamos durante los registros de conducta maternal es el autoacarreo de la cola de la madre al nido como si fuera una cría más, esto también es llamado circling (Salas y cols 1984, Patin y cols. 2002). Los porcentajes encontrados fueron: hembras SD 30%, LY 47% y HY 53% figura 19, para las hembras con intercambio de crías es LYi 28% y HYi 28%, ver figura 17. Hay que mencionar sin embargo, que las hembras SD realizaron ésta conducta únicamente durante los días uno y tres de observación, en cambio las hembras LY y HY la presentaron alternadamente durante los cinco días observados. La prueba de Chi cuadrada no mostró diferencias significativas, hembras con crías propias ( $X^2 = 0.82$   $p > 0.05$ ), hembras con intercambio de crías ( $X^2 = 0.009$   $p > 0.05$ ).

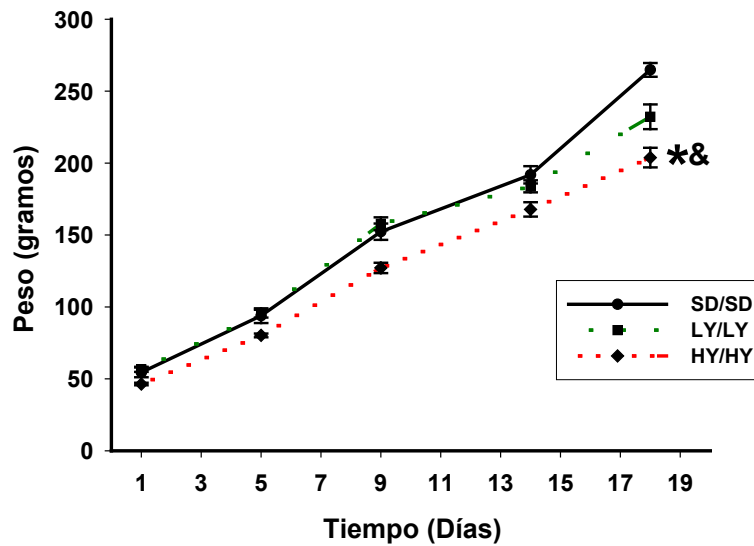




**Figura 17. Acarreo de la cola de la madre (circling).** Observe que las hembras Sprague-Dawley presentan el menor porcentaje de esta conducta y las hembras HY el mayor. Cada barra representa el porcentaje de hembras que acarrearón su cola.

## 10) Peso de las camadas

Un dato adicional que nos puede mostrar si hay o no una influencia de la madre sobre las crías es el peso de la camada, a este respecto los resultados mostraron que las crías SD son las que ganan más peso conforme avanzan los días de lactancia, seguidas de las crías LY y por último las HY que ganan menos peso durante los días en que se pesaron, el análisis estadístico mostró diferencias significativas para los grupos de hembras  $F_{(2,135)}=41.7$ ,  $p<0.01$ , prueba de Tukey hembras Sprague-Dawley vs. hembras HY  $q=6.9$ ,  $p<0.001$ , hembras LY vs. HY  $q=5.3$ ,  $p<0.01$  y para los días  $F_{(4,135)}=680.5$ ,  $p<0.001$ , también encontramos una interacción entre los días y los grupos de hembras  $F_{(8,135)}=5.4$ ,  $p<0.005$ , véase figura 18.



**Figura 18. Peso de las camadas.** Observe que las crías HY ganan menos peso a lo largo de los días observados. Cada punto representa la media  $\pm$  el error estandar de 10 camadas SD LY y HY.

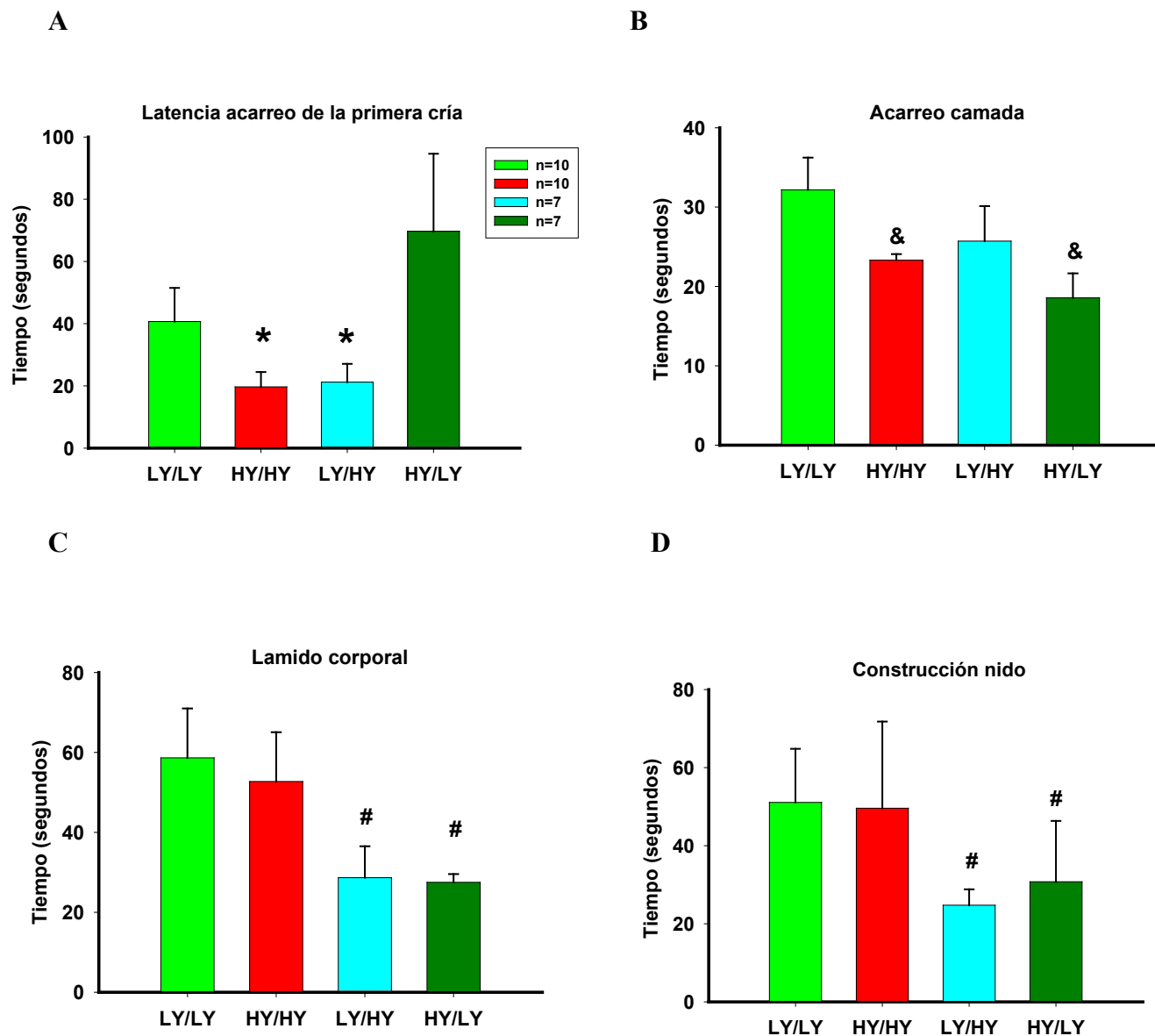
Para tratar de saber si la conducta de las hembras HY y LY con sus propias crías y con intercambio de las mismas era influenciada por las crías o la madre, se realizó un análisis de varianza de dos factores teniendo como uno de los factores a las madres y como otro factor a las crías.

Los resultados se presentan en la tabla 3 y en la figura. 19. Se puede observar de ellos la latencia al primer acarreo está influenciada por las crías como se puede apreciar en la figura 19A. El tiempo de acarreo de la camada presenta una influencia de parte de la madre tanto para las hembras con crías propias y con crías de intercambio, figura 19 B. Para las conductas de lamido corporal y construcción de nido se presentó una interacción de las crías con la madre, figura 19 C y D.

**Tabla 3. Influencia de las crías o la madre sobre las conductas maternas.**

<b>Conducta</b>	<b>Influencia de las Crías</b>	<b>Influencia de la madre</b>	<b>Interacción Madre-crías</b>
Latencia acarreo de la primera cría	F=4.65, p<0.05	n.s.	n.s.
Acarreo de la camada	n.s.	F=6.75, p<0.02	n.s.
Lamido corporal a las crías	n.s.	n.s.	F=6.35, p<0.02
Lamido genital a las crías	n.s.	n.s.	n.s.
Amamantamiento	n.s.	n.s.	n.s.
Construcción nido	n.s.	n.s.	F=4.36, p<0.05

n.s. = no significativo



**Fig 19. Influencias de las hembras y las crías sobre la CM.** Observe que las crías tienen influencia sobre la latencia al primer acarreo (A) \*  $p < 0.05$ , la madre la presenta sobre el acarreo de la camada (B) &  $p < 0.02$ , y para el lamido corporal y la construcción de nido existe una interacción entre la madre y las crías, figura C y D, #  $p < 0.02$ , Cada barra representa la media  $\pm$  el error estandar.

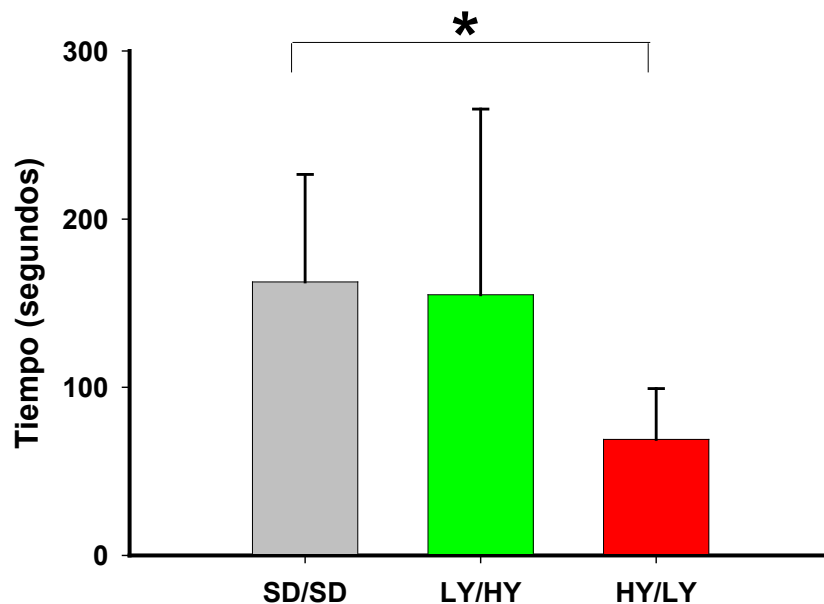
## **Hembras con crías de intercambio**

### **1) Latencia acarreo de la primera cría**

En estos animales nuevamente la menor latencia para acarrear a la primera cría la presentan las hembras HY y la mayor latencia las hembras SD. Sin embargo; en análisis estadístico no mostró diferencias significativas entre los grupos de ratas  $F_{(2,105)}=1.13$ ,  $p>0.05$ , ni para los días de observación  $F_{(4,105)}=0.83$ ,  $p>0.05$ , tampoco encontramos interacción entre los días y las sublíneas de ratas  $F_{(8,105)}=0.45$ ,  $p>0.05$ .

### **1) Acarreo de la camada**

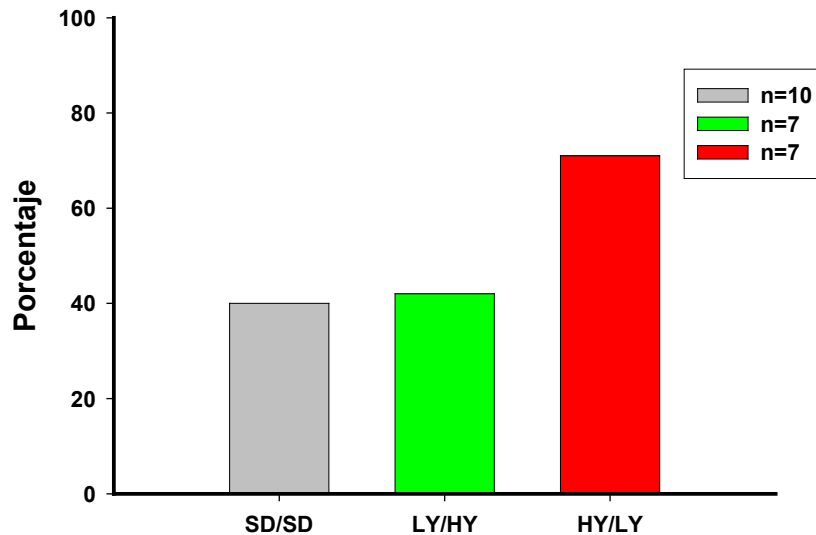
Los resultados encontrados para esta conducta mostraron diferencias entre los grupos de ratas en la duración del acarreo de toda la camada al nido  $F_{(2,105)}=3.71$ ,  $p<0.05$ , la prueba de Tukey mostró que las hembras HY invirtieron el menor tiempo en acarrear a sus crías en comparación con las hembras SD  $q=3.62$ ,  $p<0.05$ , en cuanto a los días observados no se encontraron diferencias significativas  $F_{(4,105)}=0.51$ ,  $p>0.05$ , tampoco hubo interacción entre los días de observación y los grupos de hembras  $F_{(8,105)}=0.17$ ,  $p>0.05$ , véase figura 20



**Figura 20. Tiempo de acarreo de la camada.** Observe que las ratas HY son las que invierten el menor tiempo en el acarreo de la camada. Cada barra representa la media  $\pm$  el error estandar de 10 hembras SD y 7 hembras LY y HY. \*  $p < 0.05$  prueba de Tukey.

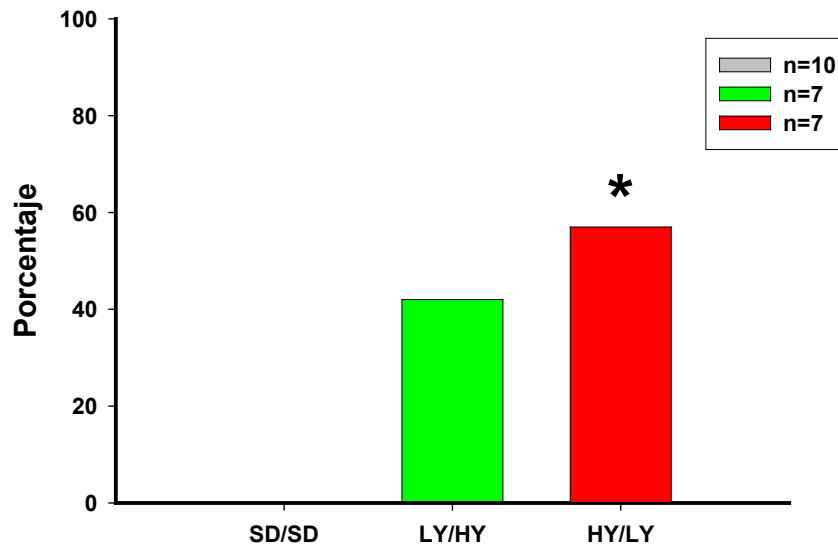
Aunque el tiempo es similar en todas las hembras, las ratas HY realizan varios intentos para acarrear a sus crías, pues en el primer intento muchas veces no lo realizan y dejan a las crías esparcidas en la caja.

En estos grupos también encontramos los reacarreos, y todas las hembras presentaron esta conducta, recordemos que el criterio establecido para considerar una hembra como reacarreadora fue que tuviera tres o más reacarreos en cualquiera de los días observados, los resultados se muestran en la figura 21 donde se muestra el porcentaje de hembras que reacarrearón a sus crías. La prueba de chi cuadrada no mostró diferencias significativas entre los grupos de hembras ( $\chi^2 = 1.82$   $p > 0.05$ ).



**Figura 21. Reareos en hembras con crías de intercambio** Observe que para esta conducta las hembras LY y HY con sus propias crías presentan más reareos que las hembras con intercambio de crías. Cada barra representa el porcentaje de hembras que rearrearon a sus crías.

También en esos grupos de hembras encontramos acarreo atípicos de las crías, el porcentaje de hembras LY/HY que realizaron esta conducta es de 42% predominando el acarreo de las crías por la parte abdominal, para las hembras HY es de 57%, encontrando acarreo de las crías tanto de la parte abdominal como de las extremidades inferiores. Se realizó una prueba de chi cuadrada para ver si existían diferencias entre los grupos de animales, los resultados muestran diferencias para las hembras HY/LY ( $\chi^2=9.08$   $p<0.05$ ), véase figura 22.



**Figura 22. Acarreos atípicos.** Observe que las hembras HY presentan el mayor porcentaje de reacarreos atípicos de las crías. \*  $p < 0.05$  prueba de chi cuadrada.

### 3) Lamido corporal a las crías

Los resultados obtenidos para las hembras con intercambio de crías no mostraron diferencias significativas para las sublíneas y las hembras SD  $F_{(2,105)}=1.6$ ,  $p > 0.05$ , en cuanto a los días observados tampoco se encontraron diferencias  $F_{(4,105)}=0.47$ ,  $p > 0.05$ , no se presentó interacción entre los días observados y los grupos de hembras  $F_{(8,105)}=1.2$ ,  $p > 0.05$ .

Adicionalmente se realizó la comparación entre las hembras con intercambio de crías y aquellas con sus propias crías por medio de la prueba de t de Student, encontrando diferencias significativas para el día siete de lactancia en las hembras LY ( $t=3.27$ ,  $p < 0.02$ ).

### Lamido genital a las crías

Al realizar el análisis estadístico para esta variable no encontramos diferencias significativas ni para los grupos de hembras  $F_{(2,105)}=1.8$ ,  $p > 0.05$ , ni para los días observados  $F_{(4,105)}=1.4$ ,  $p > 0.05$ , tampoco encontramos interacción entre los días y los grupos de hembras  $F_{(8,105)}=1.8$ ,  $p > 0.05$ .

Cuando se realizó la comparación entre las hembras con crías propias y de intercambio encontramos diferencias en las hembras LY en el día siete de lactancia, t de



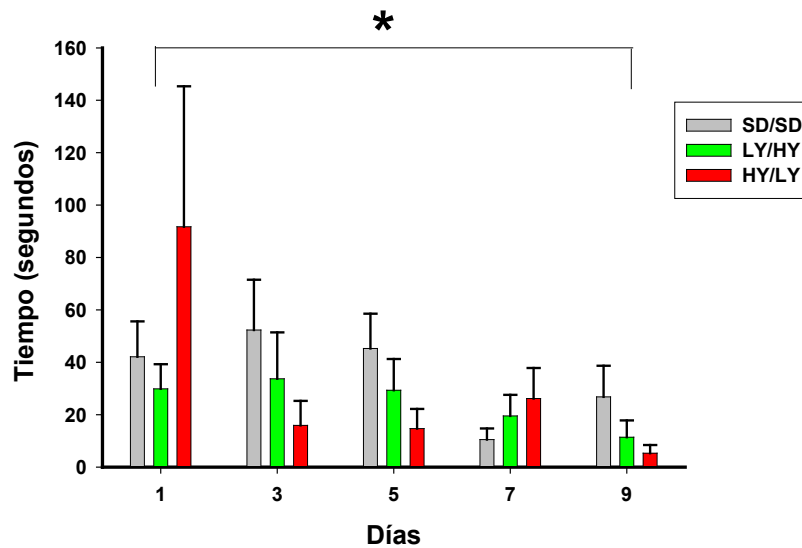
Student, ( $t=2.84$ ,  $gl=9$ ,  $p<0.05$ ), para las hembras HY las diferencias se encontraron en el día tres de lactancia  $t$  de Student ( $t=2.34$ ,  $gl=15$ ,  $p<0.05$ ).

#### **4) Amamantamiento**

Con respecto a las hembras con intercambio de crías tampoco se encontraron diferencias significativas ni entre los grupos de hembras  $F_{(2,105)}=1.5$ ,  $p>0.05$  ni entre los días observados  $F_{(4,105)}=0.19$ ,  $p>0.05$ , tampoco hubo interacción de los días con los grupos de hembras  $F_{(8,135)}=1.2$ ,  $p>0.05$

#### **5) Reconstrucción del nido**

Para las hembras de intercambio los resultados mostraron que todas las hembras invirtieron tiempos similares en la construcción del nido. Al realizar el análisis estadístico no se encontraron diferencias significativas entre los grupos de hembras  $F_{(2,105)}=0.5$ ,  $p>0.05$ , se encontraron diferencias significativas para los días de observación  $F_{(4,105)}=2.5$ ,  $p<0.05$  la prueba de Tukey mostró que las diferencias estuvieron en el día uno y nueve de lactancia  $q=4.3$ ,  $p<0.05$  véase figura 23, no hubo interacción entre los días observados y los grupos de hembras  $F_{(8,105)}=1.4$ ,  $p>0.05$ .



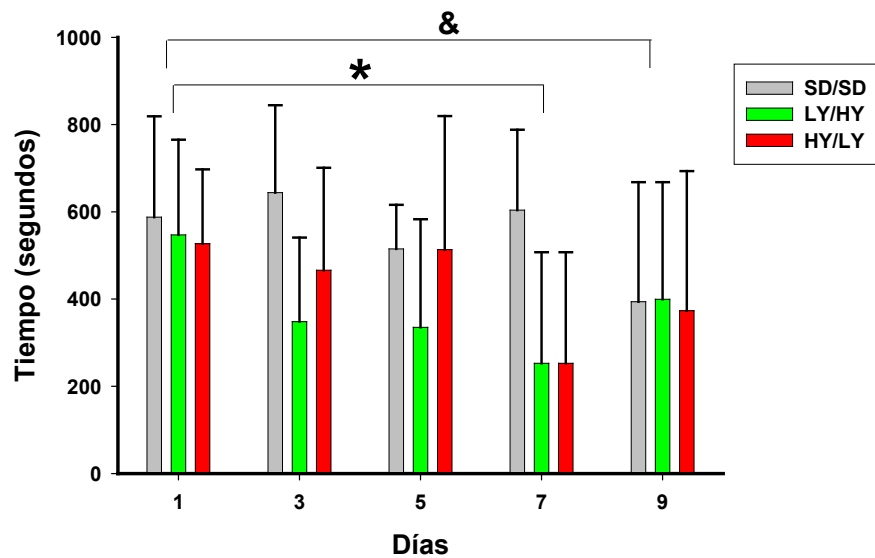
**Figura 23. Duración de reconstrucción del nido.** Note que en ambas situaciones en el día uno es donde se presenta la mayor duración de construcción de nido. Cada barra representa la media  $\pm$  el error estandar. \* $p < 0.05$ , día uno vs. día nueve prueba de Tukey.

## 6) Calidad del nido

En cuanto a la calidad del nido los resultados encontrados fueron hembras SD nidos con puntaje 3 y 4 es decir nidos compactos con altura de cinco centímetros o más, hembras LY nidos calidad 2 y 1, es decir nidos de mala calidad y la mayoría de las hembras HY nidos con calidad 1, nidos con mala calidad, con poca altura, laxos y con el material del nido esparcido.

## 7) Tiempo dentro del nido

Para las hembras con intercambio de crías los resultados mostraron que no hay diferencias al comparar entre los tres grupos de hembras  $F_{(2,105)}=2.8$ ,  $p > 0.05$  pero si al realizar la comparación entre los días,  $F_{(4,105)}=3.4$ ,  $p < 0.05$ , prueba de Tukey día uno vs. Día siete  $q=4.53$ ,  $p < 0.05$ , día uno vs. Día nueve  $q=4.06$ ,  $p < 0.05$ . véase figura 24, No hubo interacción entre los grupos de hembras y los días  $F_{(8,105)}=1.9$ ,  $p > 0.05$ .



**Figura 24. Tiempo dentro del nido.** Observe que el menor tiempo que la hembra pasa dentro del nido es en los días siete y nueve. Prueba de Tukey \*  $p < 0.05$  día uno vs. Día siete, &  $p < 0.05$  día uno vs. Día nueve. Cada barra representa la media  $\pm$  el error estandar.

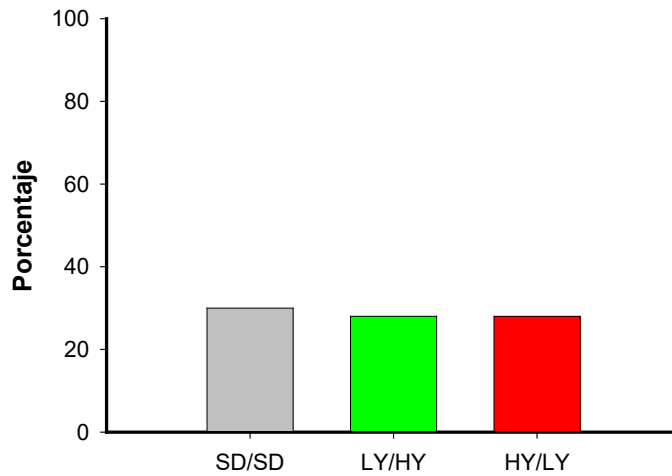
### 8) Autoaseo de la madre

Para esta conducta el análisis de los resultados no mostró diferencias significativas entre los tres grupos  $F_{(2,105)}=2.5$ ,  $p > 0.05$ , tampoco encontramos diferencias en los días observados  $F_{(4,105)}=0.6$ ,  $p > 0.05$ , no hubo interacción entre los días y las hembras Sprague-Dawley o las sublíneas  $F_{(8,105)}=0.65$ ,  $p > 0.05$

La comparación entre hembras con intercambio de crías y con crías propias no mostró diferencias significativas.

### Acarreo de la cola de la madre (circling)

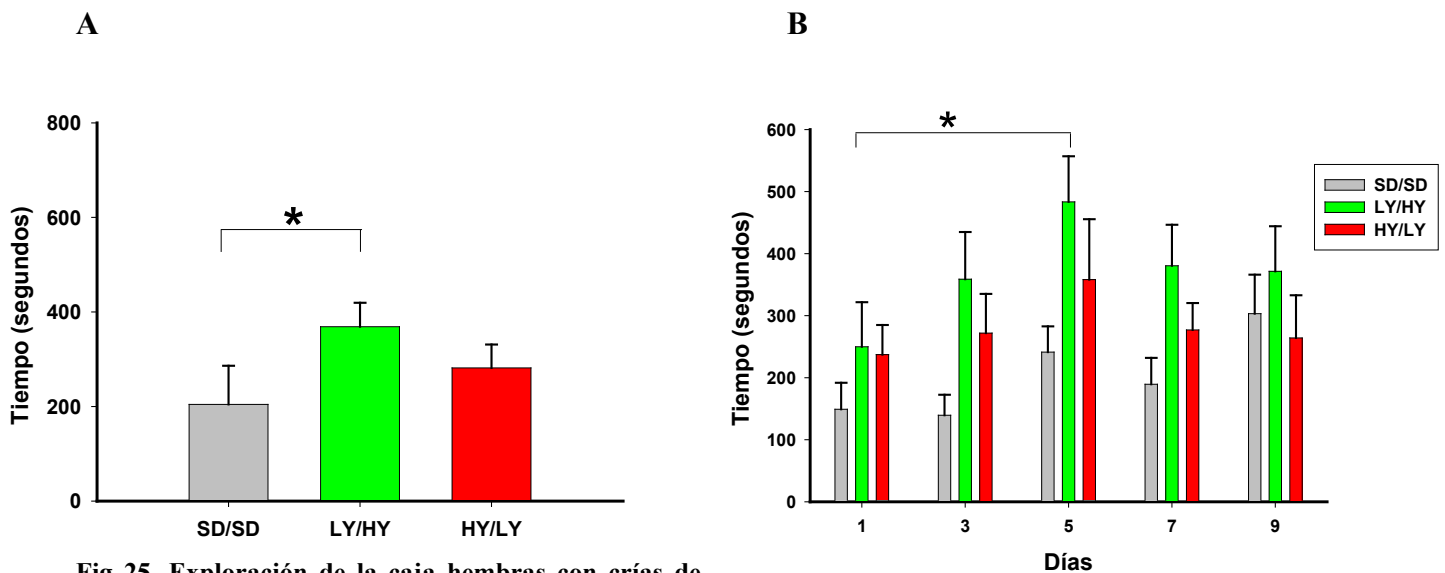
También observamos el autoacarreo de la cola de la madre al nido. Los porcentajes encontrados fueron: hembras SD 30%, LY/HY 28% y HY/LY 28% figura 26. Hay que mencionar sin embargo, que las hembras SD realizaron ésta conducta únicamente durante los días uno y tres de observación, en cambio las hembras LY/HY y HY/LY la presentaron alternadamente durante los cinco días observados. La prueba de Chi cuadrada no mostró diferencias significativas, ( $X^2=0.009$ ,  $p > 0.05$ ).



**Figura 26. Acarreo de la cola de la madre (circling).** Observe que el porcentaje de hembras que acarrear su cola es similar para los tres grupos.

### 9) Exploración de la caja

Para las hembras con intercambio de crías los resultados mostraron diferencias en relación a los grupos de hembras  $F_{(2,135)}=4.3$ ,  $p<0.05$  prueba de Tukey  $q=4.15$ ,  $p<0.05$  entre las hembras SD y las LY/HY, véase figura 25A con respecto al día de observación los resultados del análisis de varianza también mostraron diferencias significativas  $F_{(4,105)}=3.8$   $p<0.05$  prueba de Tukey  $q=5.2$ ,  $p<0.05$  entre los días uno y cinco de lactancia véase figura 25B, no se encontró una interacción entre estas dos variables,  $F_{(8,105)}=1.0$ ,  $p>0.05$ .

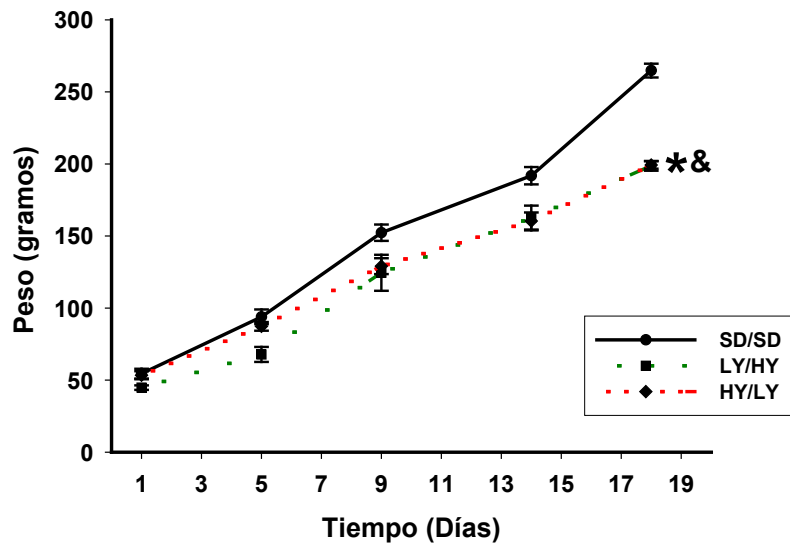


**Fig 25. Exploración de la caja hembras con crías de intercambio.** La gráfica A muestra las diferencias por grupos de animales y la gráfica B las diferencias por días. Observe en A que las hembras SD exploran menos la caja en comparación con las hembras LY y HY &  $p < 0.03$  La misma situación tenemos en B, \*  $p < 0.005$  día 1 vs. Día 5. Cada barra representa la media  $\pm$  el error estándar.

La comparación entre hembras con crías propias y de intercambio no mostró diferencias significativas.

## 10) Peso de las camadas

Las camadas que fueron criadas por madres de intercambio mostraron que también hubo diferencias entre el grupo de hembras  $F_{(2,105)}=13.8$ ,  $p < 0.05$ , prueba de Tukey hembras Sprague-Dawley vs. LY  $q=6.8$ ,  $p < 0.05$ , Hembras Sprague-Dawley vs. HY  $q=5.5$ ,  $p < 0.05$  y los días en que las camadas fueron pesadas  $F_{(4,105)}=1083$ ,  $p < 0.001$ , así como una interacción entre los días y los grupos de hembras  $F_{(8,105)}=16.5$ ,  $p < 0.05$ , sin embargo, los pesos entre crías LY y HY son más uniformes, sugiriendo que hay un efecto de la madre en esta variable, véase figura 27



**Figura 27. Peso de las camadas.** Observe que las crías LY y HY criadas por madres de intercambio tienen una ganancia de peso similar y ganan menos peso en comparación con las crías SD. Cada punto representa la media  $\pm$  el error estandar de 10 camadas SD, 7 LY/HY y 7 HY/LY.

## 7.5 Discusión

Los resultados de este experimento mostraron que en todas las hembras estuvieron presentes los componentes de la conducta maternal reportados en la literatura (acarreo de las crías, lamido corporal y genital, amamantamiento). Por lo que podemos decir que nuestros resultados apoyan la primera hipótesis puesto que la conducta maternal mostrada por las hembras de las sublíneas LY y HY es deficiente en comparación a la mostrada por las hembras Sprague-Dawley.

Encontramos alteraciones en la conducta de acarreo de las crías y la calidad del nido siendo más evidentes estas alteraciones en las ratas HY.

Otra conducta encontrada en estas hembras es el acarreo de la cola de la hembra al nido, siendo más frecuente en las hembras HY. Con respecto a esta conducta Rosenblatt y Lerhman en 1963 reportan que las hembras lo realizan por error. Por otra parte, Salas y cols. (1984) realizaron estudios de conducta maternal en hembras desnutridas y encontraron que las hembras con estrés por desnutrición presentaban frecuencias de acarreo de la cola mayores a las mostradas por los animales control, estos autores asociaron esta conducta al estrés al que estaban sometidos los animales.

También estuvieron presentes los denominados reacarreos, Rosenblatt y Lehrman (1963) reportan que cuando una hembra no puede mantener un nido estable acarrea demasiadas veces a las crías y las deposita en cualquier sitio de la caja, lo descrito en las ratas HY se asemejaría a lo reportado por estos autores.

La otra conducta que encontramos en bajo porcentaje en las hembras LY y sobre todo en las hembras HY fue el acarreo atípico de las crías, a este respecto Salas y cols. (2002) encontraron que las madres desnutridas presentaban alteraciones en la manera de acarrear a sus crías. Mientras una madre normal acarrea a las crías por el cuello, cabeza o nuca, una madre desnutrida lo hace acarreando a las crías de cualquier parte del cuerpo provocándoles estrés y vocalizaciones. Ellos creen que estas deficiencias en el acarreo se deben a defectos en la discriminación visual, ya que estas alteraciones se presentaron en animales desnutridos y deprivados sensorialmente.

Sin embargo, en nuestro trabajo no se realizaron pruebas encaminadas a evaluar el estado nutricional de los animales para poder detectar si estaban cursando por un estado de

desnutrición, aquí cabe recalcar que el alimento y el agua son proporcionados a libre acceso en todas las ratas, sin embargo, las curvas de peso muestran un retardo en el crecimiento de las ratas HY y este efecto fue significativo. Por ello creemos conveniente analizar si esto se debe a alteraciones en el metabolismo de los animales o alguna anomalía en la absorción de los nutrientes.

Otro aspecto importante encontrado en las ratas HY son los intentos de acarreo de las crías al nido, dejándolas muchas veces esparcidas fuera del mismo. Byrnes y cols. 2002 administraron subcutáneamente SCH 23390, un antagonista dopaminérgico D<sub>1</sub>, encontrando que la dosis de 1.0 mg/kg/día provocaba que las hembras frecuentemente dejaran esparcidas a las crías fuera del nido o bien acarreaban a las crías al nido y después salían de éste y se instalaban en cualquier otra parte de la caja, estos hallazgos coinciden con lo encontrado en el 50% de las ratas HY.

En el mismo trabajo también se administró un antagonista de la familia D<sub>2</sub> cleboprida (1.0 mg/kg/día) el cual provocó un aumento en la latencia al acarreo de la primera cría y el tiempo necesario para acarrear a todas las crías, además se alargó la latencia para amamantarlas. Estos autores concluyen que es necesaria la activación tanto de los receptores D<sub>1</sub> como de los D<sub>2</sub> para una adecuada expresión de la conducta maternal.

En los resultados obtenidos por Díaz-Romero y cols. 2005 las ratas HY presentan una disminución en los niveles de dopamina en el núcleo accumbens, además de una elevación en los receptores D<sub>1</sub> en el estriado ventral. También se sabe que una elevación en el número de receptores a un neurotransmisor dado se da en respuesta a bajos niveles de dicho neurotransmisor por el fenómeno de regulación hacia arriba esto nos pudiera indicar de manera indirecta que también existe una disminución de dopamina en esta estructura, estos resultados pueden explicar en parte las alteraciones de las hembras HY para acarrear a sus crías.

Kerr y Stern en 1999 usando microinyecciones bilaterales de un antagonista dopaminérgico cis- flupentixol (FLU) (antagonista D<sub>1</sub>/D<sub>2</sub>) a dosis de 5, 10 ó 20 µg/µl en el núcleo accumbens, área ventral tegmental, el estriado dorsomedial y mediolateral y 20 ó 40 µg/µl en los ventrículos laterales, administradas los días 7, 8 ó 9 a hembras Sprague-Dawley lactantes encontraron que tres componentes de la conducta maternal dirigidos hacia



las crías fueron afectados de diferentes maneras. El acarreo fue reducido de manera dosis dependiente y solo ocurrió si la administración se hacía en la corteza del accumbens.

El lamido de las crías disminuyó significativamente después de la infusión en el estriado siendo más marcado en el núcleo accumbens que en el estriado dorsomedial, pero no tuvo efecto sobre el acarreo. La duración del amamantamiento se incrementó significativamente solo por las administraciones del flupentixol en el accumbens sin cambios en el acarreo (Kerr y Stern 1999).

Nuevamente los resultados anteriores apoyan la teoría de que cambios en la transmisión dopaminérgica provocan alteraciones en el desempeño de la conducta maternal, lo cual concuerda con las alteraciones encontradas en las ratas HY.

Li y Fleming (2003) analizaron el efecto de las lesiones en el núcleo accumbens ya sea en la corteza o en la parte interna antes del parto sobre el desempeño maternal. Las manipulaciones neuroquímicas de este núcleo mostraron que está involucrado en los componentes activos de la conducta maternal: acarreo, lamido, y construcción del nido. Las lesiones electrolíticas del accumbens antes de la preñez produjeron emocionalidad elevada y un pobre desempeño maternal dado que hay una alta mortalidad de las crías y canibalismo. Los autores atribuyeron los déficits en la conducta maternal a la elevada activación simpática, la cual lleva a desorganización general de la conducta maternal.

Las madres con la corteza del accumbens lesionada gastan más tiempo en otras actividades: olfatear el aire, olfatear a las crías o lamerlas, entre cada acarreo sin mostrar alteraciones en la latencia al acarreo de la primera cría.

La corteza del núcleo accumbens está involucrada en la atención general, pero no en la iniciación de la motivación maternal por lo que los autores proponen que la corteza de este núcleo participa en el mantenimiento de la atención necesaria para la expresión normal del acarreo de las crías (Li y Fleming 2003).

Algo que no fue cuantificado en este trabajo pero se manifestó durante las observaciones es que las ratas HY también gastan más tiempo en olfatear el aire y realizar otras actividades entre cada acarreo en comparación con las hembras LY y SD pero no muestran latencias largas de acarreo de la primera cría, lo cual concuerda con lo reportado por Li y Fleming en el 2003.

Hay que recalcar que aunque gastaran tiempo en otras actividades entre los acarreos el tiempo que utilizaron para acarrear a todas las crías fue menor que el utilizado por las hembras LY y SD, sin embargo, una vez colocadas las crías dentro del nido las hembras se dedicaban a otras actividades.

La otra causa que proponemos como posible participante en las alteraciones encontradas en las ratas HY es el estrés.

Macari y cols. (2003) mencionan que el estrés o la desnutrición de la madre provocan anormalidades fisiológicas y conductuales en la progenie las cuales pueden ser de corto y largo plazo como son: bajo peso al nacimiento, morbilidad infantil incrementada, retardo en la locomoción y cognición así como una ansiedad incrementada y alteraciones del sueño-vigilia.

El feto es muy sensible al medio ambiente y la ansiedad incrementada en la madre puede influenciar el desarrollo de éste. El estrés prenatal programa el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal y la plasticidad del sistema monoaminérgico del cerebro en desarrollo subyace en parte estos cambios (Phillips y cols 1998, Levitt y cols. 2000, citados en Macari y cols. 2003).

Con base en todas las evidencias presentadas nosotros sugerimos que las alteraciones encontradas en la conducta maternal de las ratas HY pueden deberse a las alteraciones dopaminérgicas (factor genético) presentes en estos animales sumados al estrés prenatal (factor epigenético) de las madres. Este último punto requiere de experimentos encaminados a analizarlo.

Con respecto a la conducta maternal de las hembras con intercambio de crías los resultados mostraron que los intercambios no afectaron de manera importante la conducta maternal de las hembras, puesto que las hembras HY siguieron presentando las menores duraciones para acarrear a las crías así como las alteraciones en el acarreo siendo mayores también en las hembras HY aunque estas tuvieron crías LY. Sin embargo, el porcentaje de acarreos atípicos disminuyó en las hembras HY/LY y aumentó en las hembras LY/HY lo cual sugiere que las crías tienen un efecto sobre la conducta de acarreo de la madre.

Rosenblatt y Lehrman 1963 reportan que las hembras llegan a ser capaces de discriminar entre sus propias crías y crías extrañas de la misma edad. La hembra comienza

a acarrear a sus propias crías en un periodo corto de tiempo y después acarrear a las extrañas.

Por otra parte, Fleming y cols. (1999) encontraron que la unión madre-cría involucra la formación de un reconocimiento olfativo asociado con estimulación somática (el lamido y el amamantamiento) por lo que las hembras durante las horas posteriores al parto ya formaron un enlace olfativo con los olores de sus propias crías y aunque en este proyecto el intercambio se realizó en el día de parto la madre puede reconocer y discriminar entre sus crías y las de otra sublínea .

Este hallazgo nos sugiere que tal vez los estímulos provistos por las crías hacia la madre no son los adecuados y por lo tanto la hembra no despliega la conducta de acarreo adecuada sobre todo en las hembras HY y al intercambiar a las crías los estímulos provistos por crías diferentes ayudan un poco a disminuir las alteraciones en la conducta de acarreo.

En cuanto al peso de la camada los resultados encontrados indican que las crías HY tienen menos peso desde el momento del nacimiento y también ganan menos peso a lo largo de la lactancia, véase figura 18. Cuando se realiza el intercambio encontramos que aunque estas crías ganan un poco de peso siguen siendo más livianas en comparación con las SD. Es importante notar que las crías LY tienden a pesar menos que las Sprague-Dawley y más que las HY sin embargo, al realizar el intercambio su ganancia de peso a lo largo de los días observados es menor que cuando las crías su madre biológica, véase figura 27. Esto nos puede estar sugiriendo un posible problema en la leche de las hembras HY, ya sea en la formación o la eyección de la misma. Esto requiere de la realización de experimentos encaminados a dilucidar esta hipótesis, por lo que creemos necesaria la medición de las hormonas prolactina y oxitocina en la sangre de estos animales, así como el análisis de las estructuras encargadas de la liberación de estas hormonas en el hipotálamo y/o hipófisis.

## **8. RESPUESTA AL ESTRÉS DE LA GENERACIÓN F1 EN ETAPA ADULTA**

### **8.1. Objetivo específico**

Determinar la influencia del cuidado materno sobre la respuesta al estrés en el campo abierto de las crías hembras y machos en la etapa adulta.

### **8.2 Predicciones**

Las ratas HY se estresarán más en la prueba de campo abierto en comparación con lo mostrado por las ratas de la sublínea LY.

El intercambio de crías no producirá cambios en la respuesta al estrés de las hembras y machos de cada sublínea.

### **8.3. Metodología**

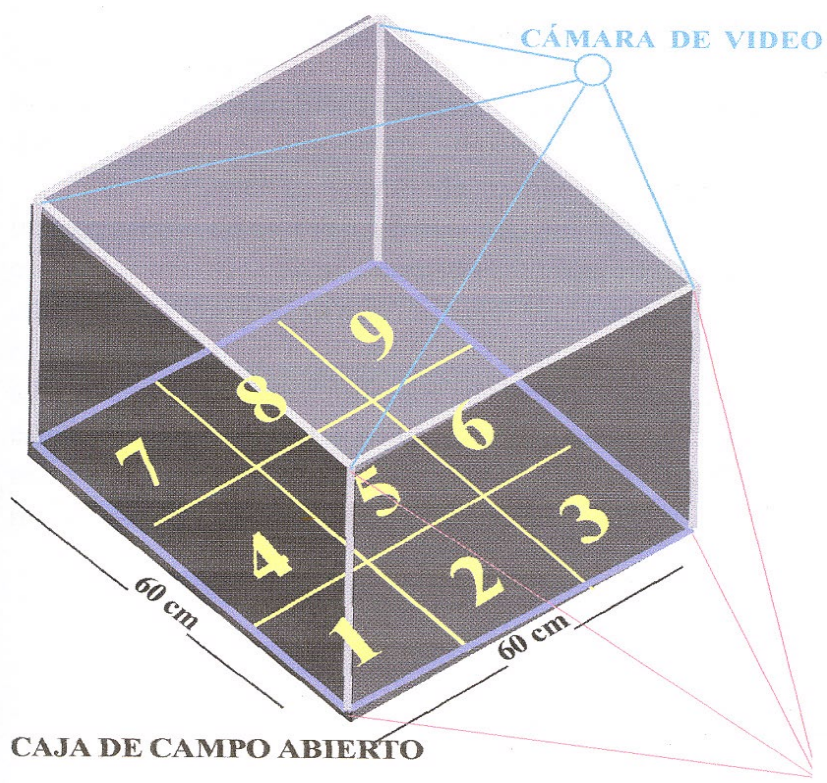
La caja de campo abierto es un cubo de madera de 60x60x50 cm pintado de negro con un vidrio oscuro al frente, esto para evitar la interacción entre el sujeto experimental y el observador. El piso está cubierto con un hule negro dividido en nueve cuadros de 20 cm<sup>2</sup> cada uno, la iluminación proviene de un foco de luz incandescente de 75 watts colocado en la parte superior de la caja.

Esta prueba se realizó en un horario de 10:00 a 13:30 horas. El observador introdujo al animal en el cuadro marcado con el número 1 dentro de la caja de campo abierto que tiene una antecámara cerrada. Posteriormente se retiró la antecámara para dar inicio al registro durante 15 minutos de las siguientes conductas:

- 1) Latencia de salida: tiempo que la rata tarda en salir de cuadro uno con las cuatro patas.
- 2) Número de visitas al cuadro central
- 3) Número de apoyos y erguidos
- 4) Duración de aseo (segundos).

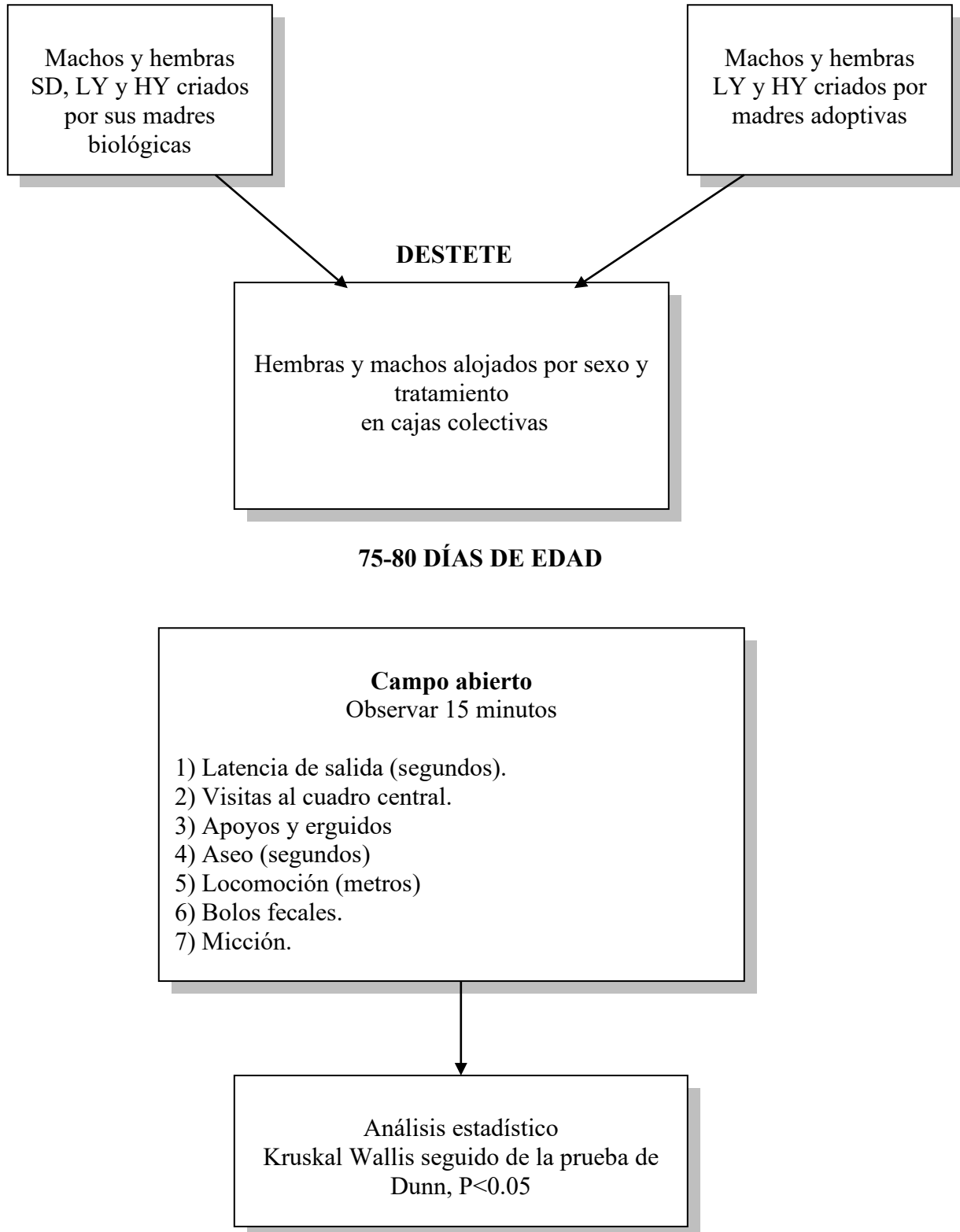
- 5) Locomoción en metros (número de cuadros cruzados por 20 cm).
- 6) Número de bolos fecales.
- 7) Micción.

Entre un animal y otro la caja se limpió con una solución que retira rastros de olores dejados por los animales y así evitar que influyan sobre la conducta del siguiente, esta solución contiene, alcohol etílico, alcohol isopropílico, pino, extrán, amoniaco y agua. Las pruebas de campo abierto fueron video filmadas para ser analizadas posteriormente con el programa “The Observer Video Pro” versión 3.0 para Windows.



**Fig 22. Caja de campo abierto.** La sesión conductual se videofilma durante 15 minutos. Al inicio de cada sesión la rata se coloca sobre el cuadro marcado con el número 1. (modificado de Moyaho y cols. 1995)

**DIAGRAMA DE TRABAJO  
RESPUESTA AL ESTRÉS**



## **8.4 Resultados**

### **Machos y hembras criados por sus madres biológicas**

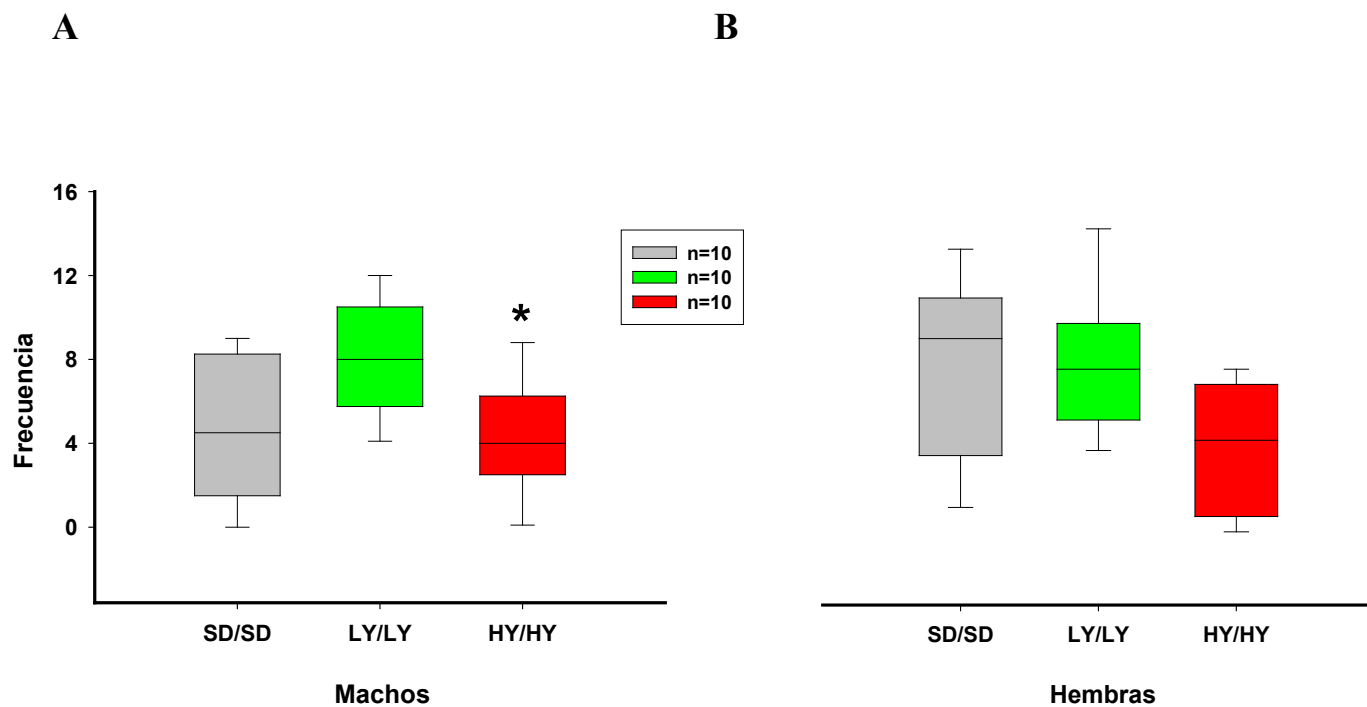
#### **1) Latencia de salida**

Para esta conducta los resultados muestran que las hembras y machos SD presentan las menores latencias de salida. En cuanto a los animales HY y LY encontramos que las hembras muestran una tendencia a salir primero del cuadro uno. Sin embargo, al realizar el análisis estadístico no se encuentran diferencias significativas, machos Kruskal Wallis.  $H=5.18$ ,  $gl=2$ ,  $p>0.05$ , hembras  $H=4.89$ ,  $gl=2$ ,  $p>0.05$ .

#### **2) Visitas al cuadro central**

De manera general podemos decir que las ratas que visitan más veces el cuadro central son las hembras y dentro de este grupo las que más visitan el centro de la caja son las LY, las HY realizan menos visitas al cuadro central, pero al realizar el análisis estadístico no se encontraron diferencias significativas al realizar la prueba de comparaciones múltiples, Kruskal Wallis  $H=6.70$ ,  $gl=2$ ,  $p<0.03$ , sin embargo, la prueba de Dunn no mostró diferencias significativas.

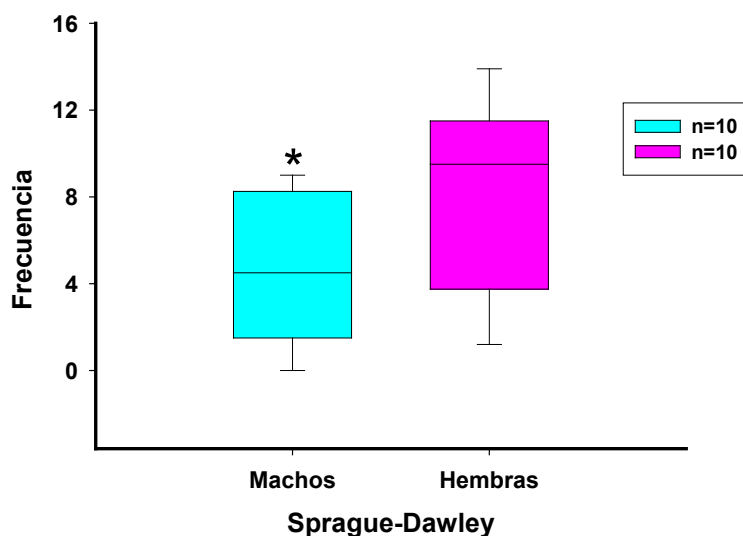
En cuanto a los machos los animales que más veces visitan el cuadro central son los LY, los HY y SD presentan valores similares, Kruskal Wallis  $H=7.87$ ,  $gl=2$ ,  $p<0.02$ , prueba de Dunn  $Q=2.56$ , LY vs. HY  $p<0.05$ , figura. 28.



**Fig 28. Visitas al cuadro central.** Machos (A) hembras (B). Observe en A que los machos LY visitan el centro de la caja más veces que los SD y HY. En B las hembras que menos visitan el cuadro central son las HY. Machos \*  $p < 0.05$  LY, vs. HY. Cada caja representa la mediana más los rangos intercuartiles

Al realizar la comparación entre hembras y machos dentro de un mismo grupo (es decir machos SD contra Hembras SD y así para las LY y HY) encontramos que la única diferencia significativa estuvo entre los machos y hembras Sprague-Dawley, aquí encontramos que los machos realizaron menos visitas al cuadro central que las hembras U de Mann Whitney  $W=78.0$ , ( $p < 0.05$ ), figura 29.





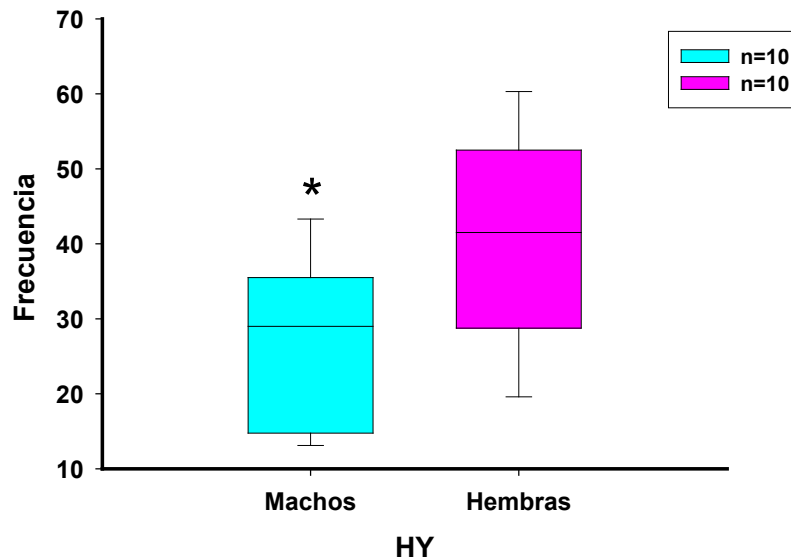
**Fig 29. Visitas al cuadro central en hembras y machos SD.** Observe que los machos realizan menos visitas al cuadro central que las hembras. Las cajas representan la mediana más los rangos intercuartiles. \*  $p < 0.05$  U de Mann Whitney.

Cuando se compararon las ratas de intercambio con las que fueron criadas por sus propias madres no se encontraron diferencias significativas.

### 3) Apoyos

Los resultados para esta variable nuevamente mostraron que las hembras realizan más apoyos y erguidos que los machos.

Los animales LY tanto machos como hembras mostraron una tendencia a realizar más apoyos cuando los comparamos con los Sprague-Dawley y los HY. Sin embargo, al realizar el análisis estadístico no encontramos diferencias significativas cuando comparamos entre grupos Machos Kruskal Wallis  $H=5.46$ ,  $gl=2$ ,  $p > 0.05$ , hembras  $H=2.62$ ,  $gl=2$ ,  $p > 0.05$ . Al comparar machos contra hembras dentro de un mismo grupo solo se encontraron diferencias significativas entre los machos y hembras HY, U de Mann Whitney  $W=37.5$ ,  $p < 0.03$ , véase fig 30.



**Fig 30. Apoyos en machos y hembras HY.** Observe que los machos presentan menor número de apoyos que las hembras. Las cajas representan la mediana más los rangos intercuartiles. \*  $p < 0.03$ .

Cuando se realizó la comparación con las hembras y machos criados por sus madres biológicas tampoco se encontraron diferencias significativas.

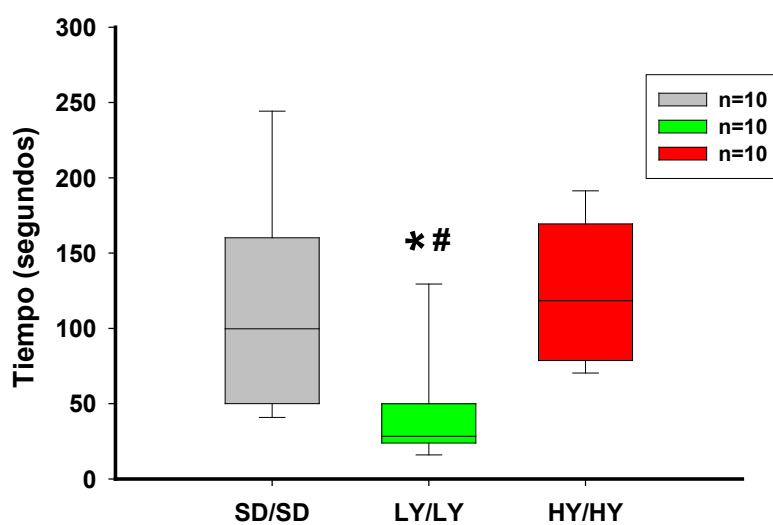
## Erguidos

En cuanto a los erguidos los machos LY presentaron más erguidos teniendo una mediana de 25.5 muy semejante a los presentados por los Sprague-Dawley (20 erguidos), en cambio los machos HY presentaron menos erguidos. En cuanto a las hembras las Sprague-Dawley presentaron más erguidos, las hembras HY y LY tienen valores muy similares. Para esta variable nuevamente el análisis estadístico no mostró diferencias significativas al realizar la comparación de machos y hembras por separado, machos Kruskal Wallis  $H=2.81$ ,  $gl=2$ ,  $p > 0.05$ , hembras  $H=4.63$ ,  $gl=2$ ,  $p > 0.05$ , tampoco la encontramos al comparar machos contra hembras dentro de un mismo grupo.

Cuando se realizó la comparación con las hembras y machos criados por sus madres biológicas no se encontraron diferencias significativas.

#### 4) Aseo

Los resultados encontrados en esta conducta fueron: los machos Sprague-Dawley mostraron las mayores duraciones de aseo y los de menor duración de aseo los LY. También encontramos que los machos tendieron a asearse más que las hembras con la única excepción de los animales HY, donde la situación se invirtió y las hembras se asearon más que los machos, el análisis estadístico mostró diferencias significativas al hacer las comparaciones entre hembras Kruskal Wallis  $H=12.89$ ,  $gl=2$ ,  $p<0.002$ , seguido de la prueba de Dunn SD vs. LY  $p<0.05$ , LY vs. HY  $p<0.01$ , figura 26. En cuanto a los machos no hay diferencias significativas Kruskal wallis  $H=3.67$ ,  $gl=2$ ,  $p>0.05$ , ni al comparar entre ambos sexos en un mismo grupo.



**Fig 31. Aseo en hembras.** Como se observa las hembras LY presentan los menores tiempos de aseo.  
\*  $p<0.05$  SD vs. LY, #  $p<0.01$  LY vs. HY. Cada caja representa la mediana más los rangos intercuartiles.

## 5) Locomoción

En cuanto a la locomoción medida en metros recorridos por rata, encontramos una tendencia a que las hembras presenten más locomoción que los machos. En cuanto a la distancia por grupos encontramos que los animales Sprague-Dawley tanto hembras como machos recorren las mayores distancias, mientras que los machos LY y HY prácticamente recorren la misma distancia. El análisis estadístico no mostró diferencias significativas al realizar las comparaciones entre grupos y machos contra hembras. Kruskal Wallis machos  $H=0.43$ ,  $gl=2$ ,  $p>0.05$ , hembras  $H=1.20$ ,  $gl=2$ ,  $p>0.05$ .

## 6) Bolos fecales

En cuanto al número de bolos fecales en esta prueba los resultados de los grupos mostraron lo siguiente:

Tabla 4. Número de bolos fecales

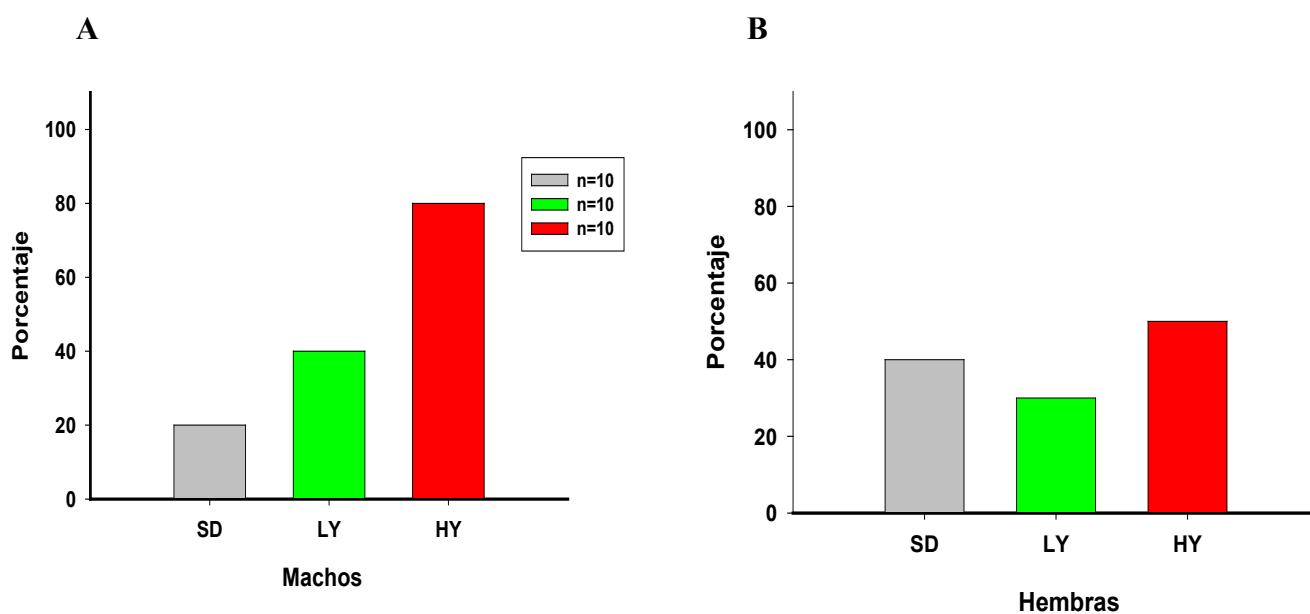
	SD	LY	HY	LYi	HYi
<b>Machos</b>	0.5 0-2 (0-6)	0.5 0-3 (0-4)	1 0-2.5 (0-4)	0 0-1 (0-3)	2 0.5-3.5 (0-5)
<b>Hembras</b>	0 0-0 (0-3)	0 0-0 (0-2)	0 0-2 (0-2)	0 0-1 (0-2)	0 0-0 (0-2)

Los valores representan la mediana más los rangos intercuartiles, valores en paréntesis son los mínimos y máximos.

Los machos presentaron más bolos fecales que las hembras, hay que notar también que las medianas para las hembras son de cero, esto es porque casi no defecaron durante la prueba de campo abierto. El análisis estadístico no mostró diferencias significativas ni para las comparaciones por grupos, Kruskal Wallis machos  $H=0.009$ ,  $gl=2$ ,  $p>0.05$ , hembras  $H=3.14$ ,  $gl=2$ ,  $p>0.05$ , ni al comparar machos y hembras dentro de un mismo grupo.

## 7) Micción

En cuanto a la micción encontramos nuevamente que las hembras presentan menos número de micciones que los machos, la única excepción la encontramos en las hembras SD donde las hembras presentan más micción que los machos. También encontramos que los animales HY tanto hembras como machos presentan más micción que los LY y SD ver Fig 32 Ay B.



**Fig 32. Micción en hembras y machos.** Observe que mientras las hembras Sprague-Dawley miccionan más en la prueba de campo abierto, para las sublíneas HY y LY son los machos los que presentan el porcentaje más alto de animales con micción.

## **Machos y hembras criados por hembras de intercambio**

### **1) Latencia de salida**

Con respecto a los animales reintercambio los machos los HY/LY presentaron la latencia mayor y los SD la menor, las hembras SD salieron más rápido y las LY/HY al último, sin embargo, al realizar el análisis estadístico no se encontraron diferencias significativas ni entre los grupos ni al comparar machos contra hembras. Machos Kruskal Wallis  $H=4.6$ ,  $gl=2$ ,  $p>0.05$ , hembras  $H=5.73$ ,  $gl=2$ ,  $p>0.05$ .

Tampoco se encontraron diferencias significativas al comparar los animales que fueron criados por sus propias madres con los de intercambio.

### **2) Visitas al cuadro central**

Con respecto a las ratas de intercambio encontramos que las hembras que más veces frecuentan el cuadro central son las hembras Sprague-Dawley y las que menos visitan el centro de la caja son las hembras HY/LY, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas, Kruskal Wallis  $H=0.34$ ,  $gl=2$ ,  $p>0.05$ . Con respecto a los machos los que menos visitas al cuadro central presentan son los Sprague-Dawley, el análisis estadístico tampoco mostró diferencias significativas Kruskal Wallis  $H=2.0$ ,  $gl=2$ ,  $p>0.05$

No se encontraron diferencias significativas ni entre los grupos ni al comparar machos y hembras por separado.

### **3) Apoyos**

Para las ratas procedentes del intercambio encontramos que las hembras HY/LY muestran una tendencia a mostrar más apoyos cuando los comparamos con los Sprague-Dawley y los LY/HY. En los machos encontramos que los tres grupos son muy similares en cuanto a los apoyos se refiere. Sin embargo, al realizar el análisis estadístico no se encontraron diferencias significativas, hembras Kruskal Wallis  $H=0.73$ ,  $gl=2$ ,  $p>0.05$ , machos  $H=0.69$ ,  $gl=2$ ,  $p>0.05$ .

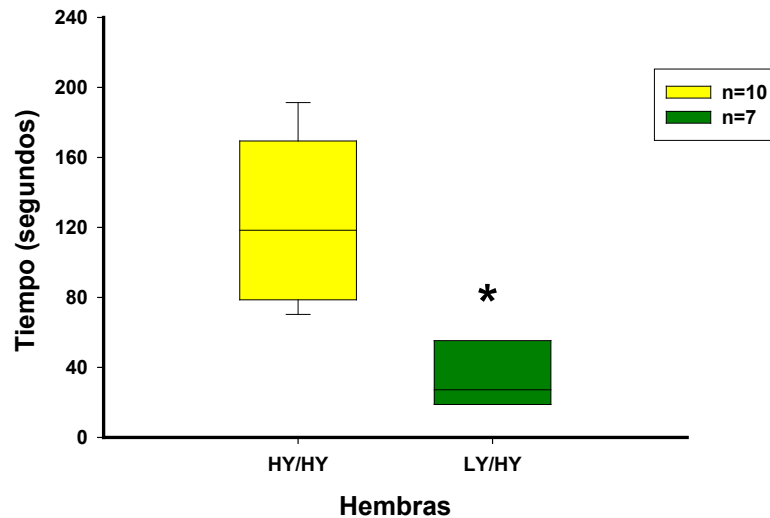
## **Erguidos**

Para los erguidos en los animales de intercambio los resultados mostraron que los machos HY/LY y LY/HY tuvieron valores similares y en cuanto a las hembras, las Sprague-Dawley y LY/HY presentaron más erguidos que las HY/LY, pero tampoco se encontraron diferencias significativas, machos Kruskal Wallis  $H=2.65$   $gl=2$   $p>0.05$ , hembras  $H=0.20$   $gl=2$   $p>0.05$ .

## **4) Aseo**

En estos animales resultados mostraron que los machos y hembras HY/LY tendieron a mostrar los menores tiempos de aseo en comparación con los machos LY/HY y los Sprague-Dawley. El análisis estadístico no mostró diferencias significativas entre las hembras, prueba de Kruskal Wallis  $H=5.57$ ,  $gl=2$ ,  $p=0.06$ , los machos tampoco presentaron diferencias significativas  $H=1.9$ ,  $gl=2$ ,  $p>0.05$ .

Al realizar las comparaciones entre las ratas que fueron criadas por sus propias madres y las de intercambio encontramos que las hembras de intercambio LY/HY criadas por madres LY se asearon menos en el campo abierto en comparación con las que fueron criadas por sus propias madres HY/HY, U de Mann Whitney  $W=32.0$ , ( $p<0.002$ ) figura 33.



**Fig 33. Comparación de la conducta de aseo en hembras HY.** Como se puede observar las hembras provenientes del intercambio **LY/HY** se asean menos en la prueba de campo abierto con respecto a las que fueron criadas por sus madres biológicas **HY/HY**. Cada caja representa la mediana más los rangos intercuartiles. \* $p < 0.002$ .

## 5) Locomoción

Para estos animales también encontramos que las hembras tienden a presentar más locomoción que los machos. En cuanto a la distancia por grupos encontramos que los animales SD tanto hembras como machos recorren las mayores distancias, mientras que los machos **HY/LY** y **LY/HY** prácticamente recorren la misma distancia. El análisis estadístico no muestra diferencias significativas al realizar las comparaciones entre grupos y machos contra hembras. Kruskal Wallis machos  $H=0.13$ ,  $gl=2$ ,  $p > 0.05$ , hembras  $H=0.11$ ,  $gl=2$ ,  $p > 0.05$ .

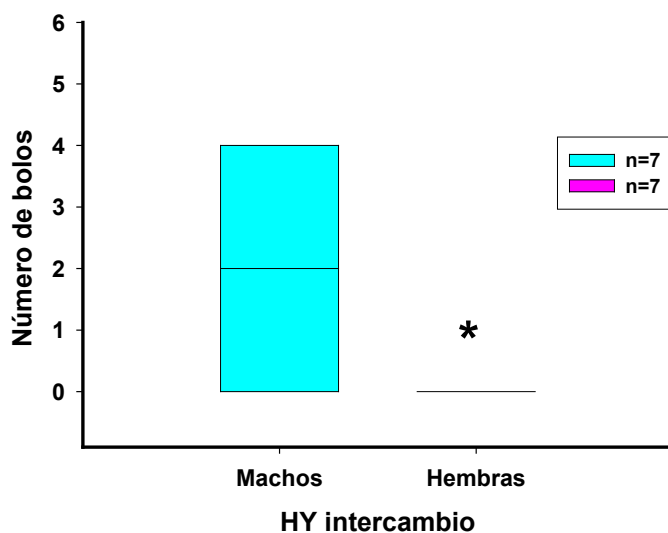
La comparación entre los grupos de animales de intercambio y aquellos criados por sus propias madres no mostró diferencias significativas.



## 6) Bolos fecales

Los machos presentan más bolos fecales que las hembras en esta prueba, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas, Kruskal Wallis machos  $H=2.07$   $gl=2$   $p>0.05$ , hembras  $H=0.44$ ,  $gl=2$ ,  $p>0.05$ .

El análisis estadístico muestra solamente diferencias entre las hembras y los machos HY, prueba de U de Mann Whitney  $W=37.5$ , ( $p<0.025$ ) véase figura 34.



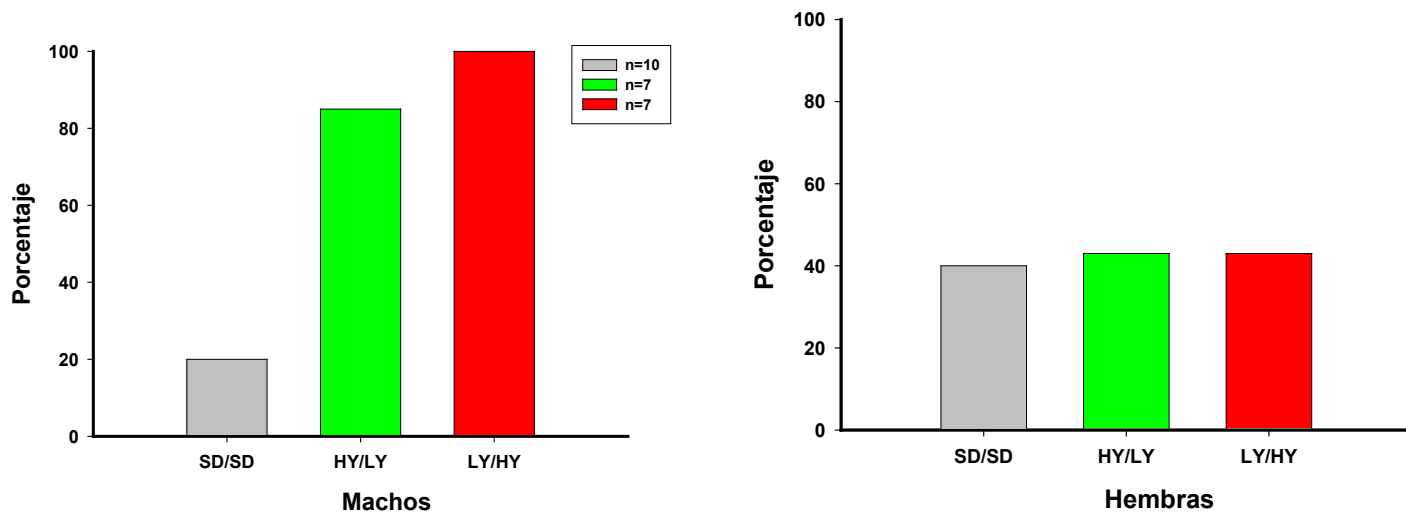
**Fig 34. Número de bolos fecales en ratas HY.** Las hembras defecan menos que los machos en la prueba de campo abierto. Cada caja representa la mediana más los rangos intercuartiles.  $*p<0.025$  U de Mann Whitney.

## 7) Micción

Encontramos que las hembras presentaron menos micción que los machos, y los tres grupos de hembras mostraron un comportamiento similar. Con respecto a los machos los resultados mostraron que los HY/LY y LY/HY presentaron más micción que aquellos que fueron criados por sus madres biológicas. Fig 35 A y B.

A

B



**Fig 35. Micción en hembras y machos.** Observe que mientras las hembras SD son quienes miccionan más en la prueba de campo abierto, para las sublíneas HY y LY son los machos los que presentan el porcentaje más alto de animales con micción.

## 8.5 Discusión

Como ya se mencionó en los antecedentes este trabajo se realizó en animales genéticamente modificados mediante cruzamientos consanguíneos (ratas LY y HY) en los cuales se han encontrado diferencias en conductas como el bostezo (Urbá-Holmgren y cols. 1990) la conducta de aseo y la respuesta al estrés (Moyaho y cols. 1995) y la conducta sexual (Romero Carbente 2002, Toríz-González 2006).

Una de las preguntas fue conocer si la conducta maternal en estas ratas era diferente de la mostrada por ratas de laboratorio criadas de manera exogámica como son las Sprague-Dawley (experimento 1). En los experimentos de campo abierto el objetivo fue conocer si la conducta maternal influía en la respuesta al estrés mostrada por estos animales.

Los resultados encontrados en la prueba de campo abierto para los animales criados por sus propias madres mostraron que el desempeño de los animales LY es similar al mostrado por los animales Sprague-Dawley. Sin embargo, los animales HY se estresan más en esta prueba. También encontramos una tendencia a que las hembras se estresen menos que los machos lo cual concuerda con lo reportado por Barajas (2002) en su tesis de maestría.

En los animales de intercambio los resultados mostraron una influencia del cuidado ejercido por la madre en algunas de las conductas registradas en esta prueba como el aseo y los bolos fecales, y otras conductas que presentaron solo tendencias debido a que no alcanzaron significancia estadística, como las visitas al cuadro central y erguidos.

Estos resultados apoyaron nuestra hipótesis puesto que la respuesta al estrés mostrada por estos animales presenta algunos componentes que son susceptibles de ser modificados por el cuidado de la madre.

Está ampliamente documentado que los eventos que los animales experimentan en etapas tempranas de desarrollo tienen efectos a largo plazo sobre sus respuestas al estrés. Para tratar de entender como es que estos eventos modifican las respuestas a las situaciones estresantes los investigadores han utilizado la estrategia de modificar o alterar dichos eventos durante el desarrollo temprano de las crías (Meaney 2001).

Uno de los eventos que más impacto tiene durante el desarrollo temprano de las crías es la calidad de la conducta maternal, se ha visto que está íntimamente ligada a las

respuestas conductuales de la descendencia en etapa adulta, sobre todo las respuestas al estrés y la conducta sexual (Meaney 2001, Moore y cols. 1992 a,b).

Los trabajos de investigación que utilizan animales genéticamente modificados han aportado gran conocimiento sobre las respuestas al estrés en este tipo de animales sobre todo si también se encuentra alterada la conducta maternal, tal es el caso de las líneas de ratas de alto y bajo lamido (Francis y Meaney 1999, Liu y cols. 1997, Champagne y cols. 2001) o las líneas de ratas Romanas de alta y baja evitación (Fernández-Teruel y cols. 1997, Steimer y cols. 1997).

Otra evidencia importante es la relación bidireccional que existe entre el sistema hipotálamo-hipófisis-adrenales y el sistema dopaminérgico, Cabib y Puglisi-Allegra (1994) inyectaron crónicamente corticosterona en dosis comparables a las liberadas en situaciones de estrés y encontraron que causaban un aumento de la liberación de dopamina en el núcleo accumbens y que esta relación estaba mediada por los receptores D<sub>1</sub>.

Gariépy y cols. (2002) realizaron experimentos en dos cepas de ratones isogénicos de alta y baja agresividad, encaminados a determinar si las condiciones bajo las que fueron mantenidos pre y postdestete influían en la respuesta al estrés de estos ratones, encontraron que la manipulación sensorial (handling) en estos animales disminuía las concentraciones de corticosterona en ambas líneas en comparación con los que no fueron sometidos a handling. También encontraron que los animales que habían sido sometidos al handling y por lo tanto presentaban menos estrés cuando eran sometidos a la prueba de campo abierto presentaban una mayor densidad de receptores D<sub>1</sub> en el núcleo accumbens.

Hallazgos en nuestras sublíneas de ratas muestran que las ratas HY presentan una mayor densidad de receptores D<sub>1</sub> en las porciones ventrales del núcleo estriado (Díaz-Romero y cols. 2005) sin embargo; en la prueba de campo abierto los machos HY solo presentaron menos visitas al cuadro central en comparación con los machos LY y SD, sin embargo; cuando a los machos HY los cría una madre LY estas diferencias desaparecen.

En cuanto a las hembras encontramos que también las HY presentan menos visitas al centro de la caja de campo abierto en comparación con las LY y SD pero al ser criadas por una hembra LY también desaparecen las diferencias indicando que la madre tiene un efecto sobre las visitas al cuadro central.

De los trabajos de Li y Fleming (2003) se desprende que en la prueba de campo abierto los animales con lesiones de la corteza del núcleo accumbens disminuyeron los erguidos y el radio de cuadros centrales/totales (medición de conducta exploratoria y ansiedad) indicando que la corteza de este núcleo es muy importante en el control de los erguidos. Un ambiente novedoso incrementa la dopamina en la corteza pero no en la parte central de accumbens, las lesiones en la corteza este núcleo provocan que los animales exploren menos y sean más ansiosos en un ambiente novedoso.

Lo reportado por Li y Fleming coincide con los resultados encontrados en el campo abierto para los animales HY cuando fueron criados por sus propias madres aún cuando las diferencias no fueran significativas, más cuando los animales HY fueron criados por hembras LY las diferencias encontradas desaparecen por lo cual podemos decir que hay un efecto de la madre sobre el desempeño de estos animales en el campo abierto, el cual podría de alguna manera modificar el sistema dopaminérgico mesolímbico.

En cuanto a los animales LY encontramos que el desempeño de estos en el campo abierto es semejante al de los Sprague-Dawley en algunas conductas, pero cuando analizamos las conductas de los LY criados por madres HY encontramos una tendencia a que estos se comportaran como los animales HY aunque las diferencias no fueran significativas. Nuevamente estos datos estarían apoyando la idea de una influencia de la madre en el la respuesta al estrés en estos animales.

Pero aquí vale la pena preguntarse porque no se encontraron diferencias aun en los animales provenientes del intercambio de crías si en resultados previos Moyaho y cols. (1995) describen amplias diferencias entre las sublíneas en la misma prueba.

Una de las posibles explicaciones a estos resultados es que las pruebas realizadas por Moyaho involucraban al animal mojado y eso tal vez pudo suministrar estrés extra al animal por el echo de sumergirlo en el agua. Otra posibilidad es que el número de animales que nosotros estamos utilizando es menor al utilizado por Moyaho y cols. (1995).

Gómez-Serrano y cols. (2001) utilizaron dos cepas isogénicas de ratas las Fisher (F344/N) y Lewis (LEW/N) las cuales difieren en su respuesta a estímulos proinflamatorios, su respuesta al reflejo de sobresalto, su desempeño en un campo abierto, y su preferencia por drogas de abuso. Estos autores realizaron intercambio de crías entre estas dos cepas para dilucidar si estas diferencias se debían a variaciones genéticas entre

éstas o había un componente ambiental involucrado de manera particular el cuidado materno.

Los resultados de este grupo mostraron que las diferencias en las conductas antes mencionadas entre estos animales se redujeron con el intercambio de crías, esto se evidenció de manera importante en el peso de los animales. Los niveles de corticosterona son más elevados en las ratas F344/N que en las LEW, cuando se realizó en intercambio los niveles de corticosterona en las F344/N se redujeron de manera importante en las hembras y aumentaron en los machos de la misma cepa

Otro aspecto que se modificó con el intercambio fue su desempeño en el campo abierto, estos animales difieren en su desempeño entre las cepas. Las ratas LEW/N mostraron mayor actividad en esta prueba con respecto a las F344/N y el intercambio hizo aun más grandes estas diferencias. Ellos concluyen que el ambiente materno junto con los factores genéticos además del género contribuyen diferencialmente a los rasgos conductuales y neuroendocrinos específicos en los animales isogénicos en etapa adulta (Gómez-Serrano y cols. 2001)

. En este trabajo no se midieron los niveles de corticosterona en nuestros animales por lo que no podemos saber si su actividad en el campo abierto correlaciona con posniveles de esta hormona, sin embargo, esto será motivo de trabajos posteriores, puesto que estamos interesados en determinar la actividad del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal en estos animales.

Los resultados obtenidos en este trabajo concuerdan con lo reportados por Gómez Serrano y cols. (2001) en el sentido de que el desempeño de nuestros animales mostró una tendencia a que el desempeño en el campo abierto tenga que ver con el genero del animal puesto que las hembras de todos los grupos tienden a desempeñarse mejor en el campo abierto como lo muestran los resultados de los erguidos, las visitas al centro y el número de bolos fecales.

Por otra parte Macari y cols. (2003) sugieren que el estrés prenatal programa el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal una responsividad incrementada de este eje ante estímulos novedosos y una disfunción de este relacionada con la edad. Estos autores también mostraron en estos animales un decremento en los receptores a benzodiazepinas en el hipocampo el cual podría explicar el perfil de ansiedad mostrado por estos animales. El

efecto del estrés prenatal puede ser medido por la respuesta simpatoadrenal a la novedad, encontrando niveles de noradrenalina incrementados, también se ha encontrado niveles elevados de serotonina en el hipotálamo y la neocorteza, se induce una reducción del recambio de este neurotransmisor en el hipocampo, el hipotálamo y la neocorteza en animales de más de tres semanas de edad, se sabe que la serotonina es el principal modulador del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal y la corticosterona regula la actividad del sistema serotoninérgico.

El estrés prenatal tiene efectos a largo plazo sobre el sistema colinérgico induciendo una liberación incrementada de acetilcolina en el hipocampo después de un estrés moderado. Ésta podría ser la responsable de la disminución en los mecanismos de retroalimentación de corticosterona esto porque provoca una reducción en los receptores a glucocorticoides (Day y cols 1998 citado en Macari y cols. 2003).

Con base en todas las evidencias antes mencionadas podemos sugerir que los resultados encontrados en nuestro trabajo pueden deberse por un parte a la posible programación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal por parte de la madre y sobre todo si tomamos en cuenta que las madres LY y sobre todo las HY pudieran sufrir de estrés prenatal.

Por otra parte, tenemos los cambios en los receptores y los niveles de dopamina que estos animales presentan en el sistema dopaminérgico que también pueden estar influenciando la respuesta de estos animales en el campo abierto.

En resumen todos estos resultados muestran que en los animales LY y los HY hay un efecto del cuidado materno sobre la respuesta al estrés y que en algunas de las conductas observadas este presenta una interacción con el componente genético además del género del animal.

## **9. CONDUCTA MATERNAL DE LAS HEMBRAS F1 EN ETAPA ADULTA**

### **9.1 Objetivos específicos**

- 1) Describir y analizar la conducta maternal de las hembras Sprague-Dawley, HY y LY de la generación filial 1 (F<sub>1</sub>).
- 2) Evaluar el papel del cuidado maternal en el peso de las crías a través de la lactancia.

### **9.2 Predicciones**

Las hembras F<sub>1</sub> de la sublínea HY criadas por sus madres biológicas pasarán menos tiempo cuidando a sus crías respecto de las ratas LY y Sprague-Dawley.

En cambio, las hembras F<sub>1</sub> HY criadas por madres adoptivas (LY) pasarán más tiempo cuidando a sus crías en comparación de las hembras LY criadas por madres HY.

### **9.3 Metodología**

Al finalizar las pruebas de campo abierto se eligió al azar una hembra por cada camada y de cada condición experimental, en otras palabras tuvimos

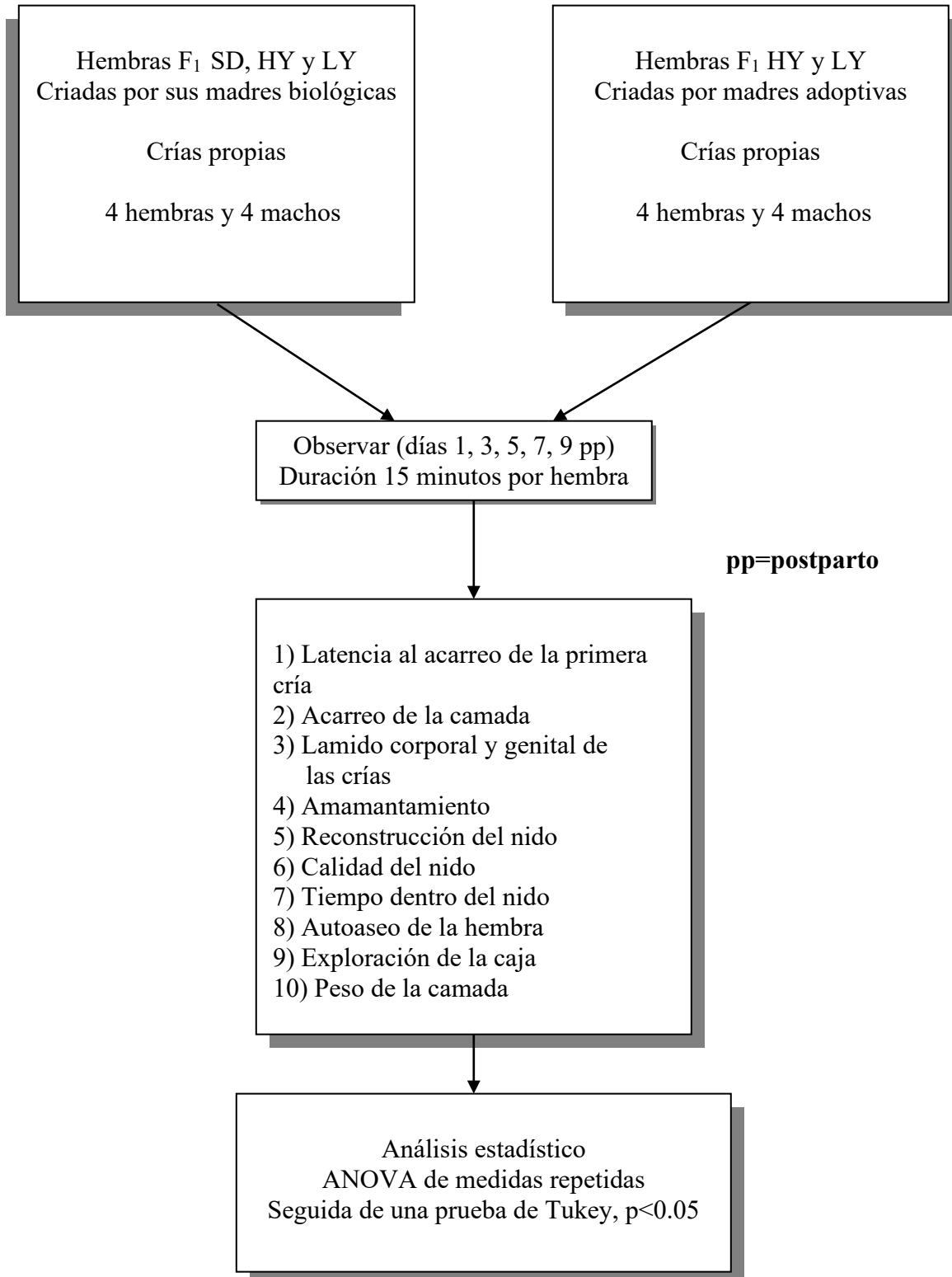
Hembras F1 Sprague-Dawley HY y LY criadas por sus madres biológicas

Hembras F1 HY y LY criadas por madres nodrizas de la otra sublínea.

A la edad de 90 días las hembras fueron colocadas en las unidades de reproducción. El día del parto (día cero) se ajustaron las camadas a ocho crías con igual número de hembras y machos, las camadas permanecieron con sus madres biológicas. Se registraron las variables de respuesta como en el experimento uno.



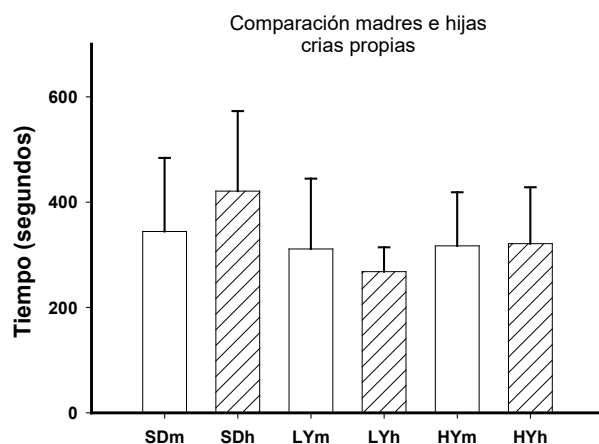
**DIAGRAMA DE TRABAJO**  
**CONDUCTA MATERNAL EN HEMBRAS F1**



## 9.4 Resultados

### Conducta maternal en hembras F1 criadas por sus madres biológicas.

El tiempo dedicado a conductas maternales en los cinco días de observación fue variable, sin embargo, las hembras Sprague-Dawley tanto madres como hijas pasaron más tiempo cuidando a sus crías. Sin embargo al realizar el análisis estadístico no se encontraron diferencias significativas entre el tiempo dedicado a conductas maternales entre madres e hijas en los tres grupos de animales, t de Student para las hembras SD  $t=-1.06$ ,  $p>0.05$ , hembras LY  $t=0.95$ ,  $p>0.05$ , hembras HY  $t=-0.09$ ,  $p>0.05$



**Figura 36. Comparación de tiempo dedicado a conductas maternales entre madre e hijas.** Observe que las hembras SD madres e hijas pasan más tiempo dedicadas a cuidar a sus crías en comparación con las demás hembras. SDm=madres Sprague-Dawley, SDh=hijas Sprague-Dawley, LYm=madres LY, LYh=hijas LY, HYm=madres HY, HYh= hijas HY.

#### 1) Latencia acarreo de la primera cría

Los resultados de las hembras F1 criadas por sus propias madres mostraron que las hembras HY tendieron a acarrear más rápido a la primera cría, seguidas de las hembras LY, las hembras Sprague-Dawley presentan la mayor latencia. El análisis estadístico no mostró diferencias significativas para los grupos de hembras  $F_{(2,100)}=2.6$ ,  $p>0.05$ , tampoco hubo

diferencias en los días observados  $F_{(4,100)}=1.2$ ,  $p>0.05$ , tampoco encontramos interacción entre los días y los grupos de hembras  $F_{(8,100)}=0.9$ ,  $p>0.05$ .

Cuando se realizó la comparación de la conducta de estas hembras con la de sus madres encontramos que hubo diferencias para las hembras Sprague-Dawley madres e hijas, Prueba de U de Mann Whitney  $W=72.0$ ,  $p<0.05$ , en cambio para las hembras LY y HY no hubo diferencias, LY U de Mann Whitney  $W=83$ ,  $p=0.56$ , hembras HY U de Mann Whitney  $W=67.0$ ,  $p>0.05$ .

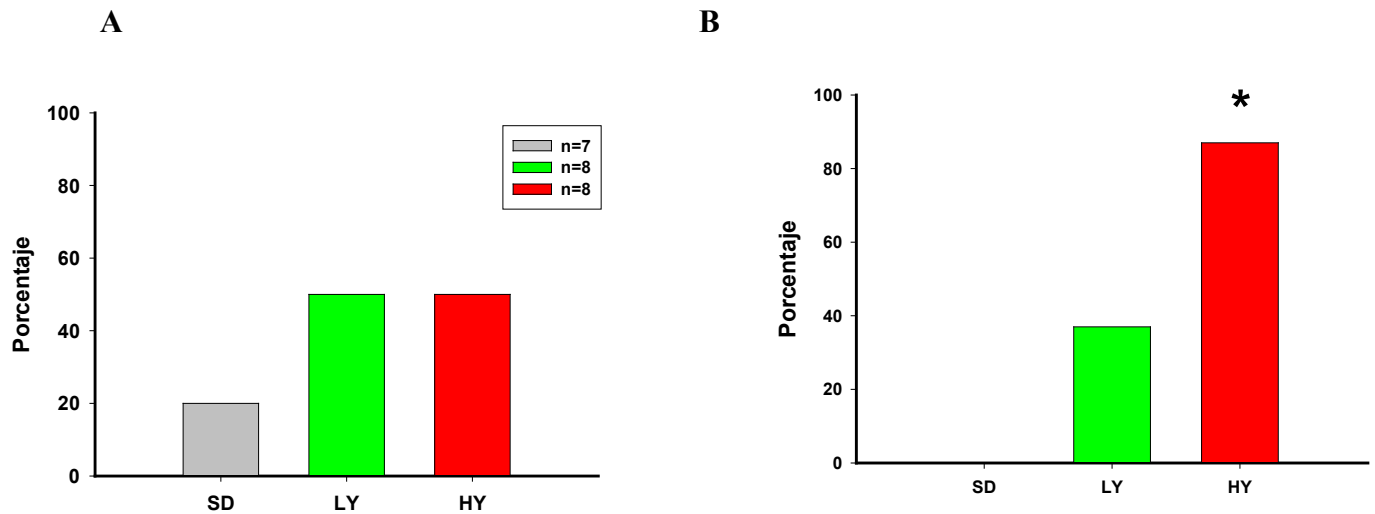
## **2) Acarreo de la camada**

Las hembras LY tardaron más tiempo en acarrear a toda la camada mientras las hembras Sprague-Dawley emplearon el menor tiempo en el acarreo de toda la camada. El análisis estadístico mostró diferencias significativas sólo en el grupo de hembras  $F_{(2,100)}=3.4$ ,  $p>0.05$ , no hubo diferencias en los días observados  $F_{(4,100)}=1.5$ ,  $p>0.05$ , no encontramos interacción entre los días observados y los grupos de hembras  $F_{(8,10)}=0.4$ ,  $p>0.05$ .

Al realizar la comparación con sus madres no encontramos diferencias significativas entre ellas. Hembras Sprague-Dawley T de Student  $t=0.9$ ,  $gl=15$ ,  $p>0.05$ , hembras LY t de Student  $t=0.47$ ,  $gl=16$ ,  $p>0.05$ , hembras HY t de Student  $t=0.2$ ,  $gl=16$ ,  $p>0.05$

Todas las ratas F1 mostraron los reacarreos por lo menos en uno de los días observados, el criterio para considerar a una hembra como reacarreadora fue el mismo que en la primera parte, los resultados fueron SD 20%, LY 50% y HY 50%. La prueba de Chi cuadrada no mostró diferencias significativas, ( $X^2= 2.59$   $p>0.05$ ).

De igual manera las hembras HY y LY mostraron con más frecuencia el acarreo atípico de las crías al igual que sus madres, hembras LY acarrearón crías principalmente del abdomen (37%) y las HY del abdomen y extremidades inferiores (87%). Al igual que en el primer experimento la prueba de Chi cuadrada mostró diferencias significativas para las hembras HY ( $X^2= 11.59$   $p<0.05$ ), véase figura 37.



**Figura 37. Recarreos y acarreo atípico en hembras F1. A recarreos, B acarreo atípico.** En A las hembras HY y LY presentan el mayor porcentaje de recarreos, en B son las HY las que presentan el mayor porcentaje de acarreo atípico. \*  $p < 0.05$  prueba de Chi cuadrada.

### 3) Lamido corporal a las crías

En esta conducta no se observaron diferencias entre los grupos de ratas  $F_{(2,100)}=1.1$ ,  $p > 0.05$ , las hembras LY y HY mostraron variaciones en el tiempo de lamido corporal en los cinco días de observación pero no hubo diferencias significativas  $F_{(4,100)}=2.0$ ,  $p > 0.05$ , tampoco hubo interacción entre los grupos de ratas y los días observados  $F_{(8,100)}=0.3$ ,  $p > 0.05$ .

En relación con sus madres, estas ratas presentaron tiempos de lamido corporal ligeramente mayores en los tres primeros días de observación pero al realizar las pruebas estadísticas no se encontraron diferencias significativas, hembras Sprague-Dawley U de Mann Whitney  $W=65.0$ ,  $p > 0.05$ , hembras LY U de Mann Whitney  $W=58.0$ ,  $p > 0.05$ , hembras HY t de Student,  $t=1.56$ ,  $gl=16$ ,  $p > 0.05$

### Lamido genital a las crías

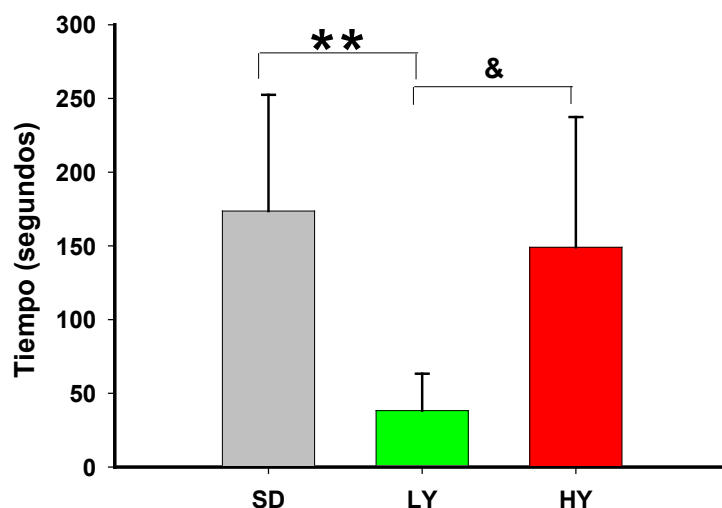
La duración del lamido genital a las crías en los cinco días de observación no mostró diferencias estadísticamente significativas entre las hembras  $F_{(4,100)}=1.3$ ,  $p > 0.05$ . En cuanto a los grupos de hembras tampoco se encontraron diferencias significativas pues los tres

grupos de hembras mostraron duraciones de lamido genital muy similares  $F_{(2,100)}=2.6$   $p>0.05$ . Tampoco hubo correlación entre los grupos de hembras y los días observados  $F_{(8,100)}=0.2$ ,  $p>0.05$ .

Al realizar la comparación con sus madres no se encontraron diferencias significativas, hembras SD U de Mann Whitney  $W=55.0$ ,  $p>0.05$ , hembras LY t de Student  $t=0.34$ ,  $gl=16$ ,  $p>0.05$ , hembras HY t de Student,  $t=0.88$ ,  $p>0.05$ .

#### 4) Amamantamiento

Los resultados mostraron que las hembras LY tuvieron menor tiempo de amamantamiento y las hembras Sprague-Dawley el mayor tiempo  $F_{(2,100)}= p<0.05$  prueba de Tukey hembras Sprague-Dawley vs. LY  $q=5.3$ ,  $p<0.05$  hembras HY vs LY  $q=4.5$ ,  $p<0.05$ , véase figura 38. El análisis estadístico no mostró diferencias para los días observados  $F_{(4,100)}=2.1$ ,  $p>0.05$ , La interacción entre los grupos de hembras y los días observados no fue significativa  $F_{(8,100)}=2.0$ ,  $p=0.52$ . Las hembras LY mostraron tiempos de posición de amamantamiento menores que los registrados por sus madres en la primera parte de este experimento, hembras SD t de Student,  $t=0.36$ ,  $gl=15$ ,  $p>0.05$ , hembras LY U de Mann Whitney  $W=45.0$   $p<0.01$ , hembras HY t de Student,  $t=0.18$ ,  $gl=16$ ,  $p>0.05$ .



**Figura 38. Amamantamiento.** Observe que las hembras LY pasan el menor tiempo en posición de amamantamiento.&\* $p<0.05$  prueba de Tukey. Cada barra representa la media  $\pm$  el error estandar.

## 5) Reconstrucción de nido

Los resultados encontrados para esta conducta no mostraron diferencias significativas para los grupos de hembras  $F_{(2,100)}=1.6$ ,  $p>0.05$ , ni para los días observados  $F_{(4,100)}=1.2$ ,  $p>0.05$ , la interacción entre estos dos factores no mostró diferencias  $F_{(8,100)}=0.44$ ,  $p>0.05$ .

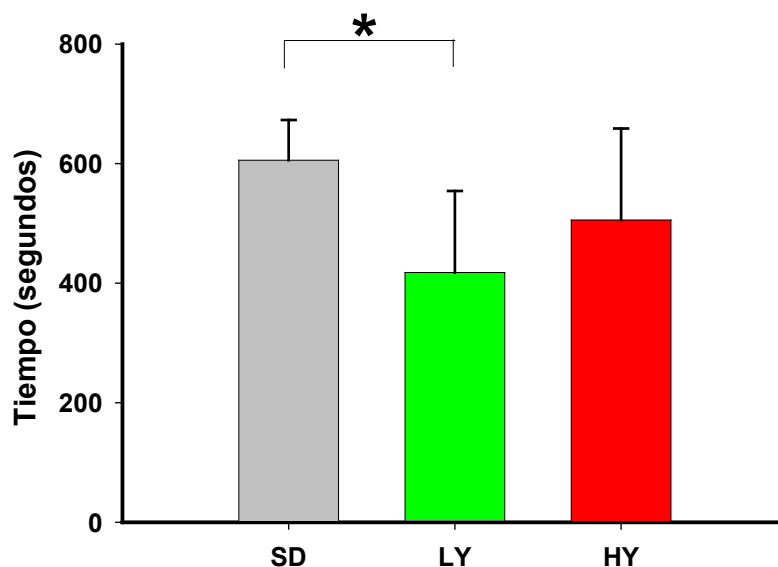
Al realizar la comparación con sus madres no se encontraron diferencias significativas, hembras SD t de Student,  $t=0.37$ ,  $gl=15$ ,  $p>0.05$ , hembras LY t de Student  $t=0.04$ ,  $gl=16$ ,  $p>0.05$ , hembras HY U de Mann Whitney  $W=72.0$ ,  $p>0.05$ .

## 6) Calidad de nido

En relación a la calidad del nido y los resultados encontrados fueron hembras Sprague-Dawley con nidos calidad tres, hembras LY nidos calidad dos y tres. También encontramos la mayoría de las hembras HY nidos calidad uno y dos. Las hembras HY al igual que sus madres presentaron los nidos con el puntaje más bajo.

## 7) Tiempo dentro del nido

Las hembras Sprague-Dawley pasaron más tiempo dentro del nido en comparación con las hembras LY y HY  $F_{(2,100)}=7.3$ ,  $p<0.05$ , prueba de Tukey hembras Sprague-Dawley vs. Hembras LY  $q=4.0$ ,  $p<0.05$ . Con respecto al día de lactancia los resultados no mostraron diferencias significativas  $F_{(4,100)}=1.2$ ,  $p>0.05$ , tampoco encontramos interacción entre el tipo de animal y el día de lactancia  $F_{(8,199)}=0.26$ ,  $p>0.05$ , ver figura 40.



**Figura 40. Tiempo dentro del nido.** Observe que las hembras LY pasan el menor tiempo dentro del nido con respecto a las SD, \* $p < 0.05$  prueba de Tukey. Cada barra representa la media  $\pm$  el error estandar.

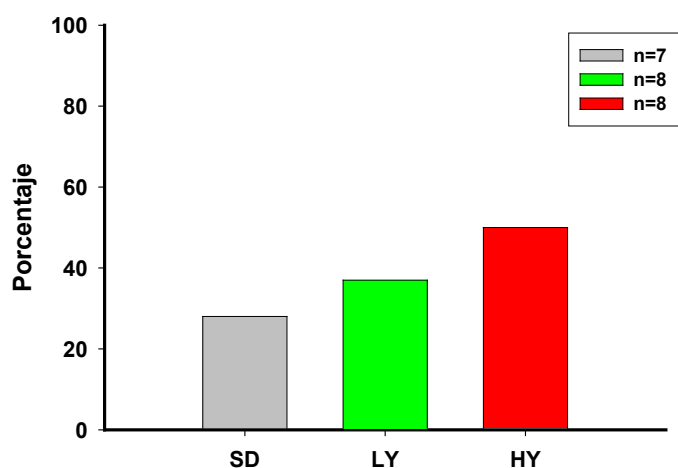
Cuando se realizó la comparación con sus madres no se encontraron diferencias significativas, hembras Sprague-Dawley t de Student,  $t=1.10$ ,  $gl=15$ ,  $p > 0.05$ , hembras LY  $t=0.51$ ,  $gl=16$ ,  $p > 0.05$ , hembras HY  $t=1.34$ ,  $gl=16$ ,  $p > 0.05$ .

### 8) Autoaseo de la hembra

Los resultados sobre la conducta de aseo no fueron estadísticamente significativos en los tres grupos de hembras  $F_{(2,100)}=0.12$ ,  $p > 0.05$ , los días observados tampoco mostraron diferencias significativas  $F_{(4,100)}=1.2$ ,  $p > 0.05$ , la interacción entre estos dos factores tampoco presentó diferencias significativas  $F_{(8,100)}=0.70$ ,  $p > 0.05$ . Al comparar esta conducta con la presentada por sus madres se observó que existió un ligero aumento en el tiempo que las hembras Sprague-Dawley invirtieron para asearse pero no se encontraron diferencias significativas t de Student,  $t=1.59$ ,  $gl=15$ ,  $p > 0.05$ , con respecto a las LY y HY tampoco encontramos diferencias con respecto a sus madres, hembras LY t de Student  $t=0.51$ ,  $gl=16$ ,  $p > 0.0$ , hembras HY  $t=0.09$ ,  $gl=16$ ,  $p > 0.05$ .

### Acarreo de la cola (circling)

Las hembras F1 mostraron el acarreo de la cola observado en sus madres. El acarreo de la cola de las hembras Sprague-Dawley fue 28%, LY de 37% y HY de 50%, ver Fig. 40. Las hembras Sprague-Dawley solo presentaron el acarreo de su propia cola en los primeros días de observación y las hembras LY y HY la presentaron a lo largo de todos los días observados al igual que sus madres. La prueba de Chi cuadrada no mostró diferencias significativas ( $X^2= 0.83$   $p>0.05$ )



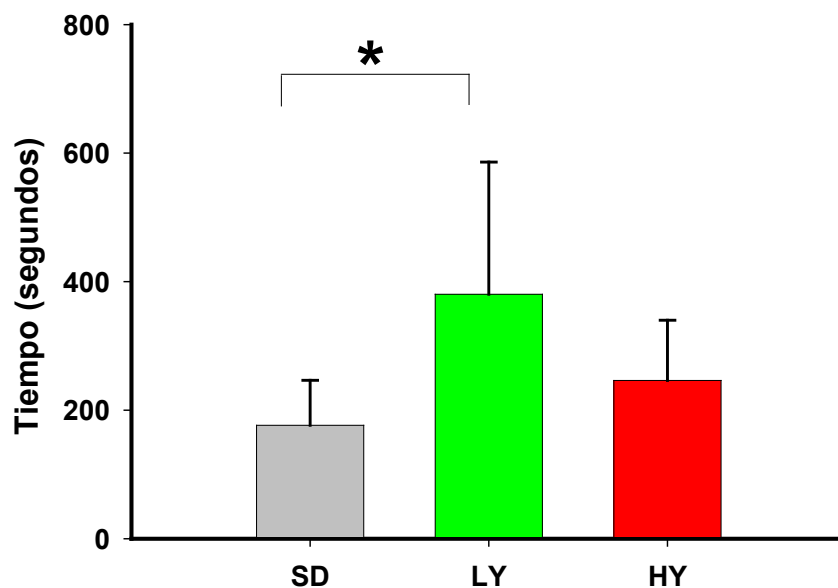
**Fig. 40. Acarreo de la cola de la madre (circling).** . Las hembras SD presentan el menor porcentaje de esta conducta y las hembras HY el mayor. SD n=7, LY n=8, HY n=8.

### 9) Exploración de la caja

Los resultados encontrados para el tiempo de exploración de la caja mostraron diferencias significativas entre los grupos de hembras  $F_{(2,100)}=5.4$ ,  $p<0.05$  Las hembras Sprague-Dawley presentaron menores tiempos de exploración del entorno y las que presentaron mayor tiempo de exploración de la caja fueron las hembras LY prueba de Tukey Sprague-Dawley vs. LY  $q=4$ ,  $p<0.05$ . véase. fig 39, en ralción a los días observados no se encontraron diferencias significativas  $F_{(2,100)}=0.86$ ,  $p>0.05$ , no hubo interacción entre los días observados y los grupos de hembras  $F_{(2,100)}=0.80$ ,  $p>0.05$ .



La comparación de estas hembras con sus madres no mostró diferencias significativas para las hembras SD y LY: t de Student SD  $t=0.73$ ,  $gl=15$ ,  $p>0.05$ , LY  $t=0.70$   $gl=16$   $p>0.05$ , pero si para las hembras HY  $t=2.35$ ,  $gl=16$ ,  $p<0.05$ .

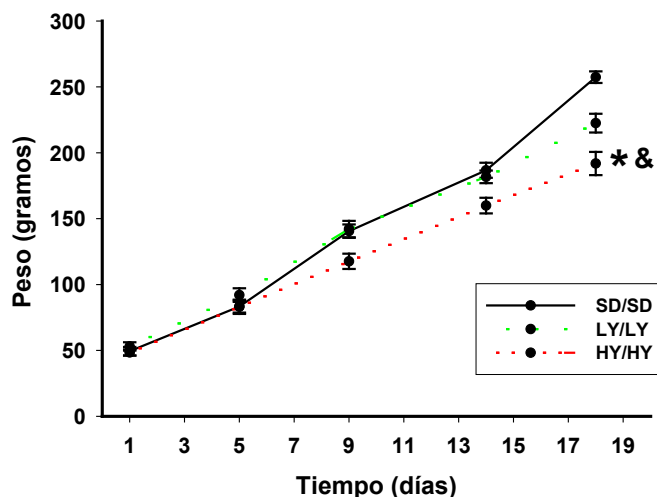


**Figura 39. Exploración de la caja.** Como se observa en la gráfica las hembras Sprague-Dawley presentan el menor tiempo explorando la caja en comparación con las hembras LY y HY.  $*p<0.05$  Prueba de Tukey. Cada barra representa la media  $\pm$  el error estándar.

## 10) Peso camadas

El peso de las camadas en el grupo de las hembras que fueron criadas por sus propias madres, mostró nuevamente a las crías de las hembras HY con los menores pesos y la menor ganancia de peso a lo largo de la lactancia al igual que en el primer experimento, el análisis estadístico mostró diferencias significativas para los grupos de hembras  $F_{(2,100)}=24.8$ ,  $p<0.001$ , prueba de Tukey crías Sprague-Dawley vs. crías HY  $q=6.3$ ,  $p<0.001$ , crías LY vs. Crías HY  $q=5.1$ ,  $p<0.05$ , para los días observados también se presentaron diferencias a lo largo de los días observados lo cual era de esperarse pues las crías van ganando peso a lo largo de la lactancia  $F_{(4,100)}=173.7$ ,  $p<0.001$ , la interacción entre los días

y los grupos de hembras también mostró diferencias significativas  $F_{(8,100)}=6.0$ ,  $p<0.001$ . Fig 41.



**Figura 41. Peso de las camadas.** peso de las crías de las hembras F1 criadas por sus propias madres, como se puede observar las crías de las hembras HY siguen mostrando el menor peso a lo largo de los días, &  $p<0.001$  HY vs. Sprague-Dawley.\*  $p<0.05$  crías LY vs. crías HY. Cada punto representa la media  $\pm$  el error estándar de 7 camadas Sprague-Dawley, 8 camadas HY y LY.

## Correlaciones

Se realizó un análisis de correlación entre los componentes de la conducta maternal presentada por las madres con las de sus hijas, los resultados se muestran en la tabla 5.

Los resultados obtenidos no mostraron diferencias significativas ( $p>0.05$ ) lo que indica que no hay correlación entre la conducta de las madres con la presentada por sus hijas, con excepción del tiempo de acarreo para las hembras SD donde se encontró una correlación positiva entre madres e hijas y la duración de amamantamiento para las hembras HY donde encontramos una correlación negativa para las madres e hijas.

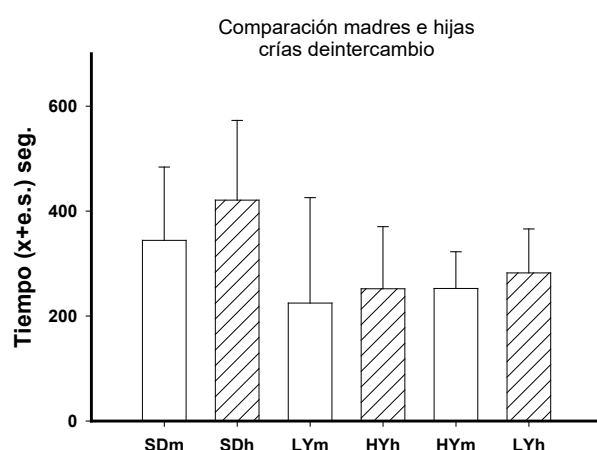
**Tabla 5.** Correlación en la expresión de la conducta maternal entre madres e hijas.

Conductas	Grupos de hembras				
	SD/SD	LY/LY	HY/HY	LY/HY	HY/LY
<b>Latencia Acarreo de la primera cría</b>	-0.153	-0.23	0.19	-0.21	-0.07
<b>Acarreo de la camada</b>	<b>0.78 p&lt;0.05</b>	-0.12	-0.10	0.10	0.22
<b>Lamido Corporal</b>	0.64	0.21	-0.52	-0.13	0.12
<b>Lamido genital</b>	-0.03	0.66	-0.31	-0.06	0.08
<b>Amamantamiento</b>	-0.17	-0.57	<b>-0.83 p&lt;0.05</b>	0.01	0.36
<b>Construcción nido</b>	0.29	0.39	-0.04	-0.71	-0.13

## Conducta maternal en hembras F<sub>1</sub> criadas por madres adoptivas .

Todas las hembras en esta parte del experimento cuidaron a sus propias crías. Las hembras que proceden de los intercambios de crías del primer experimento fueron denominadas como LY/HY y HY/LY, las iniciales en negritas señalan que nos referimos a la conducta de las hijas.

El tiempo dedicado a conductas maternas en los cinco días de observación en estos grupos de hembras también fue variable, al realizar el análisis estadístico no se encontraron diferencias significativas entre el tiempo dedicado a conductas maternas entre madres e hijas en etapa adulta en los tres grupos de hembras, prueba de T de Student para las hembras Sprague-Dawley madres e hijas  $t=-1.06$ ,  $p>0.05$ , madres LY e hijas HYF<sub>1</sub>  $t=-0.31$ ,  $p>0.05$ , madres HY e hijas LYF<sub>1</sub>  $t=-0.72$ ,  $p>0.05$ , véase figura 42



**Figura 42. Comparación de tiempo dedicado a conductas maternas entre madres e hijas.** Hembras que cuidaron crías de intercambio y en sus hijas adoptivas. Observe que las hembras SD madres e hijas muestran los mayores tiempos dedicadas a cuidar a sus crías en comparación con las demás hembras. SDm=madres Sprague-Dawley, SDh=hijas Sprague-Dawley, LYm=madres LY, HYh=hijas HY, HYm=madres HY, LYh= hijas LY.

### 1) Latencia al acarreo de la primera cría

Con respecto las hembras provenientes del intercambio los resultados que encontramos mostraron que las hembras HY/LY tardan menos tiempo en acarrear a la primera cría y las Sprague-Dawley tardaron más, sin embargo, al realizar el análisis estadístico no se encontraron diferencias significativas ni entre los grupos de hembras  $F_{(2,90)}=0.43$ ,

$p > 0.05$ , ni en los días observados  $F_{(4,90)} = 0.75$ ,  $p > 0.05$ , tampoco encontramos interacción entre los días y los grupos de hembras  $F_{(8,90)} = 0.74$ ,  $p > 0.05$ .

Cuando se compararon con sus madres no se encontraron diferencias significativas, hembras LY criadas por madres HY U de Mann Whitney  $W = 46.0$   $p > 0.05$ , hembras HY criadas por madres LY U de Mann Whitney  $W = 54$ ,  $p > 0.05$ .

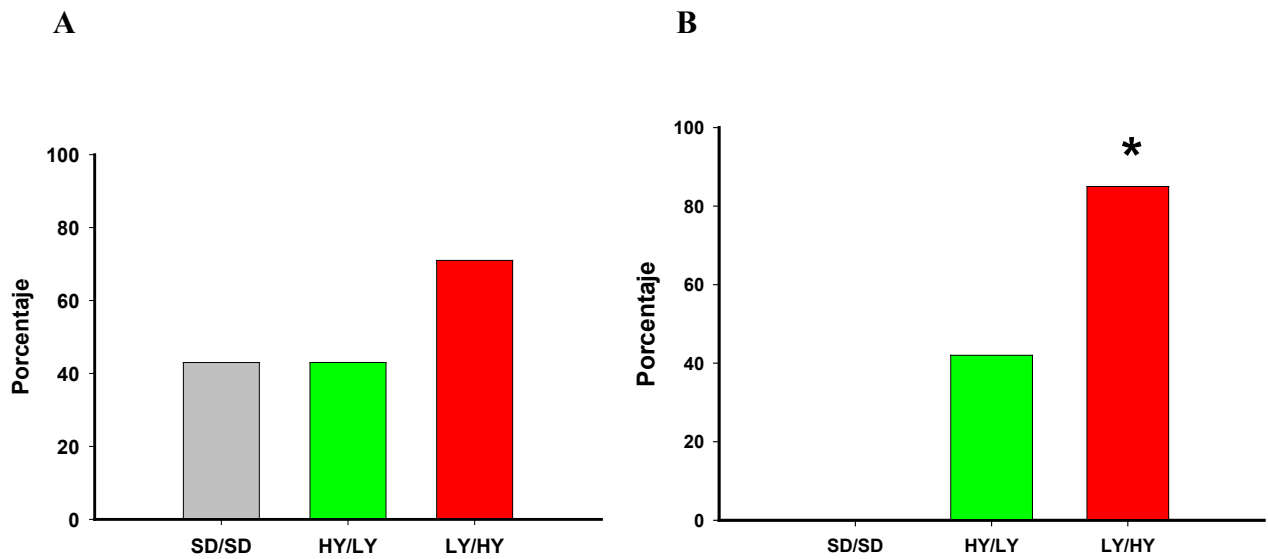
## **2) Acarreo de la camada**

Las hembras procedentes de los intercambios presentaron tiempos de acarreo de la camada variables en los cinco días de observación, por lo que no se encontraron diferencias significativas entre los grupos de hembras  $F_{(2,90)} = 1.2$ ,  $p > 0.05$ , ni en los días observados  $F_{(4,90)} = 0.5$ ,  $p > 0.05$ , no hubo interacción entre los días observados y los grupos de hembras  $F_{(8,90)} = 0.5$ ,  $p > 0.05$ .

Cuando se realizó la comparación con sus madres no se encontraron diferencias significativas, Prueba de t de Student hembras HY criadas por madres LY  $t = 0.93$ ,  $gl = 12$ ,  $p > 0.05$ , hembras LY criadas por madres HY  $t = 0.48$ ,  $gl = 12$ ,  $p > 0.05$ .

También en estos grupos las ratas F1 mostraron los reacarros por lo menos en uno de los días observados, el criterio para considerar a una hembra como reacarreadora fue el mismo que en la primera parte, los resultados fueron SD 20%, HY/LY 20% y LY/HY 50%. La prueba de Chi cuadrada no mostró diferencias significativas, ( $\chi^2 = 1.53$   $p > 0.05$ )

Las hembras LY/HY mostraron con más frecuencia el acarreo atípico de las crías 85%, mientras que las HY/LY presentaron el 42%. La prueba de Chi cuadrada mostró diferencias significativas para las hembras LY/HY ( $\chi^2 = 10.5$   $p < 0.05$ ) véase figura 43.



**Figura 43. Recarreos y acarreos atípicos en hembras F1. A recarreos, B acarreos atípicos.** En A las hembras HY presentan el mayor porcentaje de recarreos, en B son las HY las que presentan el mayor porcentaje de acarreos atípicos. \*  $p < 0.05$  prueba de chi cuadrada.

### 3) Lamido corporal a las crías

En las hembras provenientes de intercambio los resultados de esta conducta mostraron que no hubo diferencias entre los grupos de hembras  $F_{(2,90)}=2.1$ ,  $p > 0.05$  ni en los días observados  $F_{(4,90)}=1.3$ ,  $p > 0.05$ , no encontramos interacción entre los días observados y los grupos de hembras  $F_{(8,90)}=0.6$ ,  $p > 0.05$ .

Al comparar la conducta de madres e hijas encontramos que las hembras HY criadas por madres LY no presentaron diferencias significativas con respecto de sus madres, U de Mann Whitney  $W=54.0$ ,  $p > 0.05$ , pero las hembras LY criadas por madres HY si mostraron diferencias con respecto de sus madres, t de Student  $t=3.11$ ,  $gl=12$   $p < 0.01$ .

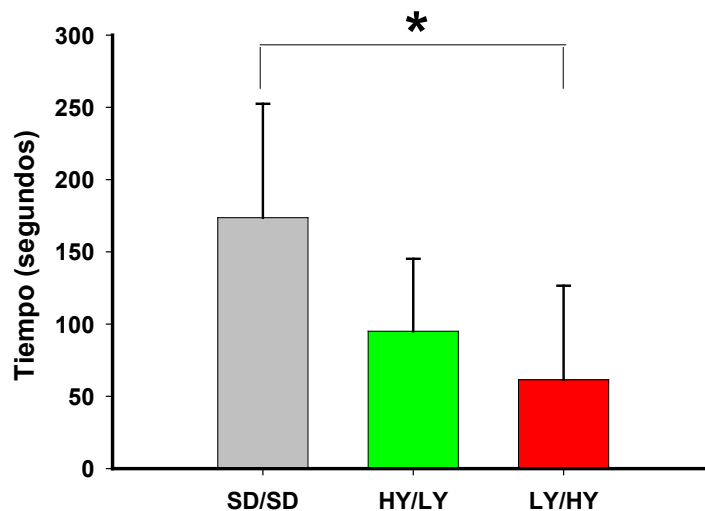
#### Lamido genital a las crías

En estas ratas la duración del lamido genital no presentó diferencias significativas entre los grupos de hembras  $F_{(2,90)}=3.2$ ,  $p > 0.05$ , tampoco se encontró diferencia entre los cinco días observados  $F_{(4,90)}=1.5$ ,  $p > 0.05$ , no se presentó interacción entre los grupos de hembras y los días observados  $F_{(8,90)}=1.1$ ,  $p > 0.05$ .

Cuando se comparó la conducta de lamido genital de estas hembras con sus madres no se encontraron diferencias significativas, hembras HY criadas por madres LY t de Student,  $t=0.49$ ,  $p>0.05$ , hembras LY criadas por madres HY t de Student,  $t=0.02$   $gl=12$ ,  $p>0.05$ .

#### 4) Amamantamiento

En estos grupos de hembras el análisis estadístico mostró diferencias significativas  $F_{(2,90)}=5.5$ ,  $p<0.05$  prueba de Tukey hembras Sprague-Dawley vs. HY  $q=4.5$ ,  $p<0.05$  véase figura 44, en cuanto a los días observados no se encontraron diferencias significativas  $F_{(4,90)}=1.9$ ,  $p>0.05$ , la interacción entre los grupos de hembras y los días observados no mostró diferencias significativas  $F_{(8,90)}=1.1$ ,  $p>0.05$ .



**Figura 44. Amamantamiento.** Hembras LY y HY criadas por madres de la otra sublínea, observe que las hembras HY criadas por madres LY pasan el menor tiempo en posición de amamantamiento.\* $p<0.05$  prueba de Tukey. Cada barra representa la media  $\pm$  el error estándar.

Con respecto a las hembras que fueron criadas por sus propias madres las hembras HY y LY procedentes de intercambio presentaron menores tiempos de posición de amamantamiento, t de Student hembras LY criadas por sus propias madres vs. LY criadas por madres procedentes de los intercambios  $t=-2.71$ ,  $p<0.03$ . Para las HY  $t=2.21$ ,  $p<0.05$ .

## 5) Reconstrucción del nido

En estas hembras los resultados encontrados para esta variable mostraron que las hembras Sprague-Dawley pasan menos tiempo construyendo el nido. Sin embargo, el análisis estadístico no mostró diferencias significativas  $F_{(2,90)}=0.31$ ,  $p>0.05$ , para los días observados  $F_{(4,90)}=1.4$ ,  $p>0.05$ , la interacción entre estos dos factores tampoco mostró diferencias significativas  $F_{(8,90)}=0.37$ ,  $p>0.05$ , cuando se compararon con sus madres, hembras HY criadas por madres LY t de Student,  $t=1.46$ ,  $gl=12$ ,  $p>0.05$ , hembras LY criadas por madres HY  $t=0.03$ ,  $gl=12$ ,  $p>0.05$ .

## 6) Calidad del nido

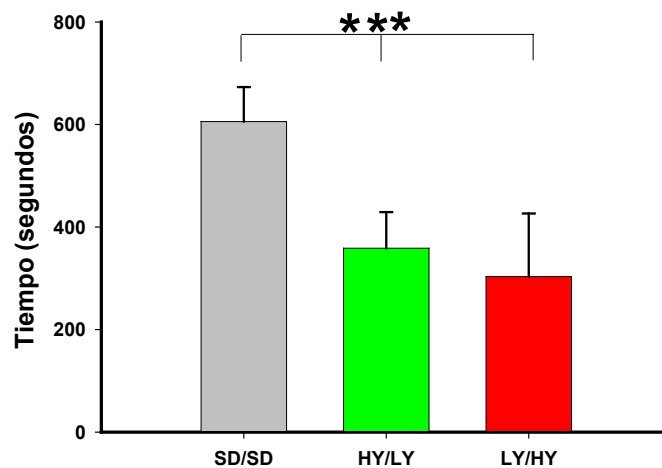
En cuanto a la calidad del nido y los resultados encontrados fueron hembras Sprague-Dawley presentaron nidos con puntaje de tres, las hembras LY tuvieron nidos con puntaje uno y dos, nuevamente las hembras HY presentaron nidos con calidad uno. Es decir las hembras HY aún cuando fueron criadas por madres LY siguieron presentando nidos de mala calidad.

## 7) Tiempo dentro del nido

Para estas hembras los resultados mostraron diferencias al comparar entre los tres grupos de hembras  $F_{(2,90)}=25.3$ ,  $p<0.001$ , prueba de Tukey Sprague-Dawley vs. HY  $q=8.8$ ,  $p<0.001$ , hembras Sprague-Dawley vs. LY  $q=7.2$ ,  $p<0.001$ , pero al realizar la comparación entre los días no se encontraron diferencias significativas  $F_{(4,90)}=1.3$   $p>0.05$ , así como la interacción entre los grupos de hembras y el día de observación  $F_{(8,90)}=1.5$ ,  $p>0.05$ , véase figura 46.

Al realizar la comparación entre las hembras criadas por sus propias madres con las hembras que fueron criadas por hembras de intercambio encontramos diferencias en el tiempo que pasan dentro del nido en las hembras HY, t de student,  $t=2.84$ ,  $p<0.02$ .





**Figura 46. Tiempo dentro del nido.** Observe que las hembras LY y HY pasan menos tiempo dentro del nido con respecto a las Sprague-Dawley,  $*p < 0.001$  LY y HY con respecto a SD, prueba de Tukey. Cada barra representa la media  $\pm$  el error estándar.

### 8) Autoaseo de la hembra

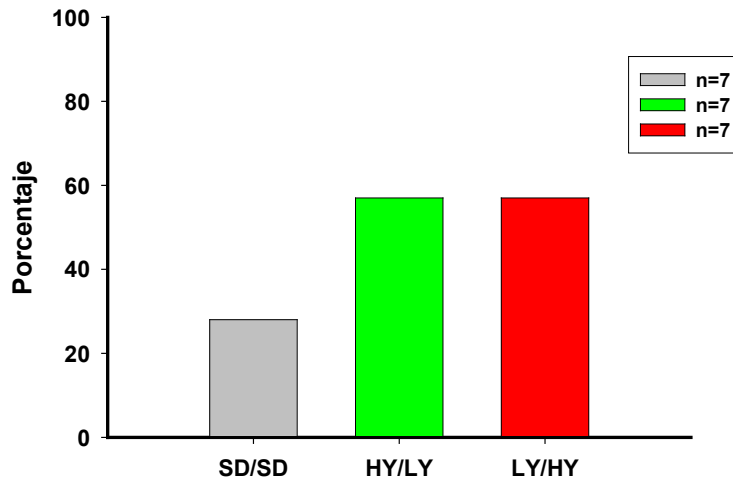
En hembras procedentes de intercambio los resultados encontrados mostraron duraciones de aseo muy similares entre los tres grupos de hembras  $F_{(2,90)} = 0.61$ ,  $p > 0.05$ , así como para los cinco días de observación  $F_{(4,90)} = 0.23$ ,  $p > 0.05$ . El análisis estadístico tampoco mostró diferencias significativas en cuanto a la interacción de los grupos de hembras y los días de observación  $F_{(8,90)} = 0.82$ ,  $p > 0.05$ .

La comparación de estas hembras con sus madres tampoco mostró diferencias significativas al realizar las comparaciones entre ellas, hembras HY criadas por madres LY U de Mann Whitney  $W = 39$ ,  $p > 0.05$ , hembras LY criadas por madres HY t de Student,  $t = 0.06$ ,  $gl = 12$ ,  $p > 0.05$ .

### Acarreo de la cola (circling)

Las hembras F1 procedentes del intercambio mostraron el acarreo de la cola observado en sus madres. El acarreo de la cola de las hembras Sprague-Dawley fue 28%, las HY/LY y LY/HY 57% para ambas ver Fig. 47. Las hembras Sprague-Dawley solo presentaron el acarreo de su propia cola en los primeros días de observación y las hembras LY y HY la presentaron a lo largo de todos los días observados al igual que sus

madres. La prueba de Chi cuadrada no mostró diferencias significativas ( $X^2= 1.52$   $p>0.05$ ).

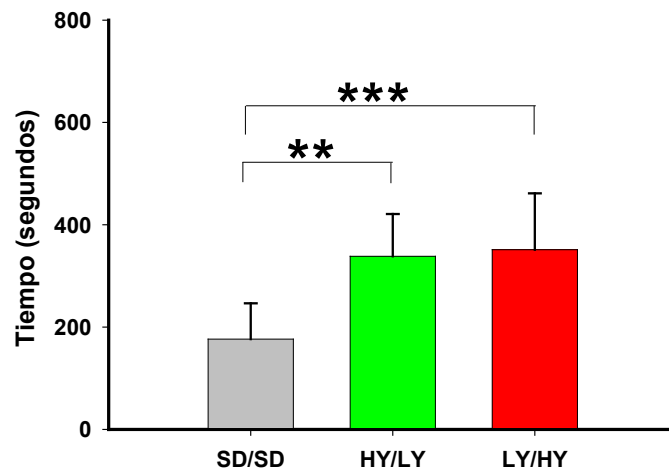


**Fig. 47. Acarreo de la cola de la madre (circling). Hembras criadas por madres de intercambio.** Las hembras Sprague-Dawley presentan el menor porcentaje de esta conducta y las hembras HY el mayor. SD n=7, LY n=8, HY n=8. Cada barra representa el porcentaje de hembras que acarrean su cola.

## 9) Exploración de la caja

En este grupo de hembras las Sprague-Dawley presentaron menores tiempos de exploración de la caja en comparación con las demás hembras,  $F_{(2,90)}=16.8$ ,  $p<0.05$  prueba de Tukey Sprague-Dawley vs. HY  $q=5.2$ ,  $p<0.05$ , Sprague-Dawley vs. LY  $q=4.8$   $p<0.05$ , para resultados por días el análisis estadístico no mostró diferencias significativas  $F_{(4,90)}=0.4$ ,  $p>0.05$ , la interacción entre los días y los grupos de hembras tampoco fue significativa  $F_{(8,90)}=1.6$ ,  $p>0.05$  véase figura 45.

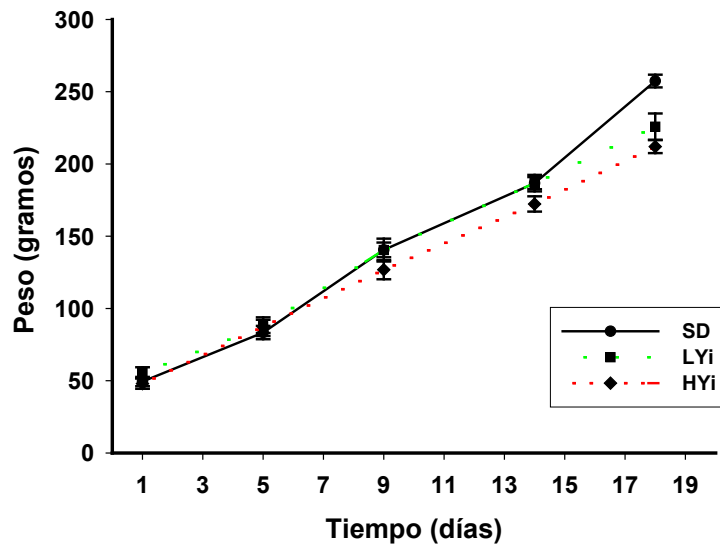
Al realizar la comparación con sus madres no se encontraron diferencias significativas, hembras HY criadas por madres LY t de Student,  $t=0.27$ ,  $gl=12$ ,  $p>0.05$ , hembras LY criadas por madres HY  $t=0.97$ ,  $gl=12$ ,  $p>0.05$



**Figura 45. Exploración de la caja.** Como se observa en la gráfica las hembras Sprague-Dawley presentan el menor tiempo explorando la caja en comparación con las hembras LY y HY. \* $p < 0.05$  Prueba de Tukey. Cada barra representa la media  $\pm$  el error estándar.

## 10) Peso de las camadas

El peso de las camadas en las hembras que fueron criadas por madres de intercambio mostró que las hembras HY criadas por madres LY tuvieron crías que presentaron mayor ganancia de peso a lo largo de los días observados, el análisis estadístico no mostró diferencias significativas entre los grupos de hembras  $F_{(2,90)}=3.24$ ,  $p=0.63$ , entre los días si encontramos diferencias lo que es normal puesto que las crías van ganando peso conforme avanza el tiempo  $F_{(4,90)}=517$ ,  $p < 0.001$ , y la interacción entre los días y los grupos de hembras también mostró diferencias significativas  $F_{(8,90)}=3.55$ ,  $p < 0.001$  ver figura 48



**Figura 48. Peso de las camadas.** Observe que las crías de las dos sublíneas de ratas y las Sprague-Dawley ya no muestran las diferencias en peso que se aprecian en las crías de las hembras criadas por sus propias madres y las crías presentan una ganancia de peso muy similar. Cada punto representa la media  $\pm$  el error estandar de 7 camadas Sprague-Dawley, y 7 camadas HY y LY.

## 9.5 Discusión

Los resultados de esta parte del proyecto mostraron que solamente algunos de los componentes de la conducta maternal en nuestras ratas fueron alterados por el intercambio de crías. Otros como los reacarreo, los acarreo atípicos presentes más en las ratas HY que en las LY y Sprague-Dawley disminuyeron un poco pero siguieron presentándose más en estos animales que en los LY y Sprague-Dawley.

En los roedores y primates las experiencias adquiridas entre el parto y el destete pueden tener efectos profundos sobre la calidad e intensidad de su conducta parental cuando les corresponde cuidar a su progenie. Las experiencias tempranas de las crías con su madre y en el nido tienen efectos a largo plazo cuando ellas crecen, y pueden contribuir a la fisiología del animal así como a los procesos de maduración. Muchas de las funciones hormonales y sistemas neurales organizan sus funciones a largo plazo en relación a las interacciones que el infante tiene con sus padres y después con sus conespecíficos (Fleming y cols. 2002).

El intercambio de crías es un procedimiento simple y efectivo para determinar si los orígenes de las diferencias entre cepas o especies pueden ser atribuidos a factores genéticos o epigenéticos (Francis y cols. 1999, Wigger y cols. 2001, Francis y cols. 2003), Cuando realizamos el intercambio de crías entre las sublíneas LY y HY encontramos una tendencia a disminuir el tiempo dedicado a las nuevas crías tal vez debido a que detectaban un olor diferente o bien a que los estímulos provistos por las nuevas crías no eran similares a los proporcionados por las crías propias.

Francis y cols. (1999) demostraron en las ratas de alto y bajo lamido que los animales que reciben altas cantidades de lamido corporal y genital por parte de sus madres cuando crecen y crían a su propia descendencia también mostrarán grandes cantidades de lamido hacia sus crías, y lo mismo sucedía con las ratas criadas por hembras que proporcionaban bajas cantidades de lamido corporal y genital. Sin embargo, cuando las crías de las hembras de alto lamido eran criadas por madres de bajo lamido y viceversa el patrón conductual que presentaban las hembras en etapa adulta cuando criaban a su progenie era el de la madre que las había criado y no el de su madre biológica (Francis y cols. 1999).

Estos efectos sobre la conducta de la progenie también pueden ser obtenidos alterando la conducta de las madres o el ambiente del nido. Gonzalez y cols. 2001, realizaron crianza artificial en crías de hembras Sprague-Dawley del día 4 al 20

postnatal y proporcionando mínima o máxima estimulación táctil (estimulación que simulaba el lamido de la madre) lograron alterar la conducta de las hembras en etapa adulta especialmente la conducta maternal de estas hacia su prole. Estas hembras presentaron una reducción en las conductas dedicadas al cuidado de las crías y un aumento en conductas como perseguir su propia cola, excavación y trepar además de que fueron fácilmente distraídos por estímulos externos. Todo esto en comparación con las hembras que fueron criadas por sus madres. Un hallazgo interesante de estos autores es el que estas conductas se transmitan de madres a hijas de manera no genética (Gonzalez y cols. 2001).

Nuestros resultados mostraron que además de la reducción en el tiempo dedicado a las crías de manera general, las hembras HY presentaron nuevamente el mayor número de reacarros y acarros atípicos de las crías en comparación con las hembras LY y Sprague-Dawley. Esto refuerza que el proceso de selección por cruzamientos endogámicos estrictos por más de 60 generaciones considerando como criterio único la frecuencia espontánea de bostezo (Urbá-Holmgren y cols. 1990), produjo por azar una sublínea que varía en la expresión de diferentes conductas.

En las ratas existen variaciones naturales en la conducta maternal que parecen ser transmitidas de madres a hijas y puede servir como un mecanismo de herencia no genómica, los efectos de un evento ambiental que ocurre en la vida temprana también pueden ser transmitidos a la siguiente generación y este efecto es mediado por alteraciones en la conducta maternal (Meaney 2001).

Las variaciones en la conducta maternal tienen un impacto significativo sobre el desarrollo neural en las ratas. La estabilidad del nido y el medio ambiente social en los primeros días de vida están definidos por la madre y la camada, luego la madre sirve como un enlace directo entre el ambiente y el animal en desarrollo por lo tanto una adversidad ambiental que altere la conducta de los padres alterará el desarrollo de las crías (Meaney 2001).

A este respecto al ser criadas por una hembra diferente causó que algunos componentes de la conducta maternal en estas ratas se expresaran de diferente manera, en cambio otros como los reacarros y acarros atípicos son conductas que tienen un fuerte componente genético que es difícil de modificar por factores epigenéticos.

Fleming y cols. (2002) muestran que muchas de los sistemas hormonales y neurales organizan sus funciones a largo plazo en relación a las interacciones padres-hijos y en etapas posteriores del desarrollo con sus hermanos/hermanas. A este respecto

cabe mencionar que en este trabajo no se estudiaron las relaciones entre los hermanos durante la lactancia y aún después del destete. Es probable que la relación entre los hermanos contribuya a las respuestas que se observaron en la etapa adulta de estos animales, como es la expresión de la conducta maternal de las hijas.

En este trabajo hemos mostrado que existe una influencia de los factores genéticos en algunos componentes de la conducta maternal (reacarros y acarros atípicos) y de los epigenéticos en otros (duración de acarros, lamido corporal y genital, y tiempo dentro del nido) en la expresión de la conducta maternal de las ratas HY y LY.

## 10. DISCUSIÓN GENERAL

El presente trabajo tuvo como objetivo analizar la conducta maternal en las ratas HY y LY y compararla con las ratas Sprague-Dawley reproducidas al azar. Así mismo conocer si el cuidado materno, los factores genéticos o ambos; interactuaban para producir las diferencias en la reactividad emocional reportadas en estas sublíneas (Moyaho y cols. 1995). Así como sobre la conducta maternal de sus hijas.

Los resultados obtenidos muestran que la conducta maternal de las hembras LY y HY es deficiente en comparación a la desplegada por las hembras Sprague-Dawley.

Rosenblatt y Lerhman desde 1963 mostraron que la responsividad maternal, es decir, la motivación que la hembra presenta para cuidar a sus crías se expresa a través del acarreo de las mismas. En este trabajo todas las hembras presentaron la conducta de acarreo, por lo tanto; podemos decir que los aspectos motivacionales de la conducta maternal en las ratas Sprague-Dawley, las LY y las HY no se encuentran alterados.

Los demás componentes de esta conducta como el lamido corporal, el genital, el amamantamiento y la construcción de nido están presentes en todos los grupos de hembras analizadas. Los problemas más evidentes en la conducta maternal de las sublíneas, particularmente en las hembras HY son la presencia de los varios intentos de acarreo, los reacarros, los acarros atípicos, así como las deficiencias en la construcción del nido, todos estos componentes de la conducta maternal dependientes de manera importante del sistema dopaminérgico (Kerr y Stern 1999, Byrnes 2002).

A este respecto Byrnes y cols. 2002, muestran que la administración de antagonistas dopaminérgicos D<sub>1</sub> en hembras lactantes producen que las hembras dejen a sus crías fuera del nido.

Li y Fleming (2003) han reportado que las lesiones en la corteza del núcleo accumbens producen alteraciones en el mantenimiento de la atención de los animales. Observaciones preliminares en nuestros animales sugieren un posible déficit de atención en las ratas HY lo que se puede evidenciar en las interrupciones que presenta la cadena sintáctica del aseo en estos animales (Díaz Romero, datos no publicados) o las suspensiones en la ejecución de la conducta sexual que presentan los machos HY (Romero-Carbente 2000, Toríz-González 2006) o los mismos reacarros encontrados en este trabajo.



Adicionalmente, los resultados obtenidos por Díaz-Romero y cols. (2005) muestran una reducción del 50% de los niveles de dopamina extracelular en la corteza del núcleo accumbens con respecto a los niveles de dopamina en las animales LY y Sprague-Dawley, así como un aumento de los receptores D<sub>1</sub> en el núcleo estriado en los mismos animales (Díaz-Romero y cols. 2005).

La literatura reporta que el núcleo accumbens tiene un papel importante sobre la regulación de la conducta maternal y otras conductas motivadas y considerando que existen diferencias en la concentración de receptores D<sub>3</sub> en las ratas HY es probable que los cambios en el sistema dopaminérgico mesolímbico (Díaz-Romero, datos no publicados), sean al menos en parte, los responsables de los cambios en la motivación que muestran las ratas HY para cuidar a sus crías. Adicionalmente, las ratas HY muestran diferencias en los niveles de receptores D<sub>1</sub> a nivel ventral del caudado-putamen (Díaz-Romero y cols. 2005), lo que puede explicar la pérdida de continuidad en las conductas motoras como lo es el acarreo descritas en el presente trabajo, la pérdida de la secuencia en la ejecución de la conducta de aseo (Moyaho y cols. 1995, Díaz-Romero, datos no publicados) o de la conducta sexual masculina (Toríz-González 2006), los resultados de estos trabajos muestran que las ratas HY no ejecutan adecuadamente conductas con secuencias de actos motores altamente estereotipados y siguiendo un orden jerarquizado. Aunque todavía falta por evaluar el funcionamiento de los sistemas prolactinérgico y oxitocinérgico en estos animales, ya que estas hormonas peptídicas tienen un papel central en la regulación de la conducta maternal (Bridges 1994, Mann 2001, González-Mariscal y Poindron 2002).

Por otro lado, el intercambio de crías es un procedimiento simple y efectivo para determinar si los orígenes de las diferencias entre cepas o especies pueden ser atribuidos a factores genéticos o epigenéticos (Francis y cols. 1999, Wigger y cols. 2001, Francis y cols. 2003), Cuando realizamos el intercambio de crías entre las sublíneas LY y HY encontramos una tendencia a que las madres disminuyeran el tiempo dedicado a las nuevas crías tal vez debido a que detectaban un olor diferente o bien a que los estímulos provistos por las nuevas crías no eran similares a los proporcionados por las crías propias.

Sin embargo, nuestros resultados muestran que además de la reducción en el tiempo dedicado a las crías de manera general, las hembras HY presentaron nuevamente los mayores porcentajes de reacarreos y acarreo atípicos de las crías en comparación con las hembras LY y Sprague-Dawley. Lo que refuerza que el proceso de selección

por cruzamientos endogámicos estrictos por más de 60 generaciones considerando como criterio único la frecuencia espontánea de bostezo (Urbá-Holmgren y cols. 1990), produjo por azar una sublínea que varía en la expresión de diferentes conductas.

En este trabajo hemos mostrado que existe una influencia de los factores genéticos en algunos componentes de la conducta maternal (reacarreo y acarreo atípicos) y de los epigenéticos en otros (duración de acarreo, lamido corporal y genital, y tiempo dentro del nido) en la expresión de la conducta maternal de las ratas HY y LY.

Como ya se mencionó en la discusión del primer experimento los resultados apuntan a que las diferencias en la expresión de la conducta maternal que presentan las ratas HY en la conducta de acarreo de las crías y en la construcción de nido están relacionadas de manera muy importante con la participación del sistema dopaminérgico (Kerr y Stern 1999, Silva y cols. 2001, Byrnes y cols. 2002)

Los cambios que se presentan sobre todo en las ratas HY concuerdan con lo reportados por Byrnes y cols. (2002) quienes muestran que es necesaria la activación conjunta de los receptores D<sub>1</sub> y D<sub>2</sub> para que las conductas de acarreo y construcción de nido sean las adecuadas.

También Kerr y Stern (1999) reportan que las microinfusiones de antagonistas dopaminérgicos en el núcleo accumbens afectaban el acarreo de las crías y el lamido de las mismas, estos autores también muestran que la parte cortical de este núcleo está íntimamente involucrada en la ejecución de las conductas antes mencionadas (Kerr y Stern 1999).

Otro factor que puede estar contribuyendo a las diferencias de expresión de la conducta maternal en nuestros animales es el estrés. He mencionado en la discusión del primer experimento que el estrés de la madre puede afectar diversas conductas en las crías y esto puede darse tanto a corto como a largo plazo (Macari y cols. 2003). Los trabajos de estos autores mencionan que el estrés prenatal afecta la plasticidad del sistema monoaminérgico en el feto y estas alteraciones pueden reflejarse en la etapa adulta de las hembras dando como consecuencia las alteraciones encontradas en la conducta maternal de las crías. Nosotros proponemos que las madres HY son animales con niveles de respuesta al estrés elevada, ya que muestran una corta latencia al acarreo de la primera cría además de los acarreo atípicos. Salas y cols. (2002) muestran que cuando una hembra está muy estresada acarrea rápido a sus crías, ellos proponen que es debido a la ansiedad que la madre muestra y también se presenta el acarreo de cualquier parte del cuerpo. Esto concuerda con lo encontrado en las hembras HY puesto que son

las que tardan menos en acarrear a sus crías en comparación con las hembras LY y Sprague-Dawley, también pudiera suceder que como dice Macari y cols. (2003) el estrés presentado por las madres podría afectar el sistema dopaminérgico a través del proceso de selección de estos animales. Sin embargo, este punto requiere de experimentos adicionales enfocados a resolverlo.

En cuanto a los resultados encontrados en el campo abierto, varios trabajos realizados en animales seleccionados como las ratas de alto y bajo lamido (Francis y Meaney 1999, Liu y cols. 1997, Champagne y cols. 2001) o las genéticamente modificados como las ratas Romanas de alta y baja evitación (Fernández-Teruel y cols. 1997, Steimer y cols. 1997) o las cepas Fisher y Lewis (Gómez-Serrano y cols. 2001); o bien las cepas de ratones como las BALB/cJ y la C57BL/6J (Francis y cols. 2003), aún los animales criados de manera exogámica como son las cepas de ratas Sprague-Dawley o las Wistar muestran que las respuestas al estrés de los animales son influenciadas al menos en parte por el cuidado materno, puesto que también dependen del contenido genético de las cepas e incluso están relacionadas al género, véase tabla 6.

Schindler y Carmona (2002) trabajando con cocaína, agonistas del receptor D<sub>1</sub> (SKF 82958) y agonistas del receptor D<sub>2</sub> (quinpirol) sobre la actividad locomotora de hembras y machos Sprague-Dawley, muestran que el sistema dopaminérgico está íntimamente involucrado en la ejecución de la actividad locomotora en estas ratas, además este sistema presenta diferencias sexualmente dimórficas en cuanto a su sensibilidad a la cocaína y al agonista D<sub>1</sub>, ya que las hembras son quienes presentan mayores distancias recorridas en comparación con los machos. Estos autores sugieren que los efectos activacionales de la cocaína sobre la actividad locomotora son mediados parcialmente por los receptores D<sub>1</sub>.

Li y Fleming (2003) muestran que la exposición ante un ambiente novedoso incrementa los niveles de dopamina en la corteza, pero no en la parte central del núcleo accumbens, las lesiones en la corteza de este núcleo en hembras sensibilizadas provocan que los animales exploren menos y sean más ansiosos, esto se evidenció porque las hembras mostraron un menor número de erguidos y la relación de cuadros centrales/cuadros totales fue muy bajo comparación con hembras con falsa lesión. Los resultados encontrados en el campo abierto para los animales HY concuerda con lo reportado por estos autores en el sentido de que se presentaron menos erguidos, Díaz-Romero y cols. (2005) reportan una disminución de la dopamina, y ante un ambiente

novedoso como el campo abierto en nuestro caso tienden a ser más ansiosos con respecto a lo mostrado por las ratas LY y Sprague-Dawley exogámicas.

Dada la mayor ansiedad que muestran las ratas HY en la prueba de campo abierto, es necesario hacer pruebas adicionales para medir niveles de corticosterona y hormona adrenocorticotrópica, estos experimentos se realizarán como continuación de este trabajo empleando pruebas conductuales como es el laberinto en cruz elevado (Wigger 2001).

A nivel de regulación neuroendócrina debemos evaluar las respuestas conductuales y hormonales ante distintos tipos de estrés como son: exposición por inmersión en agua (Armario y cols.1986, citado en Retana y cols. 2001), choques eléctricos en las patas (Rivest y cols. 1991, citado en Retana y cols. 2001) o bien por restricción de movimiento (Torrellas y cols.1981, citado en Retana y cols. 2001). Después de la exposición a estos estresores se puede evaluar la respuesta del eje hipotálamo-hipófisis suprarrenal mediante la medición de sus productos hormonales como son las POMC-ACTH y los niveles circulantes de corticosterona.

Vale la pena resaltar que a pesar del intercambio de crías los animales HY se siguen comportando como si hubieran sido criados por sus madres biológicas, y esta conducta tiene influencia sobre algunos de los componentes de la respuesta al estrés en las ratas que fueron criadas por estas hembras, indicando que la respuesta al estrés en el campo abierto está influenciada en parte por factores epigenéticos.

Con respecto a la conducta maternal de las hembras F1, los resultados aquí reportados indican que solamente algunos de los componentes de la conducta maternal en nuestras ratas fueron modificados por el intercambio de crías. Otras conductas como los reacarreo, los acarreo atípicos en las ratas HY disminuyeron discretamente pero estos efectos no son significativos.

Fleming y cols. (2002) muestran que muchas de los sistemas hormonales y neurales organizan sus funciones a largo plazo en relación a las interacciones padres-hijos y en etapas posteriores del desarrollo con sus hermanos/hermanas. A este respecto cabe mencionar que en este trabajo no se estudiaron las relaciones entre los hermanos durante la lactancia y aún después del destete y éstas pudieron haber contribuido a las respuestas que se observaron en la etapa adulta de estos animales, ya sea en su conducta en el campo abierto así como en la expresión de la conducta maternal de las hijas.

Debo destacar que en experimentos recientes en nuestro laboratorio hemos encontrado que las ratas HY expuestas a un campo cerrado midiendo la locomoción

mediante pares simétricos de fotodiodos muestran que estos animales deambulan más que las LY (Díaz-Romero, datos no publicados). Así mismo las respuestas ante estimulación dopaminérgica indirecta a través de administración de D-anfetamina o la apomorfina (agonista dopaminérgico) producen incrementos mayores de la actividad locomotora en caja cerrada en las ratas HY con respecto de las LY (Cortés y Gavito, datos no publicados).

Por otra parte, mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) acoplada a detección electroquímica hemos mostrado que el contenido total de dopamina y del ácido dihidroxi-fenilacético (DOPAC) el principal metabolito de este neurotransmisor en el núcleo accumbens es menor en las ratas HY respecto de las LY (Díaz-Romero, datos no publicados). Estos hallazgos neuroquímicos aunados a los autorradiográficos ya descritos muestran que las ratas HY tienen diferencias significativas en los contenidos de dopamina y niveles de receptores del sistema dopaminérgico mesolímbico (Díaz-Romero y cols. 2005, Díaz Romero datos no publicados) nos permiten proponer que pueden ser las responsables de las alteraciones de la conducta maternal. Si consideramos que en las ratas HY se ha mostrado que la administración sistémica de agonistas  $D_2$  o  $D_3$  producen incrementos de bostezo mayores en las HY que en las LY (Urbá-Holmgren y cols. 1993, Eguibar y cols. 2003, Díaz-Romero datos no publicados). La administración sistémica de agonistas  $D_1$  (SKF-38393) produce incrementos mayores de la conducta de aseo en la rata HY respecto de lo obtenido en las LY (Eguibar y cols. 2003).

Si consideramos que el sistema dopaminérgico mesolímbico tiene un papel importante en la regulación de la conducta maternal tanto en sus aspectos de motivación, reforzamiento, así como en la toma de decisiones a través de sus proyecciones a la corteza media prefrontal de tal forma que un desbalance de la transmisión dopaminérgica puede alterar los mecanismos que motivan a la madre a interactuar adecuadamente con sus crías como es el lamido corporal, el genital, la posición de amamantamiento o bien en la secuenciación de la conducta como en el caso de los reacarreos o la orientación de los mismos en los acarreo atípicos.

Futuras investigaciones nos ayudarán a determinar con detalle los cambios neuroanatómicos, neuroquímicos y/o hormonales que sustenten nuestros hallazgos en estas sublíneas isogénicas.

**Tabla 6.** Cepas de ratas y ratones que difieren en su conducta maternal y su respuesta al estrés.

<b>Cepa</b>	<b>Conducta de la madre</b>		<b>Respuesta al estrés</b>	
Ratas Fisher 344	Bajo porcentaje de Lamido anogenital	Menor tiempo de Amamantamiento Crías menor peso	Menor desempeño copulatorio	Moore y cols. 1996
Ratas Long Evans	Alto porcentaje de Lamido anogenital	Mayor tiempo de amamantamiento	Mejor desempeño copulatorio	Moore y cols. 1996
Ratas High LG-ABN	Alto lamido	Mayor duración Amamantamiento	Menos estrés	Liu y cols. 1997, Francis y Meaney 1999
Ratas Low LG-ABN	Bajo lamido	Menor duración amamantamiento	Más estrés	Liu y cols. 1997, Francis y Meaney 1999
Ratas LEW/N		Mayor peso	Más estrés Menor liberación corticosterona hembras	Gomez-Serrano y cols. 2001
Ratas F344/N		Menor peso	Menos estrés, mayor liberación corticosterona hembras	Gomez-Serrano y cols. 2001
Ratas LAB		Vocalizaciones de baja frecuencia	Menos estrés	Wigger y cols. 2001
Ratas HAB		Vocalizaciones de alta frecuencia	Más estrés	Wigger y cols. 2001
Ratas Hatano HAA	Mayor tiempo en contacto con crías	Mayor peso crías Mayor latencia amamantamiento	Activación rápida del eje HHA	Otha y cols. 2002
Ratas Hatano LAA	Tiempo de contacto con crías Disminuido	Menor duración amamantamiento Menor peso crías	Activación lenta del eje HHA	Otha y cols. 2002
Ratones BALB/cJ	Bajo lamido		Más estrés	Francis y cols. 2003
Ratones C57BL/6J	Alto lamido		Menos estrés	Francis y cols. 2003
Ratas HY	Más reacarros y acarros atípicos		Más estrés	Ugarte-Rojano 2006.
Ratas LY	Menos reacarros y acarros atípicos		Menos estrés	Ugarte-Rojano 2006.

High y low LG-ABN = ratas de alto y bajo lamido y arqueamiento.

LEW/N= ratas Lewis cepa N.

F344/N= ratas Fisher 344 cepa N.

LAB y HAB = ratas de baja y alta conducta de ansiedad

HY y LY = sublíneas de ratas de alto y bajo bostezo.

## 11. CONCLUSIONES

- 1) La conducta maternal de las ratas HY es deficiente en comparación con la mostrada por las hembras LY y Sprague-Dawley.
- 2) Las hembras LY presentan una conducta de acarreo de las crías atípica, esta conducta se acentúa en las HY.
- 3) Las alteraciones en la conducta de acarreo (reacarreos) y de construcción de nido en las hembras HY tienen un componente genético, el cual predomina sobre los factores epigenéticos.
- 4) Algunos componentes de la conducta maternal como el tiempo dentro del nido, el lamido corporal y el genital, se transmiten de una generación a otra de manera epigenética.
- 5) La influencia de la madre participa sobre el peso de las crías, es decir las crías de las hembras F1 HY que fueron criadas por madres HY tienen menos peso, en cambio las hembras F1 HY que fueron criadas por madres LY ganan más peso.
- 6) La responsividad ante ambientes estresantes (prueba de campo abierto) en las ratas HY es mayor que la de las LY y Sprague-Dawley .
- 7) El desempeño en el campo abierto en las ratas Sprague-Dawley, HY y LY es sexualmente dimórfico, las hembras realizan más visitas al centro, presentan menor número de bolos fecales y menor micción que los machos.
- 8) El aseo, las visitas al cuadro central, medidos en la caja de campo abierto muestran una influencia del cuidado materno (factor epigenético)

## 12. PERSPECTIVAS

Dado que durante este proyecto encontramos que las crías HY criadas por sus madres biológicas presentaron bajo peso durante toda la lactancia y las camadas LY disminuyeron de peso cuando fueron criadas por madres HY proponemos medir la producción láctea. Así como los niveles de prolactina y oxitocina plasmática en las hembras LY y HY con el propósito de dilucidar si este bajo peso se debe a una pobre producción de leche por parte de la madre.

También proponemos evaluar el metabolismo y la ingestión de alimento en las ratas LY y HY puesto que los animales HY presentan bajo peso a lo largo de su vida en comparación con los animales LY y Sprague-Dawley.

Para realizar una correlación con los resultados encontrados en el campo abierto proponemos medir los niveles de hormona adrenocorticotropa y de corticosterona plasmática en las hembras y machos HY y LY en edad adulta, ante un ambiente novedoso como el campo abierto o en el laberinto elevado en cruz.

Con el objetivo de mejorar el desarrollo y el desempeño conductual, de la progenie proponemos realizar durante el periodo postnatal temprano, el proceso de “manipulación”. Éste consiste en incrementar la cantidad de estímulos sensoriales que las crías reciben por parte de la madre (lamidos) a través del paradigma de separación maternal parcial.



### 13. REFERENCIAS

Barajas M. 2002. Análisis estructural de la conducta de aseo en las sublíneas de alto- y de bajo bostezo: I) Estudio de la ontogenia temprana II) Influencia del cuidado materno, III) Efecto de la ACTH<sub>1-24</sub> y del SKF 38393. 1-139. Tesis de Maestría en Ciencias Fisiológicas. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Bridges RS, Numan M, Ronsheim PM y Mann PE. 1990. Central prolactin infusions stimulate maternal behavior in steroid-treated, nulliparous female rats. *Proc Nat Acad Sci USA* 87: 8003-8007.

Bridges R S y Mann PE. 1994. Prolactin-brain interactions in the induction of maternal behavior in rats. *Psychoneuroendocrinology* 19: 611-622.

Bridges RS. 1996. Biochemical basis of parental behavior in the rat. En: *Advances in the study of behavior*. Rosenblatt J S y Snowdon C T (eds). Editorial. Academic Press. San Diego, E.U. pp. 215-224.

Bridges RS, Mann PE y Coppeta J S. 1999. Hypothalamic involvement in the regulation of maternal behaviour in the rat: inhibitory roles for the ventromedial hypothalamus and the dorsal/anterior hypothalamic areas. *J. Neuroendocrinol* 11: 259-266.

Byrnes EM, Rigerio BA y Bridges RS. 2002. Dopamine antagonists during parturition disrupt maternal care and the retention of maternal behavior in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 73: 869-875.

Cabib S and y Puglisi-Allegra S. 1994. Opposite responses of mesolimbic dopamine system to controllable and uncontrollable aversive experiences. *J Neurosci* 14: 3333-3340.

Caldji C, Tannenbaum B, Sharma S, Francis D, Plotsky PM y Meaney M. 1998. Maternal care during infancy regulates the development of neural systems mediating the expression of fearfulness in the rat. *Proc Nat Acad Sci. USA.* 95: 5335-5340.

Carlson NR. 2001. Anxiety disorders, autistic disorder and stress disorders. En: *Physiology of behavior*. Allyn y Bacon (ed). Massachussets, EU. pp 558-581.

Champagne F, Diorio J, Sharma S y Meaney M. 2001. Naturally occurring variations in maternal behavior in the rat are associated with differences in estrogen-inducible central oxytocin receptors. *Proc Nat Acad Sci. USA.* 98: 12736-12741.

Champagne F, Chretien P, Stevenson CW, Zhang TY, Gratton A y Meaney MJ. 2004. Variations in nucleus accumbens dopamine associated with individual differences in maternal behavior in the rat. *J. Neurosci* 24: 4113-4123.

Díaz-Romero M, Arias-Montaña JA and Eguibar JR y Flores G. 2005. Enhanced binding of dopamine D<sub>1</sub> receptors in caudate-putamen subregions in high-yawning Sprague-Dawley rats. *Synapse* 56: 69-73.

Díaz-Romero M, 2006. Estudio de estructuras dopaminérgicas nigro-estriatales y mesolímbicas: su participación en la conducta de aseo y bostezo de las ratas de alto y bajo bostezo de la cepa Sprague-Dawley. Tesis de Doctorado en Ciencias Fisiológicas. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Díaz JL 1985. Estructura del comportamiento y de la dinámica social: una analogía musical. En: *Análisis estructural de la conducta*. UNAM (ed). México. pp 19-47.

Eguibar JR y Moyaho A. 1997. Inhibition of grooming by pilocarpine differs in high- and low- yawning sublimes of Sprague-Dawley rats. *Pharmacol Biochem Behav* 58: 317-322.

Eguibar JR, Romero-Carbente JC y Moyaho A. 2003. Behavioral differences between selectively bred rats: D<sub>1</sub> versus D<sub>2</sub> receptors in yawning and grooming. *Pharmacol Biochem Behav* 74: 827-832.

Fernández-Teruel A, Escorihuela AR, Castellano B, González B y Tobeña A. 1997. Neonatal handling and environmental enrichment effects on emotionality, novelty/reward seeking, and age-related cognitive and hippocampal impairments: focus on the Roman rat lines. *Behav Genet* 27: 513-526.

Fernández-Teruel A, Giménez-Llort L, Escorihuela R M, Gil L, Aguilar R, Steimer T y Tobeña A. 2002. Early-life handling stimulation and environmental enrichment are some of their effects mediated by similar neural mechanisms? *Pharmacol Biochem Behav* 73: 233-245.

Fleming AS, Miceli M y Moretto D. 1983). Lesions of the medial preoptic area prevent the facilitation of maternal behavior produced by amygdala lesions. *Physiol Behav* 31: 503-510.

Fleming AS, O'Day DH y Kraemer GW. 1999). Neurobiology of mother-infant interactions: experience and central nervous system plasticity across development and generations. *Neurosci Biobehav Rev* 23: 673-685.

Fleming A S, Kraemer GW, Gonzalez A, Lovic V, Rees S y Melo A. 2002. Mothering begets mothering: the transmission of behavior and its neurobiology across generations. *Pharmacol Biochem Behav* 73: 61-75.

Francis D, Diorio J, Liu D y Meaney M J. 1999a. Nongenomic transmission across generations of maternal behavior and stress responses in the rat. *Science* 286: 1155-1158.

Francis D y Meaney M. 1999b. Maternal care and the development of stress responses. *Curr Opin Neurobiol* 9: 128-134.

Francis D, Szegda K, Campbell G, Martin W.D e Insel TR. 2003. Epigenetic sources of behavioral differences in mice. *Nature Neurosci* 6: 445-446.

Gariépy JL, Rodriguiz RM y Jones BC. 2002. Handling, genetic and housing effects on the mouse stress system, dopamine function, and behavior. *Pharmacol Biochem Behav* 73: 7-17.

Giordano AL Johnson AE y Rosenblatt JS. 1990. Haloperidol-induced disruption of retrieval behavior and reversal with apomorphine in lactating rats. *Physiol Behav* 48: 211-214.

Gomez-Serrano M, Tonelli L, Listwark S, Sternberg E y Riley AI. 2001. Effects of cross fostering on open-field behavior, acoustic startle, lipopolysaccharide-induced corticosterone release, and body weight in Lewis and Fischer rats. *Behav Genet* 31: 427-436.

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. *Develop Psychobiol* 38: 11-32.

González-Mariscal G y Poindron P. 2002. Parental care in mammals: immediate internal and sensory factors of control. *Hormon Brain Behav* 1: 215-297.

Gómora P. 2002. Modulación de la conducta maternal por el GABA en la rata lactante o la virgen. Tesis de doctorado en Biología de la Reproducción. Universidad Autónoma de Tlaxcala.

Grota LJ y Ader R. 1969. Continuous recording of maternal behaviour in *Rattus norvegicus*. *Anim Behav* 17: 722-729.

Gubernick DJ y Alberts JR. 1983. Maternal licking of young: resource exchange and proximate controls. *Physiol Behav* 31: 593-601.

Herrenkohl LR. 1974. Differential effects of progesterone on lactation and nursing behavior in late pregnant and postparturient rats. *Physiol Behav* 13: 495-499.

Keer SE y Stern JM. 1999. Dopamine receptor blockade in the nucleus accumbens inhibits maternal retrieval and licking, but enhances nursing behavior in lactating rats. *Physiol Behav* 67: 659-669.

Kristal MB. 1980. Placentophagia: A biobehavioral enigma (or De gustibus non disputandum est). *Neurosci Biobehav Rev* 4: 141-150.

Kristal MB. 1991. Enhancement of opioid-mediated analgesia: a solution to the enigma of placentophagia. *Neurosci Biobehav Rev* 15: 425-435.

Leon M, Adels L y Coopersmith R. 1985. Thermal limitation of mother-young contact in Norway rats. *Develop Psychobiol* 18: 85-105.

Li M y Fleming AS. 2003. The nucleus accumbens shell is critical for normal expression of pup-retrieval in postpartum female rats. *Behav Brain Res* 145: 99-111.

Liu D, Diorio J, Tannenbaum B, Caldji C, Francis D, Freedman A, Sharma S, Pearson D, Plotsky PM y Meaney MJ. 1997. Maternal care, hippocampal glucocorticoid receptors, and hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. *Science* 277: 1659-1661.

Lovic V, Gonzalez A y Fleming AS. 2001. Maternally separated rats show deficits in maternal care in adulthood. *Develop Psychobiol* 39: 19-33.

Maccari S, Darnaudery M, Morley-Fletcher S, Zuena AR, Cinque C y Van Reeth O. 2003. Prenatal stress and long-term consequences: implications of glucocorticoids hormones. *Neurosci Biobehav Rev* 27: 119-127.

Mann PE y Bridges RS. 2001. Lactogenic hormone regulation of maternal behavior. *Prog Brain Res* 133: 251-262.

Martínez-Gómez M, Cruz Y, Lucio RA y Hudson R. 2002. Conducta maternal. En: Escobar C y Aguilar R A (eds). *Motivación y Conducta: sus bases biológicas*, pp 299-317. Manual Moderno, México.

Mayer AD y Rosenblatt JS. 1979. Hormonal influences during the ontogeny of maternal behavior in female rats. *J Com Physiol Psychol* 93: 879-898.

Mayer AD y Rosenblatt JS. 1987. Hormonal factors influence the onset of maternal aggression in laboratory rats. *Horm Behav* 21: 253-267.

Meaney MJ. 2001. Maternal care, gene expression, and the transmission of individual differences in stress reactivity across generations. *Ann Rev Neurosci* 24: 1161-1192.

Melo A. 1999. Participación del contacto madre-críos, el estímulo de la succión y la prolactina en el establecimiento y mantenimiento de la conducta maternal en la coneja Nueva Zelanda blanca. Tesis de Doctorado en Biología de la Reproducción. Universidad Autónoma de Tlaxcala.

Miceli MO, Fleming AS y Malsbury CW. 1983. Disruption of maternal behaviour in virgin and postparturient rats following sagittal plane knife cuts in the preoptic area-hypothalamus. *Behav Brain Res* 3: 337-360.

Moore CL y Power KL. 1992a. Variation in maternal care and individual differences in play, exploration, and grooming of juvenile Norway rat offspring. *Develop Psychobiol* 25: 165-182.

Moore CL. 1992b. The role of maternal stimulation in the development of sexual behavior and its neural basis. *Ann NY Acad Sci* 662: 160-177.

Moore CL, Wong L, Daum MC y Leclair OU. 1997. Mother-infant interactions in two strains of rats: implications for dissociating mechanism and function of a maternal pattern. *Develop Psychobiol* 30: 301-312.

Moore CL. 1981. An olfactory basis for maternal discrimination of sex of offspring in rats (*Rattus norvegicus*). *Anim Behav* 29: 383-386.

Moyaho A, Eguibar J R y Diaz JL. 1995. Induced grooming transitions and open field behavior differ in high- and low-yawning sublines of Sprague-Dawley rats. *Anim Behav* 50: 61-72.

Numan M, Rosenblatt JS y Komisaruk BR. 1977. Medial preoptic area and onset of maternal behavior in the rat. *J Comp Physiol Psychol* 91: 146-164.

Numan M y Callahan EC. 1980. The connections of the medial preoptic region and maternal behavior in the rat. *Physiol Behav* 25: 653-665.

Numan M. 1988. Neural basis of maternal behavior in the rat. *Neuropsychoneuroendocrinology* 13: 47-61.

Numan M. 1994. A neural circuitry analysis of maternal behavior in the rat. *Acta Pediat Supp* 397: 19-28.

Numan M y Sheehan TP. 1997. Neuroanatomical circuitry for mammalian maternal behavior. *Ann NY Acad Sci* 101-125.

Numan M, Roach JK, Del Cerro MCR, Guillamon A, Segovia S, Sheehan T y Numan MJ. 1999. Expression of intracellular progesterone receptors in rat brain different reproductive states, and involvement in maternal behavior. *Brain Res* 830: 358-371.

Ohta R, Shiota M, Tohei A y Taya K. 2002. Maternal behavior, milk ejection, and plasma hormones in Hatano high - and low -avoidance rats. *Horm Behav* 42: 116-125.

Oxley G, Barton S y Fleming AS. 2000. The effects of medial preoptic area and amygdala lesions on maternal behavior in the juvenile rat. *Develop Psychobiol* 37: 253-265.

Plomin R. 1990. The role of inheritance in behavior. *Science* 248: 183-187.

Poindron P. 2001. El control fisiológico de la conducta maternal al momento del parto en ovinos y caprinos. In: UAM (ed). *Biología de la reproducción II*, pp 301-323. México, D.F.

Retana MS. 2001. Estrés y reproducción. En: *Biología de la reproducción II*. UAM (ed). México, D.F. pp 93-120.

Romero Carbente J. 2002. Análisis de la conducta sexual masculina en las sublíneas de ratas de alto y bajo bostezo de la cepa Sprague-Dawley. Tesis de Maestría en Neuroetología. Universidad Veracruzana.

Rosenblatt JS y Lehrman DS. 1963. Maternal behavior of the laboratory rat. En: *Maternal Behavior in Mammals*. Rheingold HL (ed). New York. EU. pp 8-57.

Rosenblatt JS, Siegel HI y Mayer AD. 1979. Progress in the study of maternal behavior in the rat: hormonal, nonhormonal, sensory and developmental aspects. *Advanc Study Behav* 10: 225-311.

Rosenblatt JS, Mayer AD y Siegel HI. 1985. Maternal behavior among the nonprimate mammals. En: *Handbook of behavioral neurobiology*. Adler N, Pfaff DW y Goy RW (eds), Editorial. Plenum Press, New York. EU. pp 229-298.

Rovirosa MJ. 1997. Estudio del lamido anogenital durante la lactancia en ratas de la cepa Wistar. Tesis de Maestría en Neuroetología. Universidad Veracruzana.

Salas M, Torrero C y Pulido S. 1984. Long-term alterations in the maternal behavior of neonatally undernourished rats. *Physiol Behav* 33: 273-278

Salas M, Torrero C, Regalado M y Perez E. 2002. Retrieving of pups by neonatally stressed mothers. *Nutrit Neurosci* 5: 399-405.

Schindler CW y Carmona GN. 2002. Effects of dopamine agonists and antagonists on locomotor activity in male and female rats. *Pharmacol Biochem Behav* 72: 857-863.

Schrijver NCA, Bahr NI, Weiss IC y Würbel H. 2002. Dissociable effects of isolation rearing and environmental enrichment on exploration, spatial learning and HPA activity in adult rats. *Pharmacol Biochem Behav* 73: 209-224.

Sheehan T, Paul M, Amaral E, Numan MJ y Numan M. 2001. Evidence that the medial amygdala projects to the anterior/ventromedial hypothalamic nuclei to inhibit maternal behavior in rats. *Neuroscience* 106: 341-356.

Silva MRP, Bernardi MM y Felicio LF. 2001. Effects of dopamine receptor antagonist on ongoing maternal behavior in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 68: 461-468.

Steimer T, la Fleur S y Schulz PE. 1997. Neuroendocrine correlates of emotional reactivity and coping in male rats from the Roman high (RHA/Verh)-and low /RLA/ver)-avoidance lines. *Behav Genet* 27: 503-512.

Toríz-González CG. 2006. Alteraciones en el desempeño sexual de la rata macho HY: participación del cuidado materno. Tesis de Maestría en Ciencias Fisiológicas. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Tucker HA. 1988. Lactation and its hormonal control. En: *The Physiology of reproduction*. Knobil E y Neill J (eds). Editorial Raven Press., New York. EU. pp 2235-2263.

Urbá-Holmgren R, Trucios N, Holmgren B, Eguibar JR, Gavito A, Cruz G y Santos A. 1990. Genotypic dependency of spontaneous yawning frequency in the rat. *Behav Brain Res* 40: 29-35.

Urbá-Holmgren R, Santos A, Holmgren B y Eguibar JR. 1993. Two inbred rat sublimes that differ in spontaneous yawning behavior also differ in their responses to cholinergic and dopaminergic drugs. *Behav Brain Res* 56: 155-159.

Wigger A, Loerscher P, Weissenbacher P, Holsboer F y Landgraf R. 2001. Cross fostering and cross-breeding of HAB and LAB rats: A genetic rat model of anxiety. *Behav Genet* 31: 371-382.