

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**EFFECTO DE LA SEPARACIÓN MATERNAL Y SOCIAL DE
LOS HERMANOS DE CAMADA SOBRE EL DESARROLLO
DE LA AGRESIÓN EN LA RATA HEMBRA ADULTA**

T E S I S

**PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**PRESENTA:
PSICÓLOGA MYRNA HERNÁNDEZ CURIEL**

**COMITÉ TUTORAL:
DR. ANGEL I. MELO
DR. KURT L. HOFFMAN
DR. AMANDO BAUTISTA
DRA. LETICIA NICOLÁS**

Tlaxcala, Tlax.

FEBRERO 2008

Esta investigación se llevo a cabo dentro del programa de Maestría en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Tlaxcala. Dicho programa se imparte en las instalaciones del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta y se encuentra registrado en el Padrón del Programa para el Fortalecimiento del Posgrado (PNP) de SEP-CONACyT.

La tesis fue realizada bajo la tutoría y dirección de los Drs. Angel I. Melo Salazar y Kurt L. Hoffman. El trabajo experimental se desarrolló en las instalaciones del Centro de Investigación en Reproducción Animal (CIRA) CINVESTAV-Universidad Autónoma de Tlaxcala, ubicado en Ixtacuixtla, Tlaxcala.

El proyecto fue parcialmente financiado por CONACYT:SEP-2003-CO2-43793. El autor de la presente tesis recibió beca de maestría del CONACYT, con número de registro 188576. El anestésico (Halotano) utilizado para en la realización del proyecto fue una donación de Representaciones e Investigaciones Medicas S.A. de C.V. (RIMSA).

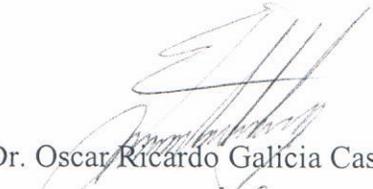
**COORDINACIÓN DE LA MAESTRÍA
CENTRO TLAXCALA DE BIOLOGÍA DE LA CONDUCTA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA
P R E S E N T E**

Los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del proyecto de tesis que la **Psic. Myrna Hernández Curiel** realiza para la obtención del grado de Maestra 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: **“Efecto de la separación maternal y social de los hermanos de camada sobre el desarrollo de la agresión en la rata hembra adulta”**.

Sin otro particular, aprovechamos para enviarle un cordial saludo.

Atentamente

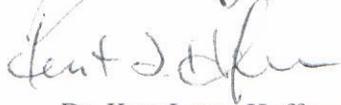
Tlaxcala, Tlax., febrero 13 de 2008



Dr. Oscar Ricardo Galicia Castillo



Dr. Angel Ismael Melo Salazar



Dr. Kurt Leroy Hoffman



Dr. Amando Bautista Ortega



Dra. Leticia Nicolás Toledo

AGRADECIMIENTOS

A mis codirectores de tesis, Dr. Angel I. Melo y Dr. Kurt L. Hoffman, por toda la confianza y paciencia para que este proyecto se realizara.

Al Dr. Carlos Beyer y la Dra. Gabriela González-Mariscal, por el apoyo para realizar el trabajo experimental.

A la coordinadora de la maestría, Dra. Margarita Gómez, por darme la oportunidad de formar parte de este programa.

A mis tutores, Dr. Amando Bautista y Dra. Leticia Nicolás, por su revisión y sugerencias para la mejoría de esta tesis.

A mis compañeros del CIRA por la convivencia diaria, y compartirme de su experiencia y conocimiento.

A los *gazapos*: Germán, Isela, José Luis "Tlachi", Martha, Víctor, Marisol y Jorge, por acompañarme en este proceso de crecimiento profesional.

A mis amigos que en todo momento me apoyaron para que esta tesis se concluyera, en especial a Antonio y Arturo por su compañía en las noches de trabajo en casa y en el laboratorio, a Paco por su talento para la fotografía y a Javi por su apoyo con las impresiones.

GRACIAS.

Esta tesis esta dedicada a mi familia por su apoyo incondicional para toda tarea que emprendo.

En especial a mi madre que es un ejemplo de fortaleza, integridad y crecimiento constante.

RESUMEN

En los mamíferos, la experiencia en el nido, a través del cuidado maternal y la interacción social entre los hermanos, durante el período postnatal es crítica para el desarrollo posterior de diversos sistemas fisiológicos, endocrinos y conductuales. A través de tales interacciones las crías obtienen alimento, calor, protección y estímulos sociales necesarios para su desarrollo. De tal forma que, el incremento o la privación de estímulos sensoriales (táctiles, odoríferos y sociales), mediante diversos paradigmas de experimentación modifican positiva o negativamente el desarrollo de los sistemas antes mencionados.

De manera particular, en la rata adulta, la separación maternal durante la crianza causa déficit de atención, hiperactividad, dificultades en el aprendizaje social, hiperresponsividad del sistema de respuesta al estrés y descuido maternal. Por otro lado, entre los sistemas conductuales que han sido poco estudiados, y son de suma importancia para la interacción social, esta la agresión. En el ratón, el destete prematuro incrementa la agresión en la etapa adulta, aunque estos resultados también han sido atribuidos a la desnutrición. En cambio, en la rata no existen estudios respecto al papel del cuidado maternal y de los hermanos de camada durante el periodo postnatal en la expresión de la agresión.

Con el fin de evaluar la posibilidad de que el cuidado maternal y la interacción con los hermanos en la etapa postnatal este participando en el desarrollo de la agresión, en el presente trabajo se removieron del nido dos crías hembras desde el día tres postnatal y crecieron dentro de un sistema de crianza artificial hasta el día postnatal 20. Una de las crías se mantuvo completamente aislada dentro de un recipiente (CA-Aislada) y la otra permaneció dentro del recipiente junto a dos crías provenientes de una madre donadora (CA-Social). Además, otras dos hembras fueron criadas con su madre (CM-Ciego y CM-Control). En la etapa adulta todas las hembras fueron expuestas a una prueba de agresión, denominada residente-intruso, antes de ser apareadas (prueba de agresión territorial) y en el día cinco de lactancia (prueba de agresión maternal).

Los resultados mostraron que, en la prueba de agresión territorial la latencia del grupo

ÍNDICE

	Pág.
RESUMEN.....	i
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Experiencia social y desarrollo de conductas sociales.....	1
1.1.1 Modelos de separación maternal.....	2
1.2 Agresión.....	3
1.2.1 Factores biológicos reguladores.....	5
1.2.1.1 Genes.....	5
1.2.1.2 Hormonas.....	6
1.2.1.3 Bases neurrológicas.....	8
1.2.1.4 Control neuroquímico.....	10
1.2.2 Factores ambientales.....	11
2. ANTECEDENTES.....	13
3. JUSTIFICACIÓN.....	17
4. HIPÓTESIS.....	19
4.1 Predicciones.....	19
5. OBJETIVO.....	19
6. METODOLOGÍA.....	21
6.1 Animales.....	21
6.2 Procedimiento general.....	21
6.3 Gastrostomía.....	22
6.4 Crianza artificial.....	24
6.5 Registro de agresión.....	26
6.5.1 Conductas de agresivas de la hembra residente.....	27
6.5.2 Conductas de la hembra intrusa.....	27
6.5.3 Conductas sociales de la hembra residente.....	27
6.6 Protocolo experimental.....	29

6.7 Análisis estadístico	29
7. RESULTADOS.....	31
7.1 Peso corporal.....	31
7.2 Agresión territorial.....	33
7.3 Agresión maternal.....	34
7.4 Conductas sociales.....	38
7.5 Comparación entre las pruebas de agresión territorial y maternal.....	40
8. DISCUSIÓN.....	44
8.1 Peso corporal.....	44
8.2 Agresión territorial.....	44
8.3 Agresión maternal.....	45
8.4 Conductas sociales.....	47
8.5 Comparación entre pruebas de agresión territorial y maternal.....	48
9. CONCLUSIÓN.....	52
10. PERSPECTIVAS.....	53
11. REFERENCIAS.....	54
12. ANEXO.....	62
13. PUBLICACIONES.....	63
A. Congresos nacionales.....	63
B. Congresos internacionales.....	67

1. INTRODUCCIÓN.

La interacción social entre los individuos que viven en comunidad es importante para su subsistencia y perpetuación. Esa interacción requiere de conductas afiliativas y agonistas. Las primeras se refieren a conductas de acercamiento, conducta sexual, conducta maternal, establecimiento de uniones selectivas, entre otras. Las segundas incluyen a las conductas de evasión, amenaza, competencia y agresión. Así, la adecuada interrelación entre los miembros de una sociedad depende principalmente del balance de dichas conductas durante la interacción social.

El presente proyecto trata del efecto a largo plazo de las primeras interacciones sociales en el establecimiento de la conducta social en la etapa adulta. De manera específica, nos limitaremos al estudio de la agresión. Utilizando para este fin el modelo de agresión entre hembras en dos etapas del desarrollo distintas: siendo vírgenes y madres. Las razones para la elección del modelo se explican en la justificación.

Esta introducción ha sido dividida en dos partes para un mejor entendimiento del trabajo. La primera se remite a los conceptos de experiencia temprana, dónde se intenta explicar la importancia de este periodo así como su repercusión en estadios posteriores del desarrollo. Además, se mencionan los procedimientos comúnmente utilizados para su estudio en animales, así como algunas de sus aplicaciones. En la segunda se aborda el tema de agresión en hembras. De manera general se mencionan los factores biológicos que participan en su expresión, debido a que el objetivo del proyecto no es realizar un estudio fisiológico sino conductual.

1.1 EXPERIENCIA SOCIAL Y DESARROLLO DE CONDUCTAS SOCIALES.

La base para las primeras relaciones sociales se establece durante el periodo postnatal y recientemente se ha propuesto que también el ambiente intrauterino tiene un papel importante en la conducta del individuo adulto. Desde los años 50's, se ha venido mostrando que los estímulos sensoriales provenientes del cuidado maternal y los compañeros de camada, durante el período postnatal son esenciales para el desarrollo de diversos sistemas fisiológicos, neuroquímicos, neuroendocrinos, cognitivos y conductuales del individuo (Beach y Jaynes 1954, Levine y cols. 1967, Hofer 1994, Fleming y cols. 1999, Lehmann y Feldon 2000). Así,

se ha reportado que ratas cuyas madres sufrieron estrés durante la lactancia o que fueron separadas de su madre durante el periodo postnatal, manifiestan alteraciones conductuales y fisiológicas del sistema que regula el estrés (Fleming y cols. 2002), de la expresión fina de la conducta maternal (Gonzalez y cols. 2001), de los procesos de atención (Lovic y Fleming, 2004) y del aprendizaje social (Melo y cols. 2006).

La investigación con animales ha revelado una serie de experiencias denominadas relaciones sociales tempranas que vinculan estrechamente procesos biológicos y conductuales. Así en animales, la interacción entre los padres e hijos (basada en el contacto sensorial y la motricidad, así como la regulación térmica y nutricional) tienen un efecto amplio e inesperado sobre la conducta y fisiología de la cría (Hofer 1994). En el desarrollo humano, de manera similar como ocurre en algunos mamíferos, la regulación de estas interacciones tempranas puede proveer un vínculo entre los procesos biológicos y la conducta, y a vez repercutir en el desarrollo psicológico.

1.1.1 MODELOS DE SEPARACIÓN MATERNAL.

La madre a través de sus cuidados (protección, calor, alimento, estimulación táctil) y la interacción con sus compañeros de camada, proveen a la cría de las bases necesarias para el establecimiento de las relaciones sociales en la etapa adulta. Por ejemplo, un efecto del aislamiento social a temprana edad en la rata, es el aumento en la emisión de vocalizaciones ultrasónicas de crías neonatas expuestas ante un ambiente novedoso y sin compañía. La adición de un crío revierte tal efecto, aun cuando el acompañante se encuentre anestesiado. Contrario a esto, las vocalizaciones de un crío neonato en compañía de un objeto inanimado (pieza térmica y rugosa de plástico) no disminuyen (Carden y Hofer 1992).

Dada la importancia de lo anterior, para estudiar el efecto de la experiencia temprana en el desarrollo se han utilizado modelos de separación maternal y social. Este rubro engloba una diversidad de procedimientos experimentales tales como el *handling* (retirar al crío del nido por periodos cortos), la separación maternal parcial y la total.

De entrada tenemos el paradigma conocido como *handling*. Consiste en retirar a una cría del nido maternal durante 5 a 15 minutos. Después se regresa y puede observarse un incremento en los cuidados maternales hacia la cría reincorporada (Levine y cols. 1956 citado

en Lehmann y Feldon 2000). Utilizando este modelo experimental se encontró en ratas que de crías fueron retiradas de su nido por periodos cortos, de adultas presentaron mayor frecuencia de agresión maternal e inmovilidad, así como una reducción en la actividad locomotora y conducta sexual que las no manipuladas (Padoin y cols. 2001, Giovenardi y cols. 2005).

El segundo modelo, denominado separación maternal parcial fue introducido a mediados de 1970. Abarca varias modalidades, desde la separación de la madre por una hora hasta las veinticuatro, ya sea una sola vez o continuamente durante la crianza (Lehmann y Feldon 2000). Los efectos de este procedimiento son contrarios al anterior. Mediante la separación maternal parcial (hasta 24 horas) se ha mostrado que la crianza de monos en aislamiento afecta el desarrollo biológico (Reite y Short 1977). Incluso, en ratas, se ha encontrado una disminución en el volumen de la corteza prefrontal (Day-Wilson y cols. 2006), área que interviene en la expresión de conductas sociales.

El tercer modelo se refiere a la separación maternal total. Dentro de éste se encuentra el sistema de crianza artificial, dicho procedimiento consiste en retirar en definitiva a la cría del nido maternal durante el periodo de crianza (Hall 1975). Este método, al igual que los modelos de separación maternal anteriores, ha aportado información útil sobre el desarrollo de las relaciones sociales. Por ejemplo, ratas hembras juveniles y adultas que estuvieron en contacto permanente con su madre y hermanos durante todo el periodo de crianza, tienden a mostrar conductas maternas con mayor facilidad (aun sin ser lactantes) al ser expuestas a crías recién nacidas (sensibilización), en comparación con hembras que no tuvieron contacto con la madre y hermanos durante la crianza (Gray y Chesley 1984).

Finalmente, es importante mencionar que los efectos de la separación maternal y social dependen tanto de la conducta objetivo, así como del periodo de desarrollo en que se haga el análisis. Además, tales efectos pueden revertirse o bien modificarse por diversos factores como son la carga genética, los estímulos ambientales y las interacciones sociales posteriores.

1.2 AGRESIÓN.

La dificultad para definir la conducta agresiva ha sido uno de los principales obstáculos para su estudio. Han sido múltiples las propuestas al respecto, por ello resulta conveniente mencionar para este estudio a qué nos referimos con agresión. Es la conducta realizada por

una rata hembra y dirigida hacia otra de peso y edad similar, con la finalidad de defender un territorio y/o a su camada.

La agresión es una conducta multifactorial. Es decir, su ejecución depende del contexto en que se encuentra el individuo. Así, la agresión puede efectuarse con la finalidad de preservar o conseguir satisfactores. Por ejemplo, un territorio con los recursos necesarios para la subsistencia, un compañero para reproducirse, una presa para alimentarse, en defensa de las crías o el establecimiento de jerarquías dentro de la colonia (Johnsgard 1967, Alock 1989, Manning y Stamp 1992, Ferreira y Picazo 2002).

En condiciones naturales resulta complicado hacer una delimitación exacta de las conductas agresivas de acuerdo a la situación en la que se presentan. Debido a ello, la mayoría de las investigaciones realizadas en condiciones naturales consideran a la agresión territorial como su objeto de estudio. Por otro lado, en condiciones de laboratorio la diferenciación se facilita y permite hacer algunas comparaciones a otras especies, como los humanos (Ferguson 2000).

La agresión ha sido comúnmente asociada con el sexo masculino, aunque no exclusiva de ese género. En mamíferos, se ha reportado que las hembras suelen expresar agresión, si bien en menor intensidad y frecuencia que los machos (Stockman 1982, Parmigiani y cols. 1999, Simon 2002, Razzoli y cols. 2003). Así, la agresión por parte de las hembras se manifiesta ante la invasión del territorio que habita (agresión territorial), en particular si son madres (agresión maternal). Tal es el caso de hembras hámster (Takahashi 1990) y hienas (Monaghan y Glickman 1993) donde la agresión es mayor que la de los machos, incluso sin ser madres.

Tenemos entonces que, la **agresión territorial** la realiza un animal en defensa del territorio en el que se ha establecido ante la presencia de un intruso. A diferencia de la anterior, la **agresión maternal** es la conducta manifestada por hembras lactantes en defensa de las crías ante la amenaza de una hembra o macho ajeno a la madre (Moyer 1968).

Los encuentros agonistas tienen componentes conductuales de ataque y defensa por parte de los participantes. Estas conductas se diferencian unas de otras con base en las limitaciones para atacar, de los que interactúan (Blanchard y cols. 1977). Así, la distribución de mordidas del atacante sobre el cuerpo del intruso está parcialmente determinada por la

posibilidad de escape del último (Mos y cols. 1984). Las estrategias agresivas de defensa y ataque desplegadas en cada encuentro agresivo son moldeadas por los contrincantes.

La agresión, al igual que las demás conductas sociales, se regula por diversos factores, tales como componentes biológicos, ambientales y experiencias sociales en el entorno familiar o nido. (Marler y Hamilton 1966, Day y cols. 1982, Manning y Stamp 1992, Lucion y cols. 1994, Ferreira y Picazo 2002, Nakamura y cols. 2003). Dichos factores pueden actuar predisponiendo al individuo a mostrar el comportamiento agresivo, o bien, influyendo para determinar el momento en el cuál ocurrirá.

1.2.1 FACTORES BIOLÓGICOS REGULADORES.

En un principio, la agresión se consideró una conducta en su totalidad instintiva. Sin embargo, la agresión no está exclusivamente controlada por un mecanismo. Ahora se propone que la expresión final de dicha conducta depende, de agentes genéticos y fluctuaciones hormonales asociadas al sexo y la edad. Además, se han descrito rutas neuroquímicas que se activan durante la ejecución de conductas agresivas. También, se han identificado áreas neuronales necesarias para manifestar la agresión.

1.2.1.1 Genes.

El debate sobre la naturaleza innata o aprendida de la agresión ha permanecido vigente por décadas. Se ha argumentado que existe cierta predisposición genética a mostrar mayor agresión. En ratones, ciertas líneas genéticas que muestran altos niveles de ataque entre machos, en hembras ocurren con mayor frecuencia el infanticidio (agresión hacia sus propias crías), ataques entre hembras y la agresión maternal (agresión en defensa de sus crías) (Parmigiani y cols. 1999).

La selección artificial de líneas genéticas ha derivado en diferencias en los mecanismos que modulan los niveles de agresión y ansiedad. Es decir, la alteración genética durante el desarrollo del sistema nervioso produce modificaciones en la conducta agresiva afectando con esto su función biológica (Parmigiani y cols. 1999). Por ejemplo, la ausencia del gen Pet-1, involucrado en la diferenciación de neuronas serotoninérgicas durante el desarrollo neuronal, ocasiona mayor agresión en ratones adultos (Hendricks y cols. 2003).

1.2.1.2 Hormonas.

Las hormonas regulan la conducta agresiva en diferentes formas. Pueden actuar de manera indirecta alterando factores que estimulan la agresión. Tal es el caso de ratas hembras adultas tratadas crónicamente con testosterona, lo cual altera la emisión de feromonas en las hembras y ocasiona respuestas violentas de los machos a los que fueron enfrentadas (Monaghan y Glickman 1993).

De manera directa, las hormonas gonadales (estrógenos, progesterona y testosterona) son las principales involucradas en la conducta agresiva de las hembras. Algunos autores han reportado que la agresión entre hembras es influenciada por el ciclo estral. Así, ratas no gestantes y no lactantes suelen presentar la conducta agonista de forma notable cuando están en la etapa no receptiva, aún en encuentros con otras hembras (Takahashi 1990, Ho y cols. 2001, Melchior y cols. 2004). Además, se ha sugerido que la base hormonal para mostrar agresión en hembras no gestantes y no lactantes puede ser similar a la de los machos, en el establecimiento de jerarquías.

En cuanto a la agresión maternal, en la rata, se inicia en el día 16 de gestación, se incrementa gradualmente hasta el día 19 y alcanza un nivel más alto en el día 21. A partir de ese momento (post-parto), se mantiene elevada durante las próximas dos semanas y disminuye gradualmente hasta el destete (Erskine y cols. 1978, figura 1).

La agresión maternal también puede ser expresada por hembras no gestantes. Para esto, se induce la conducta maternal mediante la exposición continua a crías de otra hembra, proceso conocido como “sensibilización” (Ferreira y cols. 2002). De manera similar, hembras vírgenes ovariectomizadas tratadas con estrógenos y progesterona (hormonas de la gestación) pueden ser agresivas, incluso con mayor intensidad que las hembras “sensibilizadas” (Mayer y cols. 1990a, Mayer y cols. 1990b, Mayer y Rosenblatt 1993, Ferreira y cols. 2002, Ferreira y Picazo 2002).

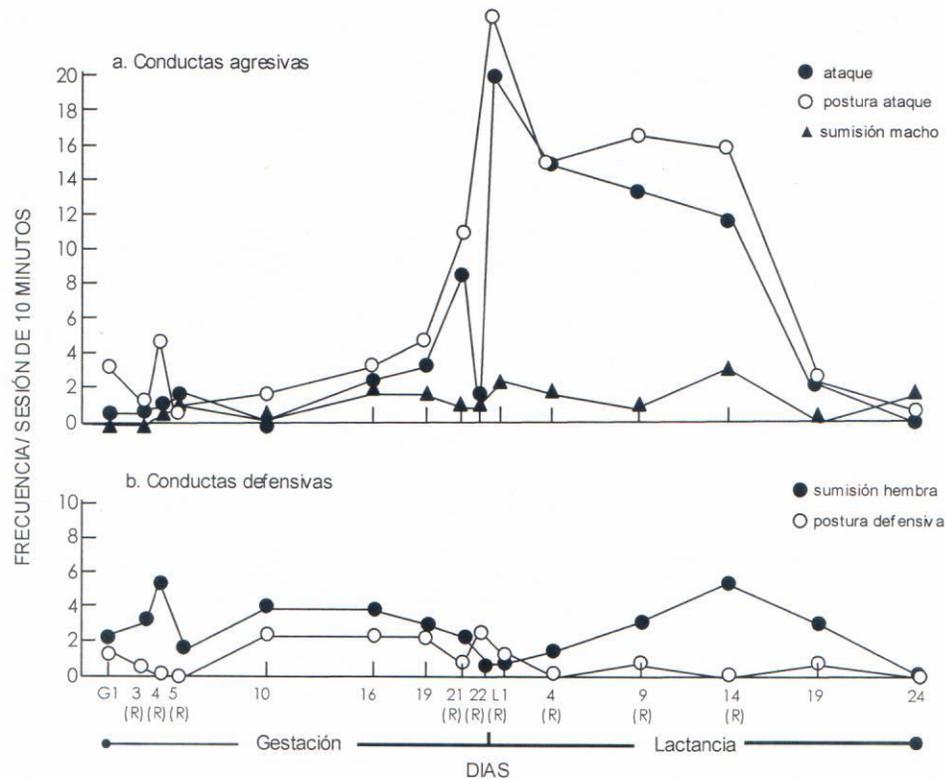


Figura 1. Frecuencia de (a) conductas agonistas y (b) defensivas de ratas hembra hacia un intruso en función del día de gestación o lactancia. Note como se incrementan las conductas agresivas días antes del parto y se mantienen elevadas las primeras dos semanas de lactancia, cuando las crías son más vulnerables (Modificado de Mayer y cols. 1987).

En general se afirma que la administración de hormonas de la gestación como estrógenos y progestágenos, en dosis y secuencias similares a las registradas durante la gestación y el parto, influyen en la inducción de la agresión en ratas (Mayer y Rosenblatt 1987) y ratones sensibilizados (Svare y Gandelman 1976 citado en Gandelman y Simon 1980, McDermott y Gandelman 1979). Este tratamiento hormonal provoca agresión en las ratas inclusive antes de que se comporten maternas, aunque la agresión aumenta cuando las hembras desarrollan conductas de cuidado de las crías (Mayer y cols. 1990b, figura 2).

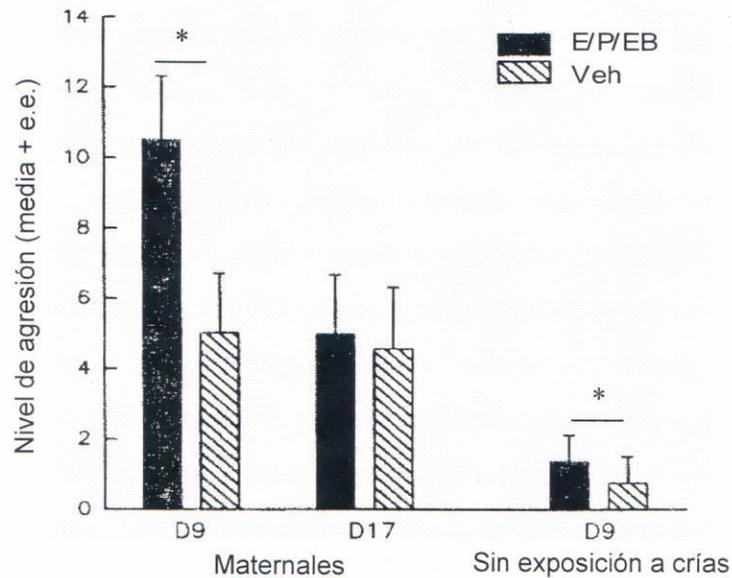


Figura 2. Comportamiento agresivo de hembras no gestantes tratadas con hormonas de la gestación (**E**strogeno/**P**rogesterona/**E**stradiol**B**enzoato) y controles (*Veh*). Nótese como aquellas que expresaron conductas maternas mostraron más agresión (Modificado de Mayer y Rosenblatt 1993).

1.2.1.3 Bases neurológicas.

En este punto es necesario mencionar que aunque los sustratos nerviosos sean similares entre mamíferos, existen aspectos concretos de las vías que regulan la conducta agonista en cada especie. De manera general, se han identificado algunas estructuras que participan en la conducta agresiva, tales como el hipotálamo, el mesencéfalo, la amígdala, la corteza cerebral, así como estructuras cerebrales en las madres que reciben o transmiten información relacionada a la estimulación proveniente de los crías durante la etapa de crianza (Lonstein y Gammie 2002, Halasz y cols. 2002 citado en Moya-Albiol 2004, Foroud y cols. 2004, Hasen y Gammie 2006).

El hipotálamo desempeña un papel fundamental. Contiene sistemas que facilitan e inhiben la conducta agresiva. Recientemente se reportó que en ratones agresivos incrementa la actividad neuronal, en regiones como núcleo paraventricular del hipotálamo (Hasen y Gammie

2006). Además, se sabe que las lesiones que anulan la comunicación nerviosa entre el mesencéfalo y el hipotálamo eliminan la conducta agresiva controlada por el hipotálamo. En cambio, cuando la lesión es directa al hipotálamo la conducta no desaparece, pero cambia la intensidad o la eventualidad con la que ocurra (Halasz y cols. 2002 citado en Moya-Albiol 2004).

Con respecto al mesencéfalo, los estudios de lesión o de estimulación cerebral (eléctrica y/o química) en gatos y roedores han puesto de manifiesto que el área tegmental ventral regula la conducta ofensiva, mientras que las neuronas dorsales de la sustancia gris periacueductal controlan la conducta defensiva y las ventrales la predatoria (Moya-Albiol 2004).

De manera similar a lo que ocurre con el hipotálamo, se ha reportado que la actividad en la amígdala media, central y basolateral aumenta en ratones agresivos (Hansen y Gammie 2006). A saber, la actividad de la amígdala basolateral (núcleos lateral, basolateral y basal) estimula el ataque defensivo, sin afectar la predación. Mientras que la estimulación de la amígdala corticomedia (núcleos central y medial) facilita el ataque defensivo e inhibe la predación (Moya-Albiol 2004). La actividad de otras estructuras subcorticales como el hipocampo y la estimulación de los núcleos dorsomedial y paraventricular del tálamo provocan agresión, mientras la lesión del tálamo ventral la inhibe (Renfrew 2001).

La corteza cerebral controla la conducta agresiva mediante la regulación de los sistemas sensoriomotores necesarios para la ejecución de dicha conducta. Se ha reportado que sin la corteza prefrontal la regulación del juego lucha realizado por púberes sería imposible (Foroud y cols. 2004). Resulta contradictorio que algunos estudios en ratas han mostrado que tras la decortificación completa se conserva la mayor parte de los elementos conductuales relacionados con la locomoción, el cuidado corporal, la alimentación y la agresión (Moya-Albiol 2004).

En la rata, se ha reportado que cuando son lesionadas las áreas cerebrales que reciben o transmiten información relacionada a los estímulos provenientes de los crías se interrumpe la agresión maternal (Lonstein y Gammie 2002). Por ejemplo, lesiones en el tálamo medio dorsal o en la corteza insular prefrontal (que procesan información olfativa) disminuyen la conducta agresiva, lo anterior debido a la imposibilidad de los animales para discernir olores después de

la lesión (Lonstein y Gammie 2002). Además, otros estudios sugieren que la extirpación del bulbo olfativo en ratones elimina la agresión entre machos (Moya-Albiol 2004).

1.2.1.4 Control neuroquímico.

Se sabe que diversos neurotransmisores (NT) están involucrados en la regulación de conductas sociales, tales como la agresión. Algunos de estos NT son la serotonina (5-HT), el ácido gama aminobutírico (GABA), la oxitocina (OT), el óxido nítrico (ON) y la corticosterona, entre otros.

Estudios acerca del control neuroquímico de la agresión en vertebrados, incluidos los humanos, indican que el sistema serotoninérgico se activa durante las peleas. En ratas, resulta interesante que, si bien la actividad serotoninérgica en el núcleo rafe ocurre durante las peleas, esta actividad no es específica de tal evento. Una activación similar ocurre en otros contactos sociales. Por tanto, la activación de este núcleo se relaciona más con el establecimiento de contacto social, que solo con la ejecución de conductas agresivas (Haller y cols. 2005).

En cuanto a su participación en la agresión en hembras lactantes la relación no es del todo clara. Mientras que inyecciones del precursor de serotonina (5-hydroxytryptofano) reduce los ataques en ratones lactantes, inyecciones de un inhibidor de la síntesis de 5-HT también reduce los ataques (Ieni y Thurmond 1985 citado en Lonstein y Gammie 2002).

Otro sistema involucrado es el gabaérgico. Éste, en conjunto con otros aminoácidos y péptidos, ha sido vinculado con la agresión instrumental. Aunque la estimulación directa de los receptores a GABA generalmente suprime la agresión, numerosos estudios muestran que moduladores positivos de receptores GABA_A pueden incrementar la conducta agresiva (alcohol, benzodiazepinas y otros neuroesteroides son moduladores positivos de receptores GABA_A). Estos efectos son dependientes de la dosis, es decir, dosis altas reducen los niveles de agresión incluso hasta un efecto sedante (Miczek y cols. 2003). En ratas lactantes la infusión del antagonista al receptor GABA_A (biculine) dentro del hipotálamo ventromedial o en la amígdala media disminuye los ataques hacia un extraño (Hansel y Ferreira 1986 citado en Lonstein y Gammie 2002).

En cuanto al sistema oxitocinérgico, su relación con la conducta agresiva al final de la gestación y después del parto no es muy clara. Se ha demostrado, en el hámster dorado, que la

administración de OT en el núcleo central de la amígdala (NCA) incrementa la agresión maternal (Ferris y cols. 1992 citado en Lonstein y Gammie 2002). Contrario a este reporte, la disminución de la actividad oxitocinérgica en dicho núcleo, mediante la administración de un antagonista a OT, aumenta la agresión maternal en ratas (Lubin y cols. 2003).

Otros autores han encontrado que la disminución de la síntesis de OT en el núcleo paraventricular del hipotálamo (NPV) aumenta la agresión en hembras lactando (Giovenardi y cols. 1997). De manera similar, datos recientes, demostraron una correlación positiva entre la activación de la ruta de la OT y niveles altos de ansiedad (incremento de la actividad en el NPV y en el NCA) y que a su vez mostraron menor agresión maternal que aquellas ratas con niveles bajos de ansiedad (Bosch y cols. 2005).

El ON es un neuromodulador gaseoso que puede incrementar o disminuir la excitabilidad de células blanco y desencadenar cambios en la expresión genética. Así, en prairie voles se sabe que la inhibición farmacológica de la síntesis de ON disminuye la agresión maternal (Gammie y cols. 2000 citado en Lonstein y Gammie 2002).

Por último, sabemos que las interacciones agresivas son estresantes (situación que pone en riesgo su integridad física), tanto para el animal dominante como para el subordinado (Summers y Winberg 2006). Además el circuito neuronal para la agresión y el estrés en muchas ocasiones se sobrepone. Así, la corticosterona ha sido involucrada en la regulación de la conducta agresiva al igual que del estrés. En ratas machos, la administración ventricular de la hormona liberadora de corticotropina (CRH) incrementa la agresión inducida por estrés, mientras que un antagonista a CRH la disminuye (Tazi y cols. 1987 citado en Lonstein y Gammie 2002).

1.2.2 FACTORES AMBIENTALES.

La predisposición genética de la que se habló en el apartado anterior, puede verse acentuada por el ambiente y modificar la conducta final. Así, ratas hijas de padres agresivos criadas desde el nacimiento por madres adoptivas no agresivas, a los 30 días de edad carecen de reacciones letales hacia ratones, en contraste con las que fueron criadas por madres agresivas que si presentan tal reacción (Flandera y Nováková 1974).

En lo que se refiere a la interacción con las crías, sabemos que esta resulta indispensable para que se presente la conducta agresiva en las hembras lactantes (Erskine y cols. 1980, Mayer y cols. 1990b, Stern y Kolunie 1993). Así, la remoción de las crías del nido por un período de cuatro horas disminuye considerablemente el nivel de agresión de las hembras lactantes (Erskine y cols. 1978, Ferreira y Hansen 1986).

En particular, por un lado se ha propuesto que los estímulos olfativos (Ferreira y Hansen 1986, Ferreira y cols. 1987, Kolunie y Stern 1995) y la estimulación sensorial, por parte de las crías, de la región ventral de la hembra (Stern y Kolunie 1993) mantienen la agresión maternal. Y por el otro, la estimulación de la región perioral de la madre, por parte de un animal extraño (Kolunie y Stern 1990, Stern y Kolunie 1991) provoca agresión.

Por último, la agresión entre hembras ha sido poco explorada, fuera del contexto maternal. Por lo que no se tiene mucha información acerca de los factores ambientales que influyen bajo una condición distinta.

2. ANTECEDENTES.

La agresión es una conducta comúnmente asociada con el sexo masculino, aunque no exclusiva de ese género. En roedores, se ha reportado que las hembras suelen expresar agresión durante determinadas etapas de su ciclo estral y ante la invasión del territorio que habita en particular si son madres. Tal es el caso de hembras hámster, donde la agresión es mayor que la de los machos, incluso sin ser madres (Takahashi 1990).

La mayoría de los reportes acerca de la conducta agresiva en hembras se remite a estudiar los factores hormonales y sensoriales que participan en la regulación de la agresión maternal. Con respecto al período de desarrollo en el cual la agresión es moldeable por la modificación del ambiente y qué factores participan en dicho proceso, se sabe poco.

La participación de la experiencia en el desarrollo de la agresión en la etapa juvenil no es muy clara. Por un lado se ha reportado que ratones aislados socialmente después del destete hasta la etapa adulta mostraron mayor tiempo para iniciar el ataque hacia un coespecífico comparados con aquellos que no fueron aislados (King y Gurney 1954). Por el otro, en ratas se ha reportado que hembras y machos aislados socialmente después del destete, son más agresivos hacia un coespecífico cuando adultos, que los que fueron agrupados (Day y cols. 1982). Aunque la contradicción de resultados bien pudiera deberse a la diferencia de especies, un aumento de agresión similar al encontrado en ratas fue reportado por van den Berg y cols. (1999) e interpretado como un incremento de intolerancia.

Desde 1975 (Randt y cols.) se ha reportado que la desnutrición antes del destete en ratones y ratas influye en la conducta agresiva cuando son adultos. Años después fueron reafirmadas estas observaciones por Nakamura y cols (2003), quienes encontraron que ratones destetados a los 14 días postnatales (DPN), lo que interrumpe el contacto maternal, atacaron con mayor frecuencia y tardaron menos en iniciar los ataques (mayor agresión) hacia un intruso, que aquellos que fueron destetados a los 21 DPN.

De manera similar, se ha manejado a dicha separación temprana (14-21 DPN) como una disrupción de la interacción madre-crío, sin embargo el efecto de aumento de ansiedad y agresión en determinados contextos sociales (Kikusui y cols. 2004) está claramente relacionado con factores nutricionales más que con la alteración del vínculo.

Se ha propuesto que las características conductuales de la madre son expresadas por los hijos. Esta transmisión no sólo es de carácter hereditario, también intervienen los factores epigenéticos tales como estímulos provenientes del cuidado maternal y/o de los compañeros de camada. Por ejemplo, si la madre es agresiva, la progenie también lo será. Así, crías de hembras agresivas criadas por madres no agresivas mostraron menor agresión hacia un intruso, mientras que las hijas de madres no agresivas criadas por madres agresivas, en la etapa juvenil fueron más agresivas hacia un intruso (Flandera y Nováková 1974).

En el caso de especies de cuidado biparental, como el ratón de California (*Peromyscus californicus*), el contacto con sus progenitores repercute en su conducta en la etapa adulta. Por ejemplo, machos y hembras cuyos padres acarrearon los crías al nido con mayor frecuencia presentan menor latencia para atacar en un encuentro agresivo al ser adultos (Frazier y cols. 2006).

Otra serie de datos obtenidos utilizando el paradigma experimental de separación maternal, ha apoyado la idea anterior. Así ratones, crías machos y hembras, separados de su madre y aislados de manera parcial durante el período postnatal, fueron más agresivos en la etapa juvenil que aquellos manipulados por humanos (Brain 1975). Este efecto también se encontró en primates no humanos (Manning y Stamp 1992). Además, datos indirectos mostraron como ratas hembras adultas, separadas de su madre y hermanos (CA) y criadas en con el paradigma experimental denominado crianza artificial durante el período postnatal, manifestaron un incremento significativo de conductas de juego-lucha (actividades motoras que no causan daño y son manifestadas por animales púberes de distintas especies, Pellis e Iwaniuk 2000 citado en Blanchard y cols. 2003) hacia una hembra de la misma edad durante una prueba de aprendizaje social, en comparación con las hembras criadas por su madre (Melo y cols. 2006, figura 3).

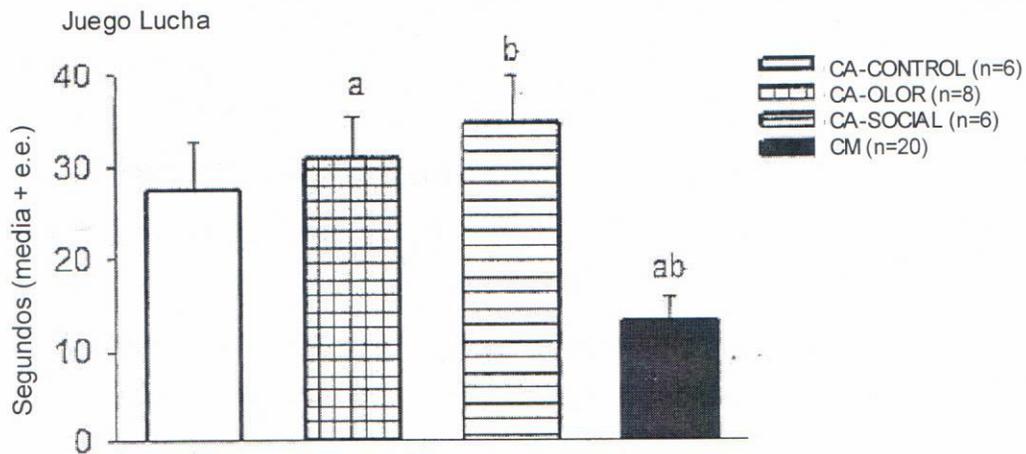


Figura 3. Efecto de la separación maternal total (CA) sobre el juego lucha en una prueba de aprendizaje social. Las letras iguales indican diferencias entre los grupos que las comparten. CA-Control: separación maternal total, CA-Olor: separación maternal más olor del nido, CA-social: separación maternal más un compañero de la misma edad, CM: crianza maternal (Modificado de Melo y cols. 2006)

Estos datos nos sugieren que el cuidado maternal y la estimulación táctil, odorífera y social de los hermanos durante el período postnatal participan en el desarrollo de la conducta de juego-lucha, la cual ha sido considerada como una variante de la conducta agresiva. Se puede observar que las hembras que crecieron con su madre y hermanos (CM) mostraron menor tiempo de juego lucha en comparación con las ratas separadas de su madre (CA).

En ratas, la exposición a la testosterona en la etapa prenatal predispone hacia una conducta agresiva en la etapa adulta. También, se ha sugerido que la posición del feto durante el desarrollo intrauterino es una notable fuente de variación, en términos hormonales, para la expresión de la conducta agresiva en la edad adulta. Así, hembras cuyo desarrollo intrauterino ocurrió entre dos machos, fueron más agresivas, en comparación con aquellas que crecieron entre dos hembras (vom Saal 1991 citado en Brain y Haug 1992).

Los datos anteriores sugieren que la edad en la cual ocurre el contacto social (cuidado maternal e interacción con los hermanos de camada) es importante para determinar el efecto que este tenga en la expresión de la conducta en etapas posteriores. Además que los factores epigenéticos tienen una secuela importante en el desarrollo de la agresión. Para evaluar cómo

las experiencias sociales tempranas, es decir, el cuidado maternal y la interacción con los hermanos en el periodo postnatal (antes del destete) están influyendo en la conducta agresiva se propone el presente proyecto.

3. JUSTIFICACIÓN.

Los datos reportados anteriormente en los antecedentes sugieren que las experiencias que las crías puedan vivir en el periodo postnatal afectan distintos procesos involucrados en la expresión final de la conducta agresiva. En general el presente proyecto exploró la participación de la experiencia temprana, de las hembras, en el desarrollo de una de las conductas sociales más importantes para el desenvolvimiento de los animales gregarios dentro de su ambiente social: la agresión. Para ello utilizamos el paradigma experimental de separación maternal/social a través de la crianza artificial como modelo de investigación para responder las preguntas acerca del desarrollo de la agresión en la rata cepa *Wistar*. Las razones para realizar este tipo de estudio se exponen a continuación.

Para empezar, es preciso recordar que cada conducta agresiva resulta trascendente para la subsistencia del organismo e incluso del grupo. En el caso de la expresión de la agresión maternal resulta esencial para el éxito reproductivo; ésta y el cuidado maternal permiten a las crías sobrevivir durante la etapa antes del destete: el periodo postnatal.

A través de la interacción de la madre-progenie (cuidados maternales) y de la interacción entre los hermanos de camada, las crías obtienen los elementos necesarios para un adecuado desarrollo de las conductas sociales (afiliativas o agonistas). Así, en el nido maternal se establecen las primeras relaciones sociales del individuo.

En general una dificultad para realizar estos estudios es la duración de los mismos. La rata, debido a su rápida ontogenia y a su fácil manipulación, representa un modelo adecuado para este tipo de estudio. Además, esta especie ha sido un modelo predilecto para el estudio de las relaciones sociales por su tendencia evolutiva a organizarse en colonias, lo que nos permite realizar analogías con el humano a nivel fisiológico y conductual.

Hay que destacar que el trabajo con ratas en condiciones de laboratorio permite un control más estricto de las experiencias sociales en la etapa de interés, lo que en situaciones de campo sería imposible. Este control se logra a través del sistema de crianza artificial introducido por Messer y cols. en 1969, quienes lo propusieron como una alternativa para el estudio de factores nutricionales y posteriormente fue modificado por Hall en 1975 para utilizarlo en estudios de desarrollo.

En definitiva los estudios de desarrollo son relevantes para la comprensión de la conducta de un organismo y la rata en el paradigma de crianza artificial resulta un modelo adecuado para este estudio.

4. HIPÓTESIS.

La separación social durante el periodo postnatal incrementa la agresión en la rata hembra adulta.

4.1 PREDICCIONES.

Lo que esperamos obtener de acuerdo a los antecedentes expuestos y a través de la metodología que a continuación se explicará es lo siguiente:

a) En las pruebas de agresión (territorial y maternal) las hembras del grupo CA-Aislado mostrarán mayor agresión comparadas con los otros grupos. Sin observarse diferencias entre pruebas dentro del mismo grupo.

b) La conducta del grupo CM-Control diferirá entre pruebas, siendo mayor la agresión que muestren las hembras en la segunda prueba (agresión maternal).

c) La conducta del grupo de CA-Social en ambas pruebas será similar a la del grupo CM-Control, es decir, el efecto del aislamiento se revertirá con el acompañamiento de las crías.

5. OBJETIVO.

Conocer cómo es afectada la agresión en la rata hembra adulta por las interacciones sociales (conducta maternal e interacción social con los hermanos) durante el periodo postnatal (antes del destete).

Para ello, las hembras experimentales fueron criadas en distintas circunstancias. Esto es, se criaron con estimulación social o sin ella. En este estudio se utilizó el paradigma experimental de crianza artificial del cual se formaron los siguientes grupos:

Primero, crianza maternal (CM-Control) esto es, las crías crecieron con su madre y hermanos.

Segundo, crianza maternal (CM-Ciego), las crías fueron expuestas a la manipulación de una cirugía (gastrostomía, ver métodos) y se regresó al nido para ser criada por su madre y en compañía con sus hermanos (como el grupo anterior).

Tercero, separación maternal (CA-Social) las crías fueron separadas de su madre e instaladas en un sistema de crianza artificial, y se les añadió dos crías de la misma edad como estimulación social.

Cuarto, separación maternal y social de los hermanos (CA-Aislado), estas crías fueron criadas artificialmente pero sin estimulación social.

Posteriormente, las unidades experimentales se expusieron a dos situaciones en las que se sabe muestran agresión las hembras:

- a) agresión territorial (prueba 1).
- b) agresión maternal (prueba 2).

6. METODOLOGÍA.

6. 1 ANIMALES.

En este trabajo se utilizaron ratas hembras primíparas de la cepa *Wistar*, para proveer de las crías experimentales (n= 41, criadas artificialmente; ver más adelante), provenientes del bioterio del Centro de Investigación en Reproducción Animal (CIRA), CINVESTAV-UAT. Fueron alojadas dentro de cajas de acrílico (44 cm. de largo x 28 cm. de ancho y 19.5 cm. de alto) y mantenidas bajo un ciclo de luz/oscuridad 14:10 horas, empezando el ciclo de oscuridad a las 13:30 hrs. y a una temperatura controlada de 23 +/- 1°C. Los sujetos se mantuvieron con alimento balanceado para roedores (*Ratina, Purina*) y agua *ad libitum*. Además, se utilizaron otros dos grupos de hembras lactantes donadoras para proveer de crías para los siguientes propósitos: a) como compañeras de las crías aisladas del grupo social, y b) para ser utilizadas en la etapa adulta como los animales intrusos (n= 72 hembras) durante las pruebas de agresión.

6.2 PROCEDIMIENTO GENERAL.

En el día del parto (día 0) cada camada se ajustó a ocho crías: cinco hembras y tres machos. Tres días después se retiraron cuatro crías hembras de cada nido. Una de ellas se marcó en el dorso con un plumón de tinta permanente y se regresó inmediatamente para ser criada por su madre (grupo control, CM-CONTROL), a las tres restantes se les implantó un catéter PE-50 en el estómago (ver *gastrostomía*). A una de ellas se le retiró inmediatamente el catéter y se regresó con su madre para ser criada por su madre y ser parte del grupo control-ciego (CM-CIEGO). Las otras dos hembras (implantadas) fueron colocadas dentro de un sistema de crianza artificial (CA, ver *crianza artificial*), con (CA-Social) o sin (CA-Aislado) compañía social dentro de su recipiente de aislamiento y alimentadas con fórmula láctea (leche preparada) a través del catéter.

De esta manera, se formaron los siguientes grupos experimentales: 1) CA-Aislado, recibieron estimulación en la región anogenital dos veces al día para inducir la micción y defecación; 2) CA-Social, con igual número de estimulaciones anogenitales que el grupo anterior, y acompañadas dentro del recipiente por dos crías de la misma edad (provenientes de hembras donadoras). Estas compañeras fueron reemplazadas cada 12 horas por otras recién

alimentadas; 3) CM-CIEGO, implantadas y criadas con su camada por su madre y 4) CM-CONTROL, sin implante y criadas con su camada por su madre.

Permanecieron en estos grupos durante los días 3-19 postnatales (PN). Al finalizar este periodo de crianza retiramos a las crías CA del sistema y las colocamos en cajas de acrílico transparente chicas (34 cm. de largo x 23 cm. de ancho y 15 cm. de alto), con una hembra de la misma edad proveniente del bioterio. A partir de ese momento se inicio su transición de alimento líquido a sólido. Para este fin, se alimentaron de una mezcla compuesta por fórmula láctea y alimento de Ratina pulverizado, durante dos días. En el día 21 PN las hembras CM fueron destetadas al igual que las CA. Todas permanecieron agrupadas en pares dentro del bioterio hasta la etapa adulta (85-95 días de edad) bajo las condiciones descritas en la sección de animales.

En la etapa adulta, las hembras de todos los grupos fueron alojadas individualmente en cajas de acrílico transparente (44 cm. de largo x 28 cm. de ancho y 19.5 cm. de alto), tres días después se realizó la prueba de agresión territorial (ver *Registro de agresión*; Prueba 1) al introducir una hembra virgen de edad y peso similar dentro de la caja de la hembra residente (experimental). Durante diez minutos se videograbaron los diferentes componentes de la conducta agresiva.

Dos días después se aparearon a las hembras con un macho sexualmente activo. El día del parto (día 0) se ajustó cada camada a ocho crías. Cinco días después del parto se realizó la prueba de agresión maternal (ver *Registro de agresión*; Prueba 2).

Todas las hembras utilizadas como compañeras sociales e intrusas fueron obtenidas del segundo grupo de madres donadoras provenientes del bioterio.

6. 3 GASTROSTOMÍA.

La cirugía consiste en implantar un catéter en el estómago del neonato para alimentarlo. Para esto se requirió un catéter de polietileno (PE-10; *Intramedic Clay Adams Brand*) de diez cm. de longitud, aproximadamente. Un extremo del catéter fue previamente expuesto al calor para redondearlo y se colocó en ese sitio una pieza circular de plástico (rondana) que sirvió como anclaje en la pared estomacal interna de la cría.

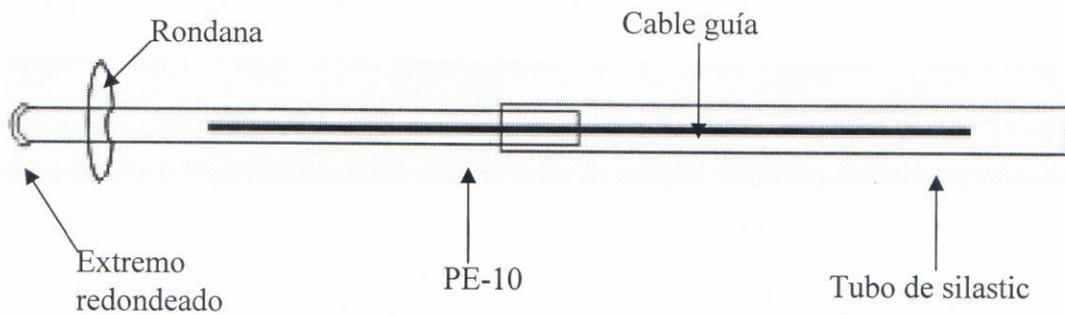


Figura 4. Implante utilizado en la gastrostomía compuesto por un catéter de polietileno (PE-10) y demás estructuras descritas arriba.

Para implantar el catéter PE-10 se colocó, dentro de éste, un cable guía de acero inoxidable de 0.24 cm. de diámetro y 7.2 cm. de longitud, dejando un extremo de éste fuera del catéter en el cual se introdujo un tubo de silastic para cubrir dicho extremo y evitar lastimar el tracto digestivo de la cría (figura 4). Poco antes de implantar el catéter se humedeció con aceite el extremo donde estaba colocado el tubo de *silastic* para asegurar un deslizamiento adecuado por el esófago de la cría.

En el día tres PN, se pesó a cada cría y se anestesió con Halotano (Laboratorio Farmacéutico RIMSA). A continuación el cuerpo de la cría fue sostenido con la mano

izquierda y la cabeza tomada entre los dedos pulgar e índice (figura 5). Con la otra mano se introdujo el catéter (por el extremo cubierto de



Implante

Figura 5. La cría es sostenida con la mano izquierda y con la derecha se introduce el implante.

silastic) dentro del hocico de la cría, empujando hacia abajo por el esófago hasta visualizar la punta a través de la pared abdominal. Inmediatamente después, la cría es detenida con firmeza y la cánula empujada contra la pared interna. En ese momento el catéter traspasa la pared

abdominal hasta que el extremo con la rondana toque la pared interna del estómago. Después de retirar el tubo de silastic y el cable guía se aplica crema antibacterial (*Terramicina*) en la pared abdominal perforada. Se coloca otra rondana en el extremo exterior de la pared abdominal y un seguro elaborado con catéter de polietileno (PE-50 Intramedic Clay Adams Brand; figuras 6 A y B), ambos fueron fijados con una gota de pegamento (*Kola loka*).

A continuación la cría se colocó en una incubadora para recuperarse de la anestesia. La duración de la cirugía fue inferior a 90 segundos. A partir de este día, el peso corporal de cada cría se registró todos los días hasta el destete.

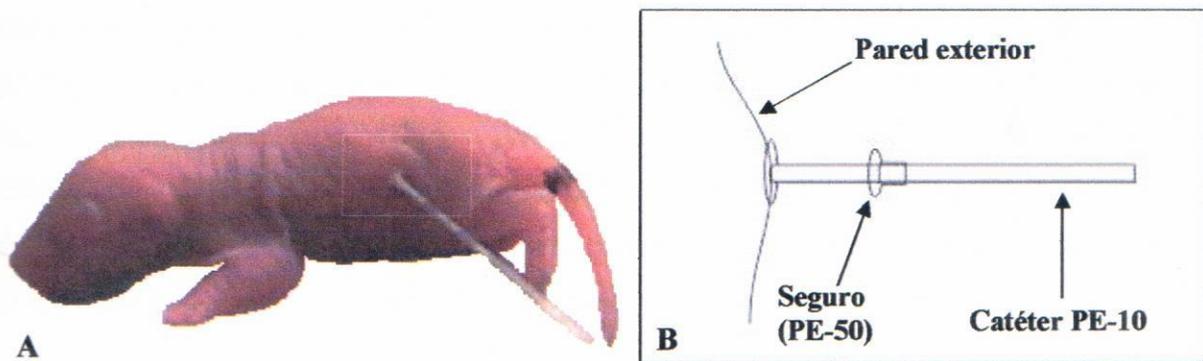


Figura 6. A) Cría implantada con el catéter PE-10. B) Se observa en aumento, el implante en la pared abdominal exterior de una cría.

6. 4 CRIANZA ARTIFICIAL.

Posterior a la cirugía, cada cría se alojó dentro de un recipiente de plástico (11 mm. de diámetro x 20 mm. de profundidad), cuyo piso fue previamente cubierto con aserrín estéril (figura 7). La mitad de las crías estuvieron acompañadas por dos crías de la misma edad y sexo indistinto, provenientes del primer grupo de hembras donadoras, quienes fueron reemplazadas por otras recién alimentadas cada 12 horas (figura 7-B). El recipiente estuvo dentro de un segundo recipiente flotando en un acuario con el agua a una temperatura de 39°C +/- 1, de esta forma la temperatura dentro del recipiente oscilaba entre los 34-36°C. Conforme las crías iban creciendo la temperatura fue reducida de manera gradual hasta los 31-32°C al final del periodo cuando las crías ya tenían pelo.

El catéter implantado en el estómago fue conectado a otro más grande (PE-50) y éste a su vez, a una jeringa desechable con leche artificial (fórmula tomada de la Universidad de Iowa; Messer y cols. 1969, modificada por Smart y cols. 1983) para su alimentación. La jeringa fue montada en una bomba de infusión programable Harvard (*Harvard Apparatus Syringe Pumps, PHD 2000*). Ésta a su vez, se programó para infundir leche cada hora durante diez minutos, las 24 horas del día.

La velocidad de infusión se ajustó cada día de acuerdo al peso corporal promedio de las crías conectadas a la bomba (Gonzalez y cols. 2001). Para el primer día, la cantidad correspondió al 33% del peso corporal promedio, es decir, el día del implante (3 PN) el peso promedio de las crías se multiplicó por 0.33, el resultado (corresponde a la cantidad total de leche que consumirán por 24 horas) fue dividido entre 240 (número total de minutos con infusiones por día) y el resultado correspondió a la velocidad de infusión. En los siguientes días la velocidad se ajustó de acuerdo al peso promedio de todas las crías aumentando a diario el 1% hasta llegar a un máximo del 45% del peso promedio.

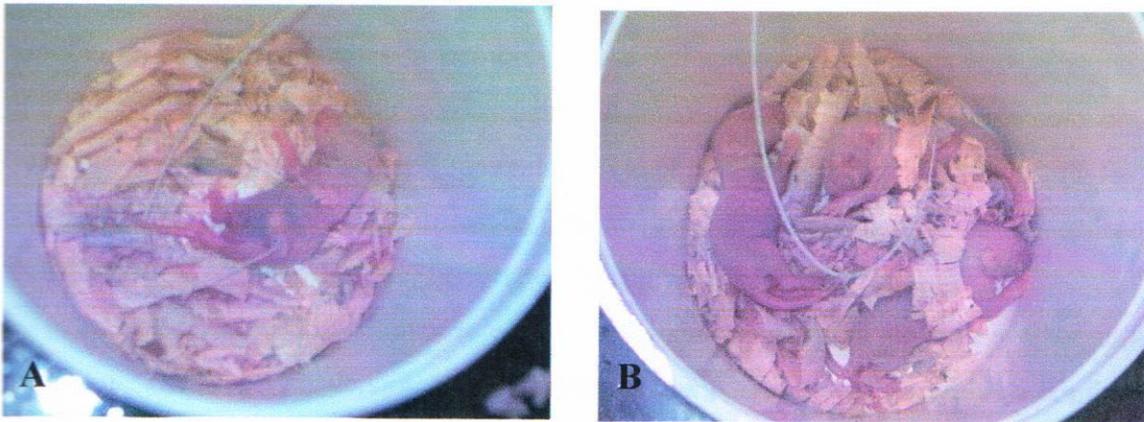


Figura 7. Cada cría fue colocada en un recipiente de 11 mm. de diámetro y 20 mm. de profundidad. A) Cría sin acompañamiento. B) Cría con dos compañeras sociales durante el periodo de crianza artificial.

Cada mañana la bomba se detuvo y las crías fueron pesadas, los catéteres PE-10 limpiados con agua destilada tibia y las jeringas se reemplazaron por otras nuevas con leche templada en baño maría. La bomba fue calibrada de acuerdo al peso promedio de las crías conectadas. Todas las crías recibieron estimulación en la región anogenital dos veces al día,

durante 30-45 segundos, con un pincel húmedo de cerdas de camello en dirección de arriba hacia abajo para estimular la defecación y micción (Gonzalez y cols. 2001).

6. 5 REGISTRO DE AGRESIÓN.

El procedimiento para la prueba de agresión territorial (prueba 1) y maternal (prueba 2) fue similar, a diferencia de que en la prueba 2 las hembras a observar eran lactantes y sus crías estuvieron presentes durante el encuentro. Las pruebas conductuales comenzaron dos horas después de apagada la luz del bioterio. Todas las observaciones se realizaron entre las 15:30 y 18 hrs.

Quince minutos antes de empezar la prueba, la caja con la hembra a observar (residente) se colocó en una mesa. A continuación se introdujo una hembra virgen extraña (intrusa), de peso y edad similar proveniente del bioterio (de madres donadoras), dentro de la caja del residente. En ese momento se inició la filmación de la prueba por diez minutos, con una videocámara *Sony Handycam* modelo *DCR-HC30* utilizando la función de visión nocturna y empleando luz roja del bioterio. Al terminar la prueba se retiró a la hembra intrusa y se regresó a la residente a su anaquel habitual.

En todas las pruebas la hembra intrusa fue virgen y sin parentesco ni convivencia previa con la residente. Además, las hembras intrusas fueron utilizadas una sola vez. Con respecto al peso de los animales, teniendo en cuenta que este influye en los resultados, tanto las hembras residentes (experimentales) como las intrusas (aquellas que se usaron para confrontar a las experimentales) fueron pesadas antes de cada prueba.

Para registrar los diferentes componentes de la conducta de agresión se utilizó el programa *The Observer* versión 5.0 instalada en una computadora portátil. La configuración del programa se efectuó asignando una letra para cada una de las conductas mencionadas (figuras 8 A, B y C). Se registró la frecuencia de conductas agresivas tales como ataques, mordidas, patadas, boxeo y la duración de la postura de ataque y lateral de la residente hacia la intrusa. Además, la duración y frecuencia de las posturas de sumisión completa e incompleta de la intrusa. Así como, la latencia para la primera conducta agresiva (ataque, mordida, patada, boxeo, postura de ataque o lateral) y la primera conducta de sumisión (completa o incompleta) (Ferreira y cols. 2002). También, como indicador de conductas sociales se registró la

frecuencia y duración del olfateo del cuerpo y de la cabeza de la intrusa. La duración y la latencia fueron medidas en segundos.

6.5.1 Conductas agresivas de la hembra residente.

Ataque: embestida rápida dirigida al cuello o región dorsal de la hembra intrusa. Generalmente termina en luchas.

Mordida: contacto del hocico de la hembra con cualquier parte del cuerpo de la hembra intruso, incluyendo el cuello y la cabeza.

Patada: la hembra golpea a la intrusa con las patas traseras

Boxeo: ambas ratas se enfrentan paradas sobre sus patas traseras y la hembra golpea a la intrusa con las patas delanteras, mientras la intrusa responde de similar manera.

Postura de ataque: la hembra residente permanece inmóvil, con actitud amenazante, frente a la hembra intruso antes de realizar un ataque.

Postura lateral: la residente se aproxima a la intrusa por la parte lateral de su cuerpo y la empuja o la ataca.

6.5.2 Conductas de la hembra intrusa.

Postura de sumisión completa: la intrusa se inmoviliza, y permanece con su espalda apoyada sobre el piso de la caja y exponiendo su región ventral a la residente.

Postura de sumisión incompleta: la hembra intrusa se sienta sobre sus patas traseras, con la espalda curva y sus patas frontales levantadas hacia la hembra residente.

6.5.3 Conductas sociales de la hembra residente.

Olfateo de cabeza: con el hocico y/o nariz la hembra investiga el cuello y la cabeza de la intruso.

Olfateo de cuerpo: con el hocico y/o nariz la hembra investiga cualquier parte del cuerpo de la intrusa excepto el cuello y la cabeza.

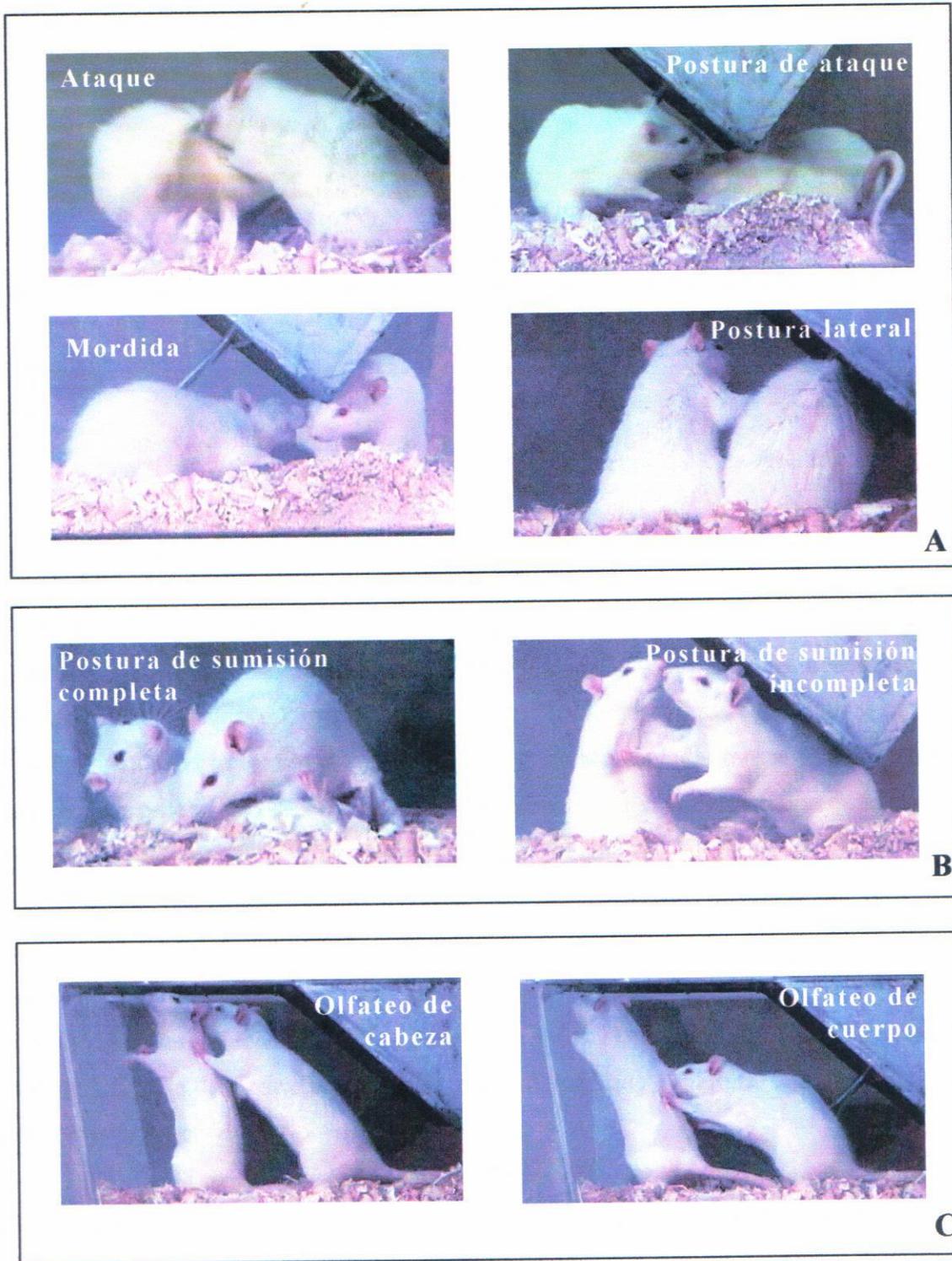
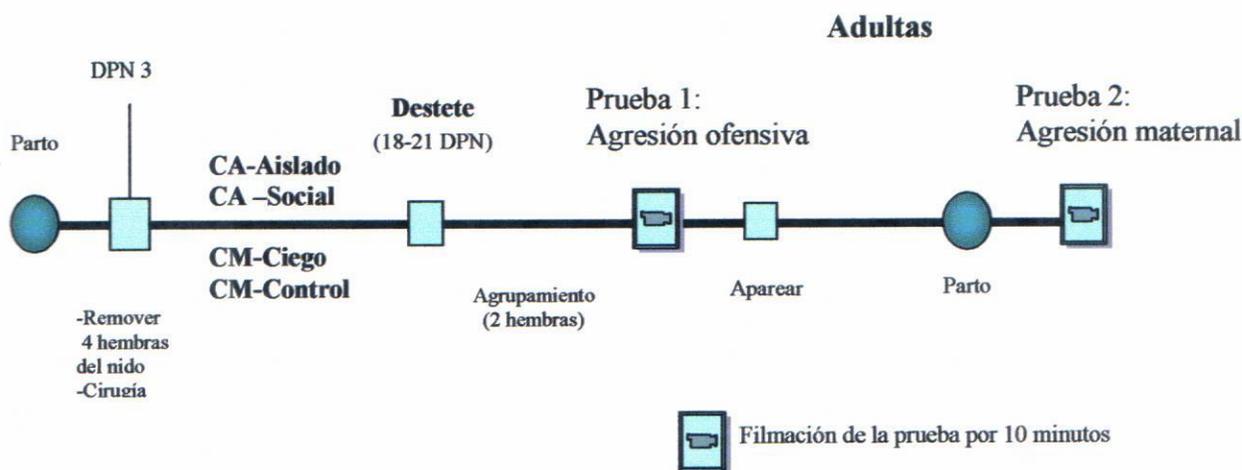


Figura 8. Conductas registradas durante las pruebas de agresión. A) Conductas agresivas de la hembra residente. B) Conductas de la hembra intruso. C) Conductas sociales de la hembra residente.

6.6 PROTOCOLO EXPERIMENTAL.



6.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

El peso de las hembras se comparó a la edad de 3, 5, 10, 15 y 22 días postnatales de las hembras experimentales (F0; figura 9-A), en los días uno, cinco y siete postnatales de las hijas de las hembras experimentales (F1; figura 9-B) y en la etapa adulta (rango: 3.5 meses de edad) antes de cada prueba (ver sección de métodos). Debido a que la distribución de los datos fue normal (prueba de normalidad de Shapiro-Wilks y prueba para la homogeneidad de varianzas de Levene), se utilizó una prueba de ANDEVA. Seguido de la prueba pos hoc de comparación múltiple de Tukey entre los grupos cuando se encontraron diferencias significativas en la ANDEVA. Para el análisis estadístico de las pruebas de agresión se utilizó la frecuencia (número de veces que presenta una conducta), duración (tiempo total que expresa la conducta) y la latencia (intervalo de tiempo para que se emita una conducta) como parámetros de las conductas previamente descritas.

Mediante la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks y la prueba para la homogeneidad de varianzas de Levene, se determinó que los datos no seguían una distribución normal. Por lo tanto, los datos se analizaron con pruebas no paramétricas, para comparar más de dos grupos (Kruskal-Wallis, una vía). En las conductas donde se encontraron diferencias significativas se

utilizó la prueba de Dunn para comparaciones múltiples, para determinar entre que grupos existían las diferencias.

Por último, para comparar los diferentes componentes de la conducta de agresión obtenidos en la prueba de agresión territorial y aquellos obtenidos de la prueba de agresión maternal dentro de cada grupo, se utilizó la prueba no paramétrica de Wilcoxon para datos pareados. En este análisis solo se incluyen las hembras que estuvieron presentes en ambas pruebas.

Los análisis estadísticos se realizaron con los programas *SPSS versión 11.0* y *Graphpad Prism*. Las gráficas se elaboraron con el programa *SigmaPlot 2001*. En todos los casos un valor de $p < 0.05$ fue considerado estadísticamente significativo. Los grupos CM-Ciego y CM-Control, ambos criados con su madre y hermanos, fueron considerados un solo grupo (CM-Control) después de no haber encontrado diferencias significativas entre ellos en ninguna conducta.

7. RESULTADOS.

Los grupos para la prueba de *agresión territorial* se conformaron de la siguiente manera: grupos CM-Control (n=10), CM-Ciego (n=9), CA-Aislado (n=11) y CA-Social (n=11). Para la prueba de *agresión maternal*, grupos CM-Control (n=7), CM-Ciego (n=8), CA-Aislado (n=8) y CA-Social (n=8). La diferencia entre el tamaño de la muestra radica en la condición de no lactantes para la segunda prueba y en dificultades logísticas durante la grabación. De manera específica, en la tabla 1 se indican las causas de la reducción de la muestra entre la primera y la segunda prueba.

Grupo	Agresión Territorial	No gestantes	No registrados	Agresión Maternal
CM-Control	10	3	0	7
CM-Ciego	9	0	1	8
CA-Social	11	1	2	8
CA-Aislado	11	0	3	8

Tabla 1. Diferencia en el tamaño de la muestra para las pruebas de agresión.

7.1 PESO CORPORAL

Con respecto a los pesos mantenidos por las crías (F0) en el periodo de crianza, no se encontraron diferencias entre los grupos de crianza artificial. Sin embargo, las crías CM a partir del día cinco postnatal conservan pesos superiores a las crías CA siendo significativa la diferencia solo en el día 15 PN (ANDEVA $F_{2,29}=8,923$; $p<0,001$). Mediante la prueba de comparaciones múltiples de Tukey se determinó que las crías CA-Aisladas y CA-Sociales pesaron menos que las crías CM ($p<0.05$, $p<0.001$ respectivamente; figura 9-A).

Además, teniendo en cuenta que las hembras experimentales pesaron significativamente menos que las hembras control (en el día 15 postnatal), y para evitar algún posible efecto sobre las pruebas, se registró el peso de sus crías en los días uno, tres y siete postnatal. Después, mediante una prueba de ANDEVA (debido a las características de los datos) se determinó que no existen diferencias significativas entre los pesos de las crías de las hembras observadas, tal como se muestra en la figura 9-B.

Los pesos de las hembras intrusas y de las residentes obtenidos antes de las pruebas fueron comparados mediante un ANDEVA. En ambos registros no se encontraron diferencias significativas ($F_{2,38}=1,585$ $p>0.05$ agresión territorial y $F_{2,15}=0.237$ $p>0.05$ agresión maternal).

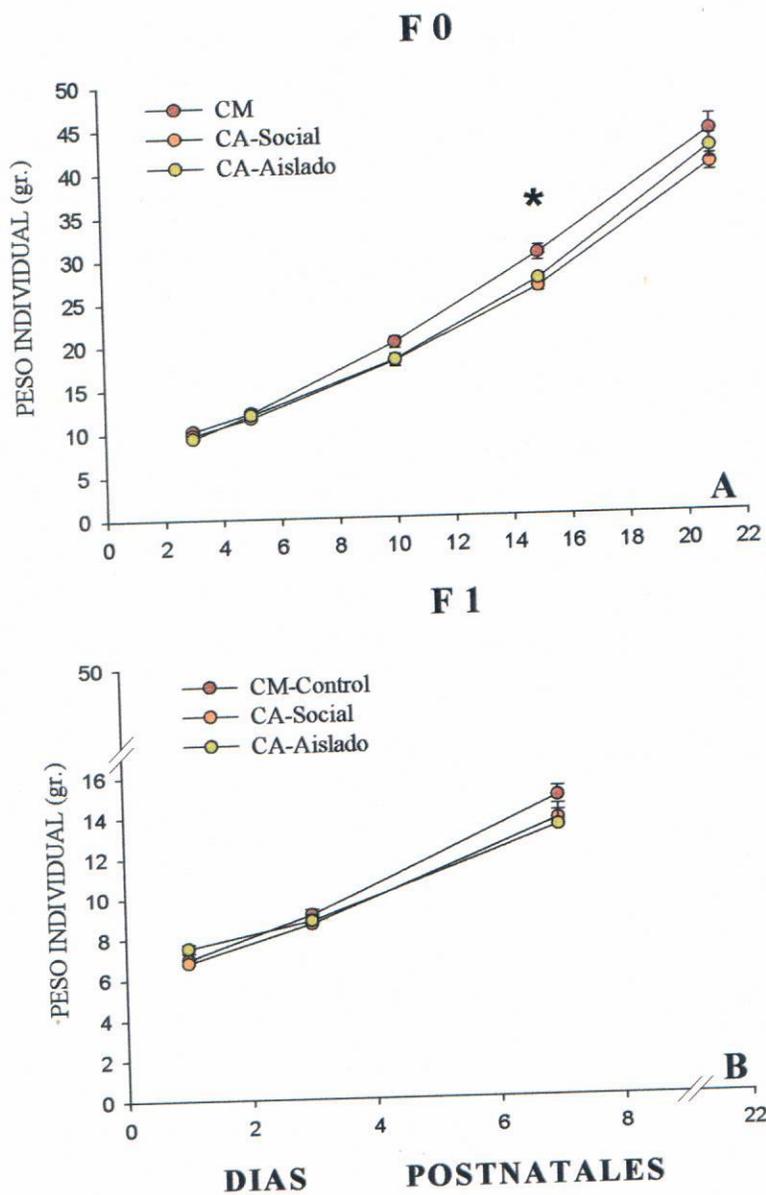


Figura 9. Peso corporal en función de la edad. A) Peso de las hembras observadas siendo crías (F0) durante el periodo de crianza (CM, datos del laboratorio). B) Peso de las hijas (F1) de las hembras observadas, en la primera semana de lactancia. Media \pm error estándar, * $p<0.05$ Tukey.

7.2 AGRESIÓN TERRITORIAL.

Para determinar si la separación de la madre y de los compañeros de camada (CA-Aislado) durante el período postnatal (pre-destete) afectó la conducta agresiva y los estímulos sociales durante el periodo de aislamiento (CA-Social) revirtieron el efecto del aislamiento, los tres grupos fueron comparados utilizando la prueba de Kruskal Wallis, seguido de la prueba de Dunn para comparar grupos independientes. Aunque no se encontraron diferencias significativas en cuanto a la frecuencia y duración de las conductas agresivas registrada (tabla 2), la latencia para que la intrusa adoptara la primera postura de sumisión (completa o incompleta), se encontró una diferencia marginal mediante la prueba de Kruskal-Wallis ($p=0.051$).

VARIABLES	CM-Control		CA-Social		CA-Aislado		
	Mediana	Rango intercuartil	Mediana	Rango intercuartil	Mediana	Rango intercuartil	
LATENCIA	la agresión	74,52	38,96	55,3	46,22	66,06	81,94
	1a sumisión	137,17	423,76	310,92*	413,37	100,07*	167,81
	1er ataque	108,49	92,89	142,26	108,11	77,09	88,9
	la mordida	107,36	104,16	133,98	162,58	109,31	121,32
	1a sumisión completa	203,91	414,23	382,79*	342,45	100,07*	167,81
	la sumisión incompleta	491,03	441,86	601	273,05	215,72	497,31
FRECUENCIA	Ataques	14	16	11	8	13	10
	Mordidas	14	19	7	27	25	27
	Patadas	3	9	0	3	0	11
	Boxeo	1	3	1	3	1	5
DURACIÓN	Postura de Ataque	0	0,99	0	5,53	1,530	31,72
	Postura Lateral	0	0	0	0	0	11,64

Tabla 2. Latencia, frecuencia y duración de las conductas agresivas registradas durante la prueba de agresión territorial, * $p < 0.05$, Dunn.

De manera interesante, la comparación post hoc (prueba de Dunn) entre grupos independientes mostró que el grupo CA-Aislado indujo la postura de sumisión en su oponente más rápido que el grupo CA-Social ($p < 0.05$) y el grupo CM-Control, aunque con el último grupo la diferencia no fue significativa (tabla 2 y figura 10-A).

Por otro lado, al analizar la latencia para adoptar la primera postura de sumisión completa e incompleta por separado, se encontró una diferencia grupal significativa en la postura de sumisión completa ($p < 0.008$, Kruskal-Wallis). Después, al comparar los datos anteriores entre grupos independientes mediante la prueba de Dunn, se encontró que las hembras del grupo CA-Aislado provocaron más rápido la postura de sumisión completa en las hembras intrusas que aquellas del grupo CA-Social ($p < 0.05$, figura 10-B).

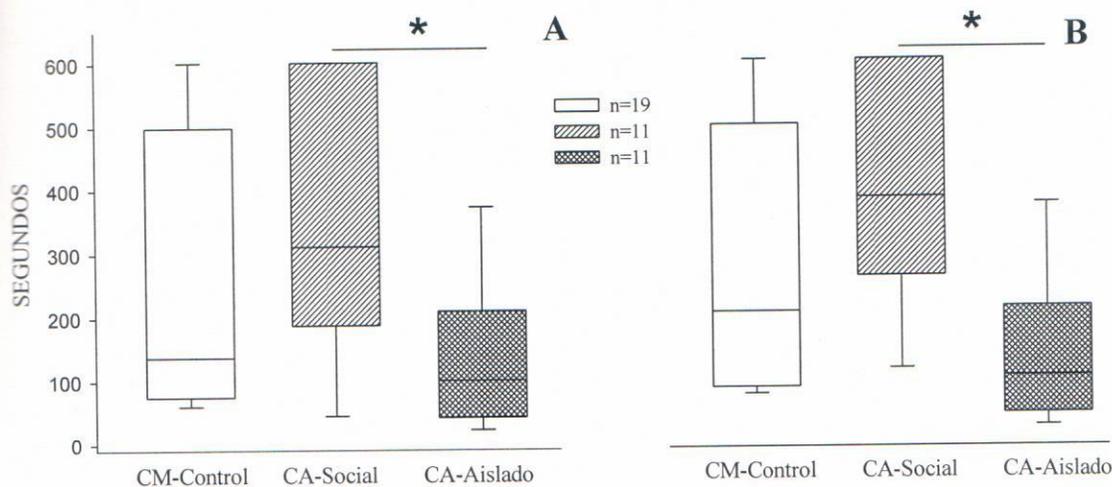


Figura 10. A) Latencia para la primera postura de sumisión (completa o incompleta) de la intrusa. B) Latencia para la postura de sumisión completa. La caja representa el rango intercuartil y la línea vertical dentro de ella la mediana. * $p < 0.05$ Dunn.

7.3 AGRESIÓN MATERNAL.

De manera similar a la primera observación (agresión territorial), se analizó la latencia, frecuencia y duración de las distintas conductas agresivas (tabla 3) a través de la prueba de Kruskal-Wallis. Así, al comparar la latencia tanto para expresar la primera conducta agresiva

(ataque, mordida, patada, boxeo, postura de ataque y lateral) de la residente como para asumir la primera postura de sumisión (completa e incompleta) de la intrusa. Con respecto a la primera, se encontraron diferencias significativas entre los grupos ($p < 0.05$). Posteriormente la prueba de Dunn mostró que, la latencia para la primera agresión de las hembras del grupo CA-Aislado fue menor que la del grupo CA-Social ($p < 0.05$, figura 11-A).

VARIABLES	CM-Control		CA-Social		CA-Aislado		
	Mediana	Rango intercuartil	Mediana	Rango intercuartil	Mediana	Rango intercuartil	
LATENCIA	1a agresión	47,74	59,46	76,09 *	14,08	29,02 *	29,63
	1a sumisión	60,0	71,1	102,7	134,48	53,40	43,79
	1er ataque	48,61	53,34	84,10 *	73,84	30,77 *	42,07
	1a mordida	71,56	210,1	130,1	163,3	58,99	56,13
	1a sumisión completa	103,7	149,77	136,2	147,9	85,38	440,93
	1a sumisión incompleta	146,9	272,78	175,5	282,27	69,92	228,22
	FRECUENCIA	Ataques	10	4	6,5	2,5	9,5
Mordidas		4	4	2,5 *	3,5	8 *	3,75
Patadas		3	11	1,5	1,75	3,5	8
Boxeo		1	1	0	1,5	0	0,75
DURACIÓN	Postura de Ataque	122,8	164,67	43,19	62,305	84,64	28,25
	Postura Lateral	37,48	106,8	4,015	10,08	37,36	69,91

Tabla 3. Latencia, Frecuencia y duración de conductas agresivas registradas en la prueba de agresión maternal. * $p < 0.04$ Kruskal-Wallis.

En cuanto a la latencia para que la hembras intrusa desplegara la primera postura sumisión, prueba de Kruskal-Wallis mostró una diferencia marginal de $p = 0.06$. No obstante, sin ser significativa la diferencia, el grupo CA-Aislado indujo más rápidamente la postura de sumisión en la hembra intrusa que el grupo CA-Social (figura 11-B).

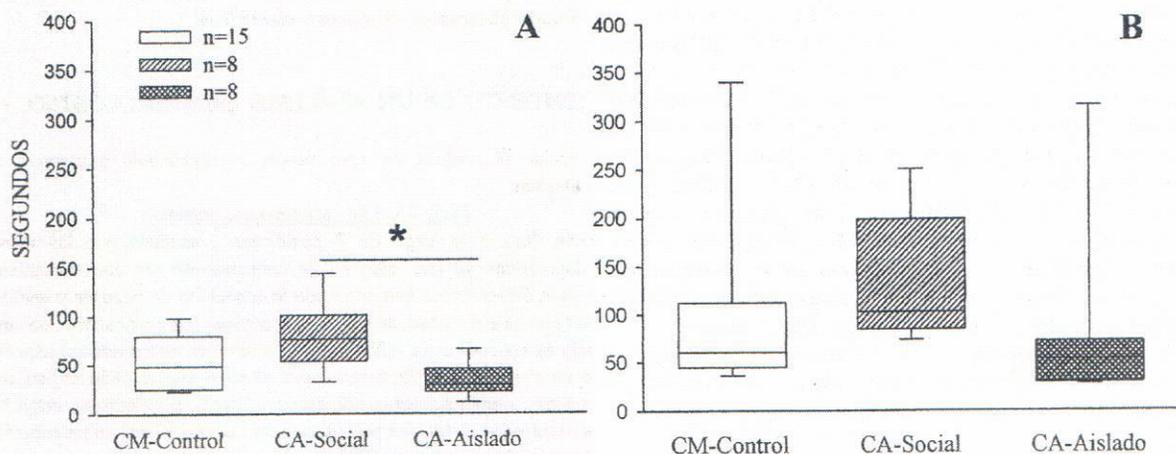


Figura 13. Frecuencia de conductas agresivas observadas durante diez minutos en la prueba de agresión maternal. A) Ataques y B) Mordidas * $p < 0.05$, Dunn.

Al analizar por separado la latencia para las conductas agresivas (ataque, mordida, boxeo, patada, etcétera), se encontraron diferencias significativas entre los grupos en la conducta de ataque ($p < 0.01$, figura 12-A). Después, al comparar la latencia entre grupos independientes se determinó que las hembras del grupo CA-Aislado atacan significativamente más rápido que el grupo CA-Social ($p < 0.05$, Dunn). De manera similar, en la figura 12-B se observa una tendencia de las hembras CA-Aislado a empezar a morder antes que el grupo CA-Social. Con respecto a la latencia para el resto de las conductas agresivas no se encontraron diferencias significativas. Por el contrario, al explorar la latencia para la primera sumisión de la intrusa en sus dos modalidades, completa e incompleta, no hubo diferencias significativas (figuras 12-C, D).

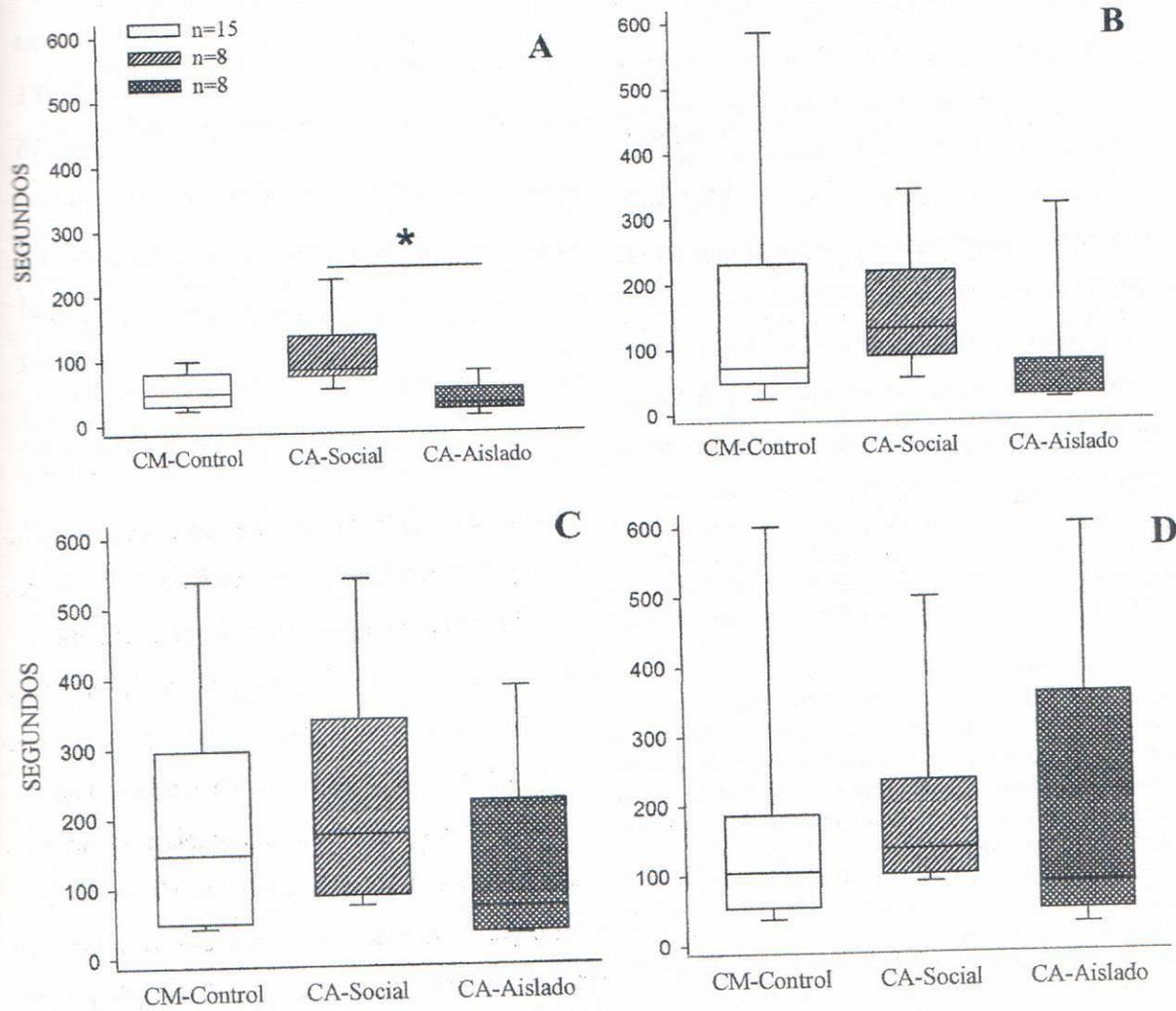


Figura 12. Latencia para el primer ataque (A) y mordida (B) de la residente y para la primera postura de sumisión incompleta (C) y completa (D) de la hembra intrusa. * $p < 0.05$, Dunn.

Otro componente analizado fue la frecuencia de las conductas agresivas, como ataques, mordidas, boxeo y patadas. Así, el análisis entre grupos mostró una diferencia significativa en la frecuencia de mordidas ($p < 0.02$; Kruskal-Wallis), pero no en cuanto a las demás conductas registradas (ataques, boxeo y patadas, tabla 4). Comparaciones entre grupos independientes mostraron una diferencia significativa entre el grupo CA-Aislado y el grupo CA-Social, siendo el grupo CA-Aislado, el que mayor número de mordidas desplegó ($p < 0.05$, prueba de Dunn;

figura 13-B). Aunque el grupo CA-Aislado mostró más mordidas que el grupo CM-Control, esta diferencia no fue significativa. De manera similar, aunque la frecuencia de ataques (figura 13-A) fue mayor para el grupo CA-Aislado, en comparación con el grupo CA-Social, esta diferencia no fue significativa.

Al comparar la duración de las conductas agresivas (postura de ataque y lateral), a través de la prueba de Kruskal Wallis, observamos una diferencia significativa con respecto a la postura lateral ($p < 0.04$) y una diferencia marginal en la postura de ataque ($p = 0.06$). Resulta interesante que al evaluar las diferencias entre grupos independientes, mediante la prueba de Dunn, no se encontraron diferencias significativas, aunque se observó una tendencia de los grupos CM-Control y CA-Aislado a mantener por más tiempo la postura de lateral que la desplegada por el grupo CA-Social. Referente a la postura de ataque, nuevamente los grupos CM-Control y CA-Aislado parecen diferir del CA-Social, siendo en el último menor la duración (tabla 3).

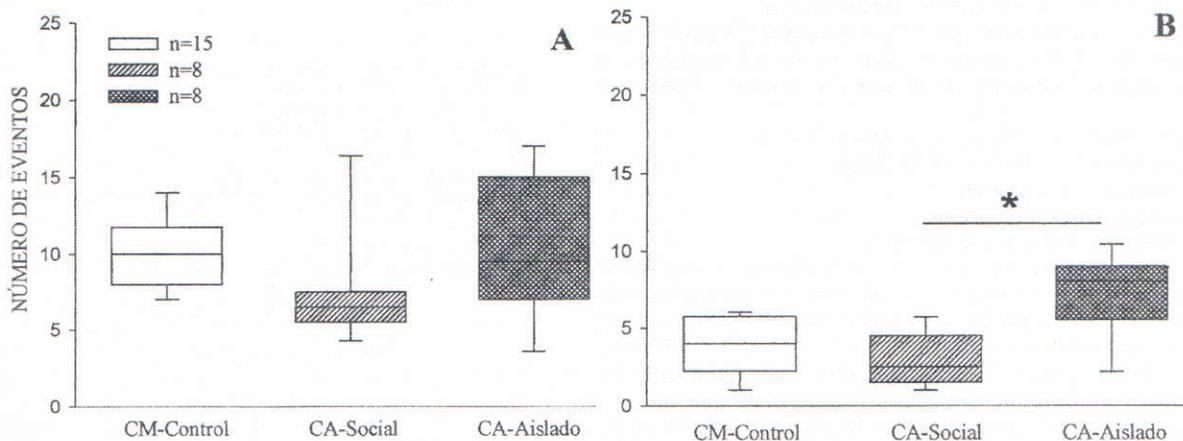


Figura 13. Frecuencia de ataques (A) y mordidas (B) en cada grupo durante la prueba de agresión maternal. * $p < 0.05$, Dunn.

7.4 CONDUCTAS SOCIALES.

Como se describió en los métodos, durante las pruebas de agresión se registró la frecuencia y duración de las conductas sociales (olfateo de cabeza y cuerpo). Así, al comparar dichos parámetros entre los tres grupos no se encontraron diferencias significativas (tabla 4).

En contraste con lo observado en la prueba de agresión territorial, al evaluar la frecuencia y duración de las conductas sociales (figura 14) entre los grupos, se encontraron diferencias significativas en la frecuencia de olfateo de cabeza y de cuerpo ($p < 0.005$, $p < 0.01$, respectivamente). Además, se encontró una diferencia marginal en la duración de olfateo de cabeza ($p = 0.06$). Con respecto a la duración de olfateo de cuerpo no hubo diferencias significativas.

VARIABLES		CM-Control		CA-Social		CA-Aislado	
		Mediana	Rango intercuartil	Mediana	Rango intercuartil	Mediana	Rango intercuartil
FRECUENCIA	Olfateo cabeza	10	7	6	10	6	6
	Olfateo cuerpo	27	8	29	10	31	13
DURACIÓN	Olfateo cabeza	31,04	21,27	18,18	40,74	21,46	17,03
	Olfateo cuerpo	208,29	69,96	165,94	147,27	176,95	35,09

Tabla 4. Frecuencia y duración de las conductas sociales registradas durante la prueba de agresión territorial.

Posteriormente, al buscar diferencias entre grupos independientes con la prueba de Dunn se encontró que la frecuencia de olfateo de la cabeza (figura 14-A) fue significativamente mayor en el grupo de CA-Social en comparación con el grupo de CA-Aislado y CM-Control ($p < 0.05$ y $p < 0.001$, respectivamente). Además, con respecto a la frecuencia de olfateo de cuerpo, el grupo CA-Social nuevamente olfateo más que los grupos CM-Control y CA-Aislado ($p < 0.05$, figura 14-B). Aunque en la duración de olfateo de cabeza y cuerpo no se encontraron diferencias significativas entre grupos, se aprecia una tendencia del grupo CA-Social a olfatear por mayor tiempo que los grupos CM-Control y CA-Aislado (figuras 14-C, D).

CONDUCTAS SOCIALES

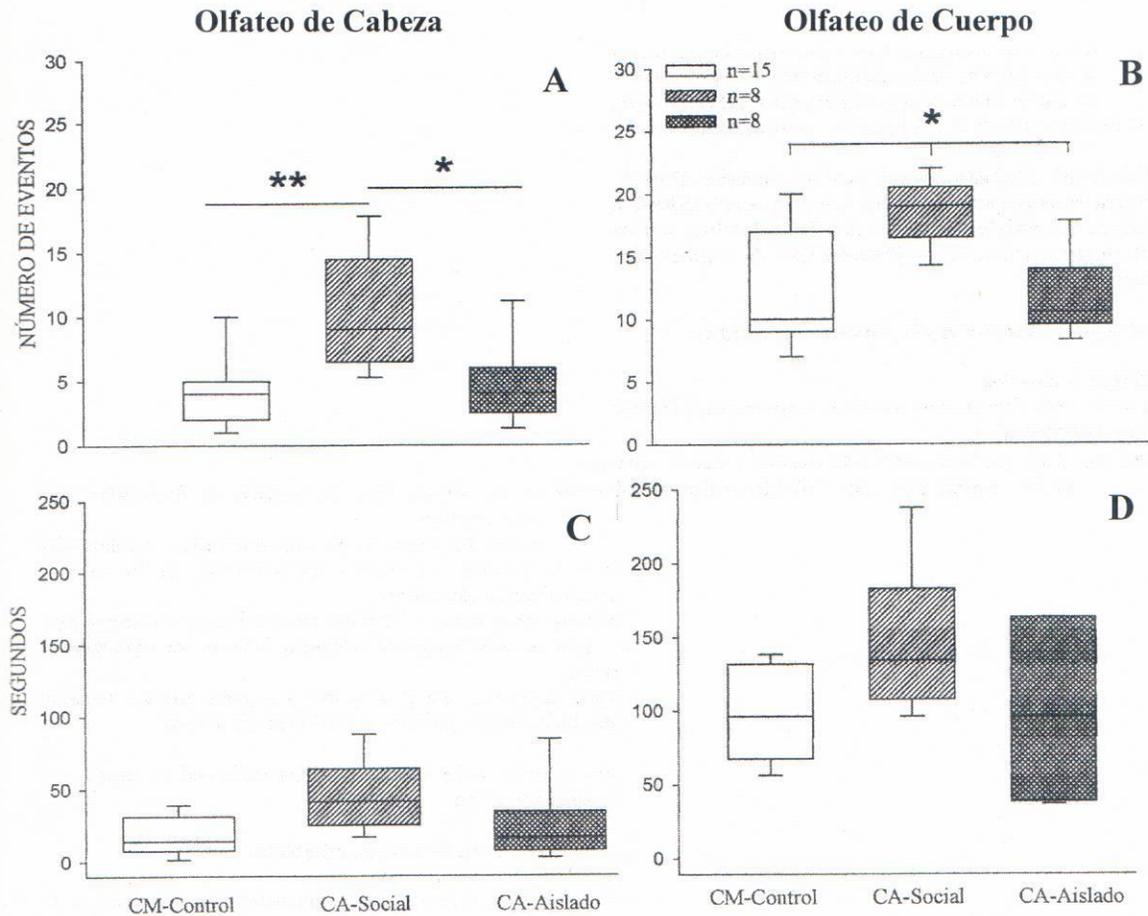


Figura 14. Conductas sociales de las hembras residentes durante la prueba de agresión maternal. Frecuencia de olfateo de cabeza (A) y de cuerpo (B), y duración de olfateo de cabeza (C) y de cuerpo (D) a la hembra intrusa. * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$, Dunn.

7.5 COMPARACIÓN ENTRE LAS PRUEBAS DE AGRESIÓN TERRITORIAL Y MATERNAL.

De manera particular exploramos la respuesta de la intrusa ante las conductas agonistas de la residente y cómo esta respuesta a su vez modifica la conducta sucesiva de la residente en los tres grupos. Para esto, los datos obtenidos en cada prueba (territorial y maternal) se

compararon dentro de cada grupo (CA-Aisladas, CA-Social y CM-Control). Por las características de los datos utilizamos pruebas no paramétricas, además para este análisis solo se incluyeron las hembras que estuvieron presentes en ambas pruebas. Así, a través de la prueba de Wilcoxon, para datos pareados, comparamos las conductas entre pruebas, dentro de cada grupo.

Encontramos que tanto el grupo CM-Control (figura 15-A), como el CA-Social (figura 15-B) no presentaron diferencias significativas entre pruebas para agredir por primera vez a la intrusa, pero si indujeron más rápidamente la postura de sumisión en su oponente ($p < 0.01$) en la prueba de agresión maternal que en la territorial.

En el caso del grupo CA-Aislado, se determinó que la latencia para agredir fue significativamente menor en la prueba de agresión maternal ($p < 0.05$, figura 15-C) que en la de agresión territorial. Por el contrario, la latencia para la postura de sumisión de su oponente no difirió entre pruebas.

Además, exploramos la frecuencia de las conductas agresivas, ataques y mordidas, en ambas pruebas para los tres grupos. En relación a la primera conducta, en el grupo CM-Control no se encontraron diferencias en el número de ataques desplegados en ambas pruebas. Por el contrario, la frecuencia de mordidas fue mayor en las hembras CM-Control durante la prueba de agresión territorial que mientras fueron madres ($p < 0,001$, figura 16-A).

En cambio en el grupo CA-Social, al examinar la frecuencia de estas conductas se determinó que tanto el número de ataques como de mordidas fue menor en la agresión maternal que durante la agresión territorial ($p < 0.05$ para ambas conductas, figura 16-B). De manera similar, en el grupo CA-Aislado la frecuencia de ataques y mordidas fue menor durante la segunda prueba ($p < 0.05$, figura 16-C) que en la prueba antes de aparearse.

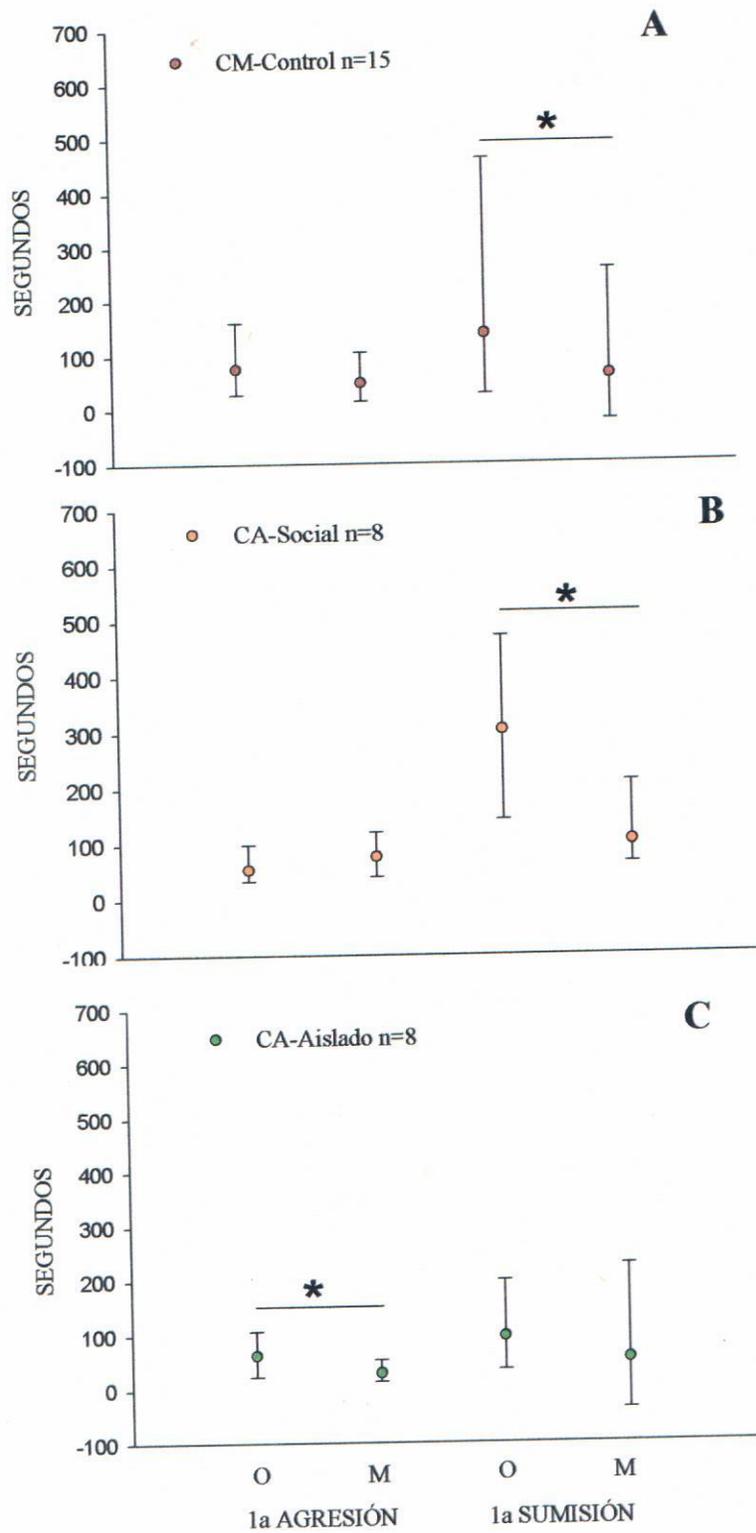


Figura 15. Latencia para la primera agresión de la residente y la primera postura de sumisión de la intrusa, durante la prueba de agresión territorial (O) y maternal (M). Mediana, desviación estándar * $p < 0.05$ Wilcoxon.

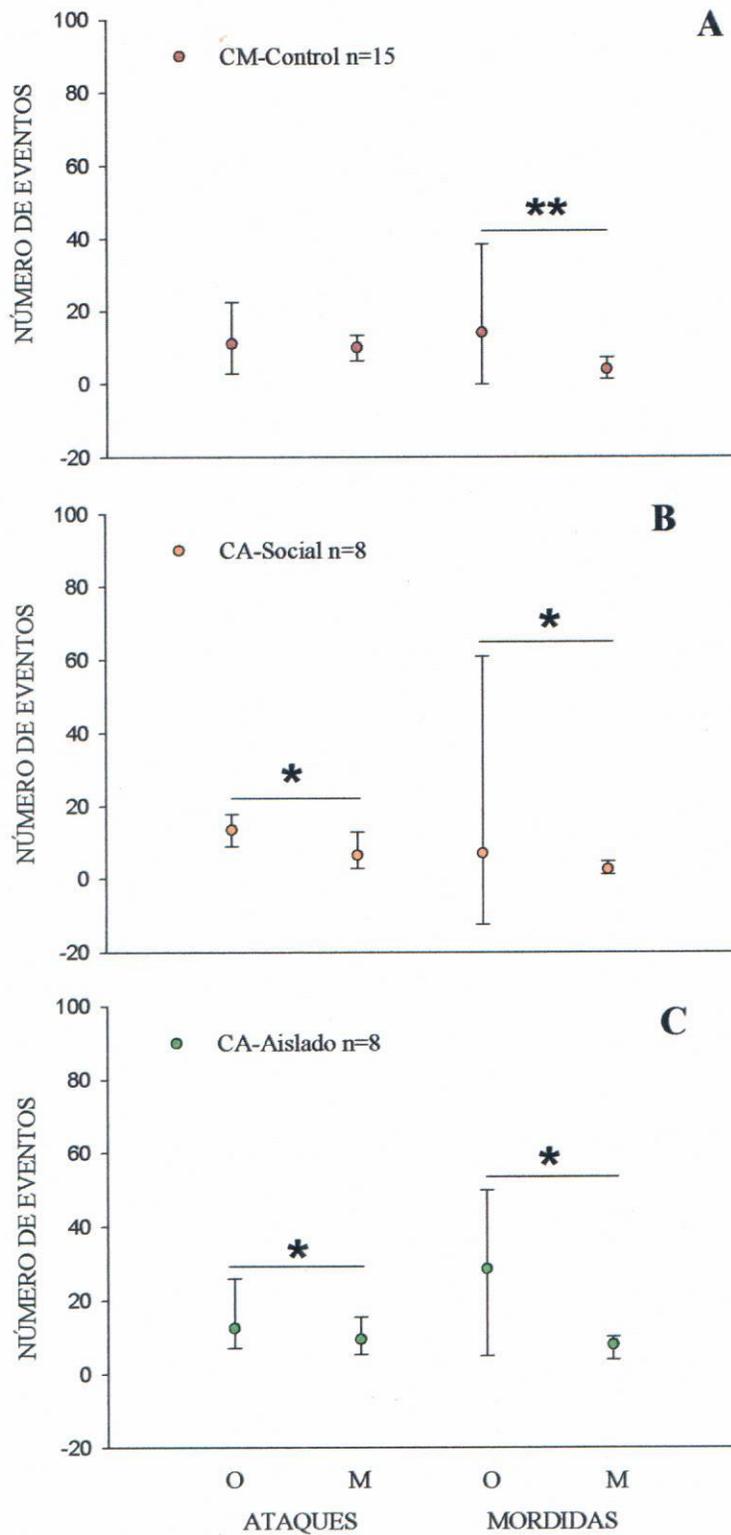


Figura 16. Frecuencia de ataques y mordidas de la hembra residente durante la prueba de agresión territorial (O) y maternal (M). Mediana, desviación estándar * $p < 0.05$, Wilcoxon.

8. DISCUSIÓN.

Los resultados del presente estudio muestran que la separación total de la madre y de los hermanos de camada durante el periodo postnatal (PN, del nacimiento al destete), a través del paradigma de crianza artificial (CA), afectan el desarrollo de la agresión maternal pero no la agresión territorial en la rata hembra adulta. Además, la interacción social con los compañeros de camada durante dicho período participa en el desarrollo de conductas sociales.

8.1 PESO CORPORAL.

Aunque se ha descrito que el aislamiento antes del destete incrementa la ansiedad y la agresión en determinados contextos sociales (Nakamura y cols. 2003, Kikusiu y cols. 2004), este efecto ha sido atribuido a un déficit nutricional más que a la ruptura del vínculo materno. De manera particular, se ha mostrado que la desnutrición antes del destete ocasiona una disminución en el metabolismo de la serotonina (5-HT), así como un incremento de conductas agresivas en la etapa adulta (Randt y cols. 1975, Barreto Medeiros y cols. 2001).

Pese a que, en este estudio las crías CA-Aisladas y CA-Sociales mostraron una disminución significativa en el peso en el día 15 PN, en comparación con el grupo CM-Control (figura 9-A), la diferencia de peso en los días siguientes, hasta el destete, no fue significativa. Lo anterior sugiere que, las diferencias conductuales encontradas en ambas pruebas de agresión no se debieron a que las ratas hayan experimentado desnutrición durante el período postnatal. Incluso, si el efecto sobre la agresión hubiera sido a causa de la desnutrición, entonces las hembras CA-Sociales también hubieran mostrado el mismo nivel de agresión que el grupo CA-Aislado. Además, cuando las hembras CA-Aisladas fueron madres su producción láctea no fue afectada, ya que no hubo diferencia en el peso de las camadas entre los grupos.

8.2 AGRESIÓN TERRITORIAL.

Contrario a lo esperado en las predicciones del presente trabajo, las hembras vírgenes que de pequeñas fueron aisladas (CA-Aislado) mostraron niveles de agresión similares, en cuanto a frecuencia y duración de las conductas, a los desplegados por las hembras criadas por su madre (CM-Control). Sin embargo, el hecho que las hembras CA-Aisladas mostraron una

menor latencia para inducir la primera postura de sumisión y la postura de sumisión completa en las intrusas (figuras 10 A y B), puede sugerir que dichas hembras son más agresivas que los otros grupos, ya que la hembra intrusa se sometió más rápido. Otra explicación pudiera ser que, la separación antes del destete predispone a expresar este componente (atacar con prontitud) de la agresión.

Estos resultados discrepan con los datos reportados recientemente por Melo y cols. (2006), quienes encontraron que el tiempo que las ratas CA-Aisladas pasan atacando a la hembra intrusa es significativamente mayor que el manifestado por las hembras control. Esta discrepancia podría deberse a que la cepa utilizada por Melo y cols., fue *Sprague Dawley* y este estudio utilizó *Wistar*, lo cual podría coincidir con las diferencias entre estas dos cepas de ratas en el despliegue de la conducta maternal (Jakubowski y Terckel 1985), sueño y locomoción (Tang y cols. 2005).

En general, estos resultados sugieren que el cuidado que la madre provee a la progenie durante el periodo postnatal, así como las interacciones con los compañeros de camada influyen en el desarrollo de la agresión territorial de las hembras, aunque datos previos en ratas (Preece y cols. 2004) han sugerido que el desarrollo de sistemas neurales (hipocampo y corteza prefrontal) que regulan la expresión de la agresión ocurre durante el periodo postnatal, hasta el momento no existen datos concluyentes al respecto.

8.3 AGRESIÓN MATERNAL.

Nuestros datos muestran que el aislamiento total durante la etapa previa al destete incrementa significativamente un componente de la agresión maternal (número de mordidas) en la etapa adulta. Interesantemente, los estímulos sociales provenientes de los hermanos durante el aislamiento revierten parcialmente dicho efecto. Lo cual coincide con reportes anteriores donde hembras separadas de su madre, por periodos cortos, antes del destete fueron más agresivas en la etapa adulta que aquellas que no fueron separadas (Padoin y cols. 2001, Giovenardi y cols. 2005).

En la rata, la agresión inducida por el aislamiento en la etapa juvenil en machos y hembras puede revertirse con periodos posteriores de socialización (Eion y Morgan 1977). Sin embargo, esta reversión parece solo ocurrir en la rata, ya que en otras especies como el ratón,

gérbil y cuyo no se ha observado (Einon y cols. 1981). Por lo tanto, aunque en determinadas ocasiones los modelos animales nos permiten extrapolar los resultados a otras especies, ello debe realizarse con precaución. Previo a las observaciones de Einon y colaboradores (1981), se había sugerido un posible periodo crítico, comprendido entre los días 25-45 PN, durante el cual se moldea la interacción social en ratas (Nováková 1966 citado en Janus 1987, Einon y Morgan 1977). Lo anterior concuerda con estudios posteriores donde se hace énfasis en la importancia del juego-lucha en este periodo y su repercusión en las relaciones sociales de la etapa adulta (Pellis y cols. 1997). Sin embargo, de acuerdo a nuestros resultados el efecto del aislamiento durante el periodo postnatal sobre la agresión no es revertido por la subsecuente socialización, ya que tanto las hembras experimentales (CA-Aisladas y CA-Sociales) como las hembras controles (CM-Control) fueron agrupadas desde la etapa juvenil hasta la etapa adulta y el efecto en las ratas CA fue permanente. Por lo tanto, la etapa antes del destete también representa un periodo crítico para otras conductas sociales, como lo es la agresión maternal.

La crianza de ratas en aislamiento representa un modelo ideal para estudiar el origen de desórdenes afectivos. Animales puestos en aislamiento total a menudo son más agresivos. Sin embargo, el aislamiento afecta la conducta en otros aspectos. Por ejemplo, los animales tienden a ser más activos y mostrar mayor grado de excitabilidad, incluso ante eventos triviales. Así, ratas que fueron aisladas de pequeñas, siendo adultas muestran una reducción de la activación dopaminérgica en la corteza prefrontal media (Heidbreder y cols. 2000), déficit de atención, hiperactividad (Lovic y Fleming 2004), disminución de aprendizaje social y descuido maternal (Gonzalez y cols. 2001, Melo y cols. 2006).

Además, se sabe que la separación maternal (SM) parcial, así como las variaciones naturales de la conducta maternal afectan el desarrollo de sistemas neuroquímicos como el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal que regula la respuesta al estrés (Meaney y cols. 1996 citado en Pedersen 2004) y el “circuito maternal” que regula la conducta maternal (Fleming y Korsmit 1996). De manera similar, en nuestro estudio, es probable que la SM modifique el desarrollo de sistemas neuroquímicos que participan en conductas sociales como la agresión. Por ejemplo, en ratones se ha reportado que el aislamiento social después del destete afecta la expresión de genes relacionados a la neurotransmisión serotoninérgica en diversas áreas del cerebro como son corteza prefrontal, hipotálamo y el cerebro medio (Bibancos y cols. 2007).

Sin embargo, nuestros datos no son suficientes para respaldar tal aseveración. Para esto, es necesario en futuras investigaciones determinar si áreas neurales (por ejemplo, núcleo paraventricular hipotalámico) que intervienen en la expresión de la agresión maternal son afectados como resultado del aislamiento social.

En primates no humanos, se ha mostrado la existencia de una relación entre el establecimiento de relaciones sociales y las rutas de oxitocina (OT) y vasopresina en el cerebro. Así, adultos que fueron criados lejos de su madre, muestran deficiencias en el establecimiento de vínculos sociales, así como una disminución en los niveles de OT y de receptores a vasopresina (v1) en comparación con los que crecieron en el nido maternal. De manera similar, la crianza en condiciones adversas (exposición continua a factores estresantes) favorece el incremento de conductas agresivas y en general de alteraciones en el desarrollo y funcionamiento del sistema de 5-HT (Chiavegatto y Nelson 2003), cortisol y dopamina (DA) (Pedersen 2004) en la etapa adulta.

Algunas alteraciones de las conductas asociadas con la crianza en aislamiento están relacionadas con una función serotoninérgica alterada en el hipocampo y la corteza prefrontal en ratas (Preece y cols. 2004). En ratones machos, el aislamiento induce mayor agresión, así como una disminución en el metabolismo de 5-HT en diversas áreas del cerebro (Valzelli y Bernasconi 1979, Kempf y cols. 1984, Rilke y cols. 1998, 2001 citados en Chiavegatto y Nelson 2003). Así, la crianza en aislamiento produce disminución significativa en la densidad de receptores 5-HT 1_A y 2_A en el cerebro anterior de ratas adultas (Preece y cols. 2004). Además, otros estudios muestran que el aislamiento social después del destete afecta circuitos que son específicos para la expresión de la agresión maternal. Así, se ha mostrado que la crianza en aislamiento disminuye la cantidad de receptores a 5-HT en el tallo cerebral de ratas lo cual explica la disminución de la actividad serotoninérgica durante encuentros agresivos entre hembras nodrizas.

8.4 CONDUCTAS SOCIALES.

En nuestro estudio observamos como índice de conducta social, la frecuencia y duración del olfateo de la hembra residente hacia la cabeza y el cuerpo de la intrusa. Los registros nos indicaron que la frecuencia y duración de olfateo no difiere entre el grupo CA-Aislado y el

CM-Control (tabla 4 y figura 14). Lo cual coincide con datos anteriores, donde la separación maternal temprana y la exposición a estímulos aversivos no alteran la frecuencia de olfateo hacia un intruso durante una prueba de agresión (Padoin y cols. 2001). De manera inesperada las hembras del grupo CA-Social olfatearon con mayor frecuencia, durante la prueba de agresión maternal, que las hembras CA-Aisladas e incluso que las ratas CM-Control (figuras 14 A y B).

Resultados similares han sido reportados en ratas hembras criadas en aislamiento y que recibieron estímulos olfativos y sociales. Es decir, estas hembras mostraron un incremento en la frecuencia y duración de olfateo de cabeza y cuerpo durante una prueba de aprendizaje social, que aquellas aisladas totalmente (Melo y cols. 2006). Contrario a nuestros resultados, entre el grupo estimulado (CA-Social) y el grupo control (CM-Control) no se observaron diferencias. Esta contradicción bien podría deberse a que, en nuestro trabajo, las crías que acompañaron al grupo CA-Social en su periodo de aislamiento provinieron de diferentes camadas y de ambos sexos. Recordemos que, las crías donadoras eran reemplazadas cada 12 hrs. por otras recién alimentadas, lo que permitió al grupo CA-Social tener una mayor diversidad de interacciones que las crías control. Además, también tuvieron una estimulación olfativa mayor. Desafortunadamente nuestros datos no son suficientes para respaldar tal supuesto y los reportes que existen en relación al enriquecimiento social del ambiente han sido realizados durante la etapa posterior al destete.

8.5 COMPARACIÓN ENTRE AGRESIÓN TERRITORIAL Y MATERNAL.

En las interacciones sociales, los participantes influyen de manera mutua en su conducta. De esta forma, la respuesta de un animal ante el ataque de su oponente va a moldear la siguiente conducta del atacante. Nuestros resultados muestran como usualmente la hembra residente responde diferente ante la conducta del intruso en las dos pruebas de agresión realizadas. Así, las hembras residentes de ambos grupos necesitaron morder menos a la intrusa en la prueba de agresión maternal (figuras 16 A y B) para someterla más rápido que en la de agresión territorial (figuras 15 A y B). Esto nos sugiere que, las hembras intrusas no persisten en acercarse a las madres residentes después de la conducta de sumisión, por lo tanto las hembras residentes no continúan mordiendo. Por el contrario, en los encuentros agresivos entre

hembras vírgenes, la hembra intrusa parece no temerle a la residente, por ello necesita más mordidas para someterse.

Ahora bien, acerca de la influencia de la respuesta del intruso en la conducta del residente del grupo CA-Aislado, nuestros datos no muestran un efecto claro. Las hembras de este grupo parecen interpretar de manera diferente, a los grupos CA-Social y CM-Control, la conducta de sumisión de su oponente. Lo cual puede observarse en la figura 17-C, donde la frecuencia de mordidas hacia el intruso después de la primera sumisión fue mayor durante la prueba de agresión maternal que en la territorial, aún cuando la latencia para someter al intruso no sea diferente entre las pruebas. Estos resultados apoyan lo encontrado anteriormente por Lovic y Fleming (2004, quienes reportaron que ratas que fueron aisladas de la madre y de sus compañeros de camada (CA-Aislado) durante el período postnatal tienen déficit de atención hacia los estímulos ambientales. Otra posible explicación de esta falta de respuesta hacia la conducta de un conespecífico es que el nivel de agresión de estas ratas es mayor que la de aquellas que son criadas con su madre y sus hermanos. Es importante señalar que los datos del presente trabajo muestran que el nivel de agresión maternal de las ratas CA-Aisladas es mayor que la de los animales CM-Control y de las CA-Sociales, pero no es posible concluir si este efecto es positivo para la progenie o no.

De acuerdo con nuestros resultados, las hembras vírgenes expresaron conductas agresivas hacia un extraño dentro de su territorio. Además, no se observaron diferencias significativas entre los grupos (tabla 2). Ello discrepa con lo reportado en la literatura, ya que se ha descrito que en ratones, las hembras no expresan agresión sin motivo aparente como ocurre en los machos (Monaghan y Glickman 1993). Sólo llegan a mostrar agresión, incluso mayor a la de los machos, en condición lactante. En estado no gestante muestran de manera usual menor agresión que siendo madres. Por un lado, se sabe que hembras no gestantes, ovariectomizadas (Mayer y Rosenblatt 1993, Ferreira y cols. 2002) y sin exposición a críos (McDermott y Gandelman 1979), no suelen mostrar comportamientos agresivos ante la presencia de un extraño dentro de su territorio. Por otro, se ha reportado que algunas hembras de la cepa *Wistar* muestran un tipo de agresión relacionado a la etapa no receptiva (metaestro y diestro) de su ciclo estral, la cual es eliminada por la ovariectomía (Ho y cols. 2001).

Por lo tanto, la discrepancia entre nuestros resultados y los reportes previos puede deberse a que las hembras vírgenes utilizadas en nuestro estudio carecían de un estado hormonal homogéneo, como las hembras ovariectomizadas de las publicaciones mencionadas. Por ello, la amplitud de la varianza de las conductas agresivas observadas pudo deberse a que la etapa del ciclo estral de las hembras no fue controlada en ningún grupo (CA- Aislado, CA-Social, CM-Control) ni sujeto (residente, intrusa). Así, en todos nuestros grupos hubo la misma probabilidad de que las ratas se encontraran en los distintos estadios hormonales.

En la prueba de agresión territorial, debido a que no se controló el estado reproductivo de los animales (residentes e intrusas) y teniendo en cuenta que las hembras en periodo no receptivo son más agresivas que las que se encuentran en otro estadio, es probable que este aspecto haya afectado los resultados. En cambio, en la prueba de agresión maternal, donde todas las hembras residentes eran lactantes y por lo tanto su condición hormonal debió ser similar, puede observarse como la variación de los datos disminuyó considerablemente en todos los grupos (figura 16).

Resulta evidente que las diferencias de los resultados entre las pruebas de agresión se deben al estado hormonal de las hembras. No debemos olvidar que, en la prueba de agresión territorial desconocemos la fase del ciclo estral en el que se encontraban las ratas, en cambio durante la prueba de agresión maternal todas las hembras residentes estaban lactando. Entonces, el efecto que observamos en la primera prueba puede estar influido además del aislamiento durante el período postnatal, por el estado hormonal de las hembras. En cuanto a la segunda prueba, los resultados observados están claramente influidos por el tipo de crianza (maternal o en aislamiento). Por tanto, los tipos de agresión analizados fueron distintos.

Es necesario mencionar que la inconsistencia entre los resultados de la presente tesis y los encontrados en otros trabajos podría deberse en parte a la multitud de modalidades de separación maternal (SM) que han sido utilizadas y a sus correspondientes diferencias metodológicas. Así pues, se ha demostrado que factores como la etapa de desarrollo en la que se realiza la separación, la duración de esta y el periodo posterior en el que se analiza la conducta pueden influir en el resultado de los estudios de SM (Lehmann y Feldon 2000, Giovenardi y cols. 2005).

Es importante recordar que a las crías CA no solo se les retiraron los estímulos de la madre, a pesar de que se les dio fórmula láctea que sustituyera la leche materna y nos aseguramos que el peso no fuera diferente estadísticamente de las criadas con su madre (CM), tuvieron la desventaja de no tener acceso a la succión, como estimulación física. En ratas (Cramer CP 1988) y ovejas (Val-Laillet y cols. 2006) se ha mostrado que la succión como estímulo oral tiene implicaciones no nutricionales. De manera particular en ovejas, la succión tiene un fuerte impacto en el establecimiento de relaciones filiales. Así, las ovejas que fueron amamantadas por sus madres, cuando adultas mostraron preferencia por otras ovejas a diferencia de aquellas que no tuvieron dicha experiencia (Val-Laillet y cols. 2006). Además, en rata se ha documentado que la experiencia de succionar influye en cambios anatómicos del cerebro (volumen del hipocampo) y en el incremento de peso (Cramer CP 1988).

En nuestro trabajo, de manera indirecta pudimos notar que las crías CA-Sociales tendían a succionar partes del cuerpo de las crías donadoras. En cambio, las CA-Aisladas a diferencia de las CA-Social no tuvieron un cuerpo diferente al suyo que succionar durante el período postnatal. Estas observaciones nos dejan pensando que tal vez la estimulación oral este influyendo en las conductas sociales que mostró cada grupo. Sin embargo los datos no pueden ser concluyentes, por ello se propone que en posteriores experimentos se explore esta posibilidad.

Finalmente, este es el primer estudio que se realiza para relacionar el aislamiento social durante todo el periodo postnatal y su efecto en la etapa adulta en la conducta agresiva de las hembras. Por lo que los resultados obtenidos sugieren continuar con exploraciones más específicas que incluyan mayor control de variables.

9. CONCLUSIÓN.

Los resultados del presente estudio apoyan la hipótesis de que la separación de la madre y de los compañeros de camada durante el periodo postnatal (antes del destete) incrementa la agresión en la rata hembra adulta. Nuestros datos indican que durante el periodo postnatal las interacciones con la madre y con los hermanos tienen efectos diferentes sobre las conductas sociales en la etapa adulta. De esta forma, el aislamiento total (CA-Aislado) aumentó la agresión maternal (menor latencia para atacar y mayor número de ataques y mordidas), en cambio el acompañamiento de críos (CA-Social) de la misma edad revirtió parcialmente dicho efecto. En el otro extremo, la sobre estimulación social y olfativa (grupo CA-Social, se le expuso continuamente a diferentes críos en el recipiente de aislamiento) parece aumentar el contacto social (mayor frecuencia de olfateo de cabeza y cuerpo) en la etapa adulta, comparados con críos que crecieron con su madre y hermanos.

Contrario a nuestras expectativas, las hembras vírgenes mostraron mayor agresión territorial que en estado lactante (agresión maternal), aunque en la primera prueba no se observaron diferencias en el comportamiento entre grupos.

Otro punto importante es que la respuesta del sujeto observado esta influida tanto por su historia como por la del sujeto con el que interactúa. Así, durante la agresión maternal el intruso mostró sumisión más rápido y posteriormente hubo menor número de enfrentamientos. En cambio durante la agresión territorial, el intruso continuo intentado interactuar lo que se reflejó en la frecuencia de conductas agonistas registradas.

Por último, nuestros resultados muestran que la etapa antes del destete también representa un periodo crítico para otras conductas sociales, como lo es la agresión maternal. Representando la estimulación de los hermanos y la madre puntos clave para el desarrollo de las crías.

Grupos	Agresión territorial	Agresión maternal	Conductas sociales
CA-Aislado	NE	+	NE
CA-Social	NE	-	+
CM-Control	NE	NE	NE

+: aumentó

-: disminuyó

NE: No hubo efecto

10. PERSPECTIVAS.

Para conocer a detalle la influencia del ciclo estral de las ratas residente e intruso en la conducta agresiva, de acuerdo a los distintos tipos de crianza. Se sugiere realizar pruebas de agresión territorial en la fase no receptiva, etapa en la que las hembras muestran agresión, de ambos sujetos utilizando los mismos grupos de crianza.

De manera similar para futuros trabajos se recomienda identificar los circuitos nerviosos que intervienen en la ejecución de la agresión maternal y pudieran ser afectados de manera estructural o funcional por la separación maternal y social en la etapa previa al destete. En particular, podría medirse la actividad serotoninérgica, ya que cómo sabemos el aislamiento interviene en la ontogenia adecuada del sistema serotoninérgico, el cual es relevante para la expresión de la conducta agresiva.

Con respecto al desarrollo de otras conductas sociales, de nuestro estudio surgen tres inquietudes. Primera, la exploración amplia del efecto del enriquecimiento social del ambiente podría ayudarnos a entender el incremento de la interacción social que observamos en el grupo CA-Social. Segunda, esclarecer si las estimulaciones de la madre y de los hermanos influyen de manera diferencial en las interacciones sociales posteriores, es decir, qué ocurre en crías que crecen solas con la madre pero sin hermanos. Tercero, discernir el efecto de la privación física de succionar en distintos comportamientos sociales.

Además, resultaría interesante analizar de manera detallada si existe alguna relación entre el tipo de conducta agresiva del residente y la conducta de sumisión que muestra el intruso, como parece observarse en las gráficas de respuesta del intruso del grupo CM-Control.

11. REFERENCIAS

- Alcock J. 1989. *Animal Behaviour: An Evolutionary Approach*. Editorial Sinauer. Sunderland Massachusetts. Pp. 235-522.
- Barreto Medeiros JM, Mendes da Silva C, Botelho Sougey E, Audisio Costa J, Barbosa de Castro CMM y Manhães de Castro R. 2001. Action of selective serotonin reuptake inhibitor on aggressive behavior in adult rat submitted to the neonatal malnutrition. *Arq Neuropsiquiatr* 59: 499-503.
- Beach FA y Jaynes J. 1954. Effects of early experience upon the behavior of animals. *Psychol Bulletin* 51: 239-363.
- Bibancos T, Jardim DL, Aneas I y Chiavegatto S. 2007. Social isolation and expression of serotonergic neurotransmission-related genes in several brain areas of male mice. *Genes Brain Behav* 6: 529-539.
- Blanchard RJ, Blanchard DC, Takahashi T y Kelley MJ. 1977. Attack and defensive behavior in the albino rat. *Anim Behav* 25: 622-634.
- Blanchard RJ, Wall PM y Blanchard DC. 2003. Problems in the study of rodent aggression. *Horm Behav* 44: 161-170.
- Bosch OJ, Meddle SL, Beiderbeck DI, Douglas AJ y Neumann ID. 2005. Brain oxytocin correlates with maternal aggression: link to anxiety. *J Neurosci* 25: 6807-6815.
- Brain PF. 1975. What does individual housing mean to a mouse? *Life Sci* 16: 187-2000.
- Brain PF y Haug M. 1992. Hormonal and neurochemical correlates of various forms of animal "aggression". *Psychoneuroendocrinology* 17: 537-551.
- Carden SE y Hofer MA. 1992. Effect of a social companion on the ultrasonic vocalizations and contact responses of 3-day-old rat pups. *Behav Neurosci* 106: 421-426.
- Chiavegatto S y Nelson RJ. 2003. Interaction of nitric oxide and serotonin in aggressive behavior. *Horm Behav* 44: 233-241.
- Cramer CP. 1988. Experience during suckling increases weight and volume of rat hippocampus. *Dev Brain Res* 42: 151-155.
- Day H, Seay BM, Hale P y Hendricks D. 1982. Early social deprivation and the ontogeny of unrestricted social behavior in the laboratory rat. *Dev Psychobiol* 15: 47-59.

- Day-Wilson KM, Jones DN, Southam E, Cilia J y Totterdell S. 2006. Medial prefrontal cortex volume loss in rats with isolation rearing-induced deficits in prepulse inhibition of acoustic startle. *Neurosci* 141: 1113-1121.
- Einon DF y Morgan MJ. 1977. A critical period for social isolation in the rat. *Dev Psychobiol* 10: 123-132.
- Einon DF, Humphreys AP, Chivers SM, Field S y Naylor V. 1981. Isolation has permanent effects upon the behavior of the rat, but not the mouse, gerbil, or guinea pig. *Dev Psychobiol* 14: 343-355.
- Erskine MS, Barfield RJ y Goldman BD. 1978. Intraspecific fighting during late pregnancy and lactation in rats and effects of litter removal. *Behav Biol* 23: 206-218.
- Erskine MS, Barfield RJ y Goldman BD. 1980. Postpartum aggression in rats: II. Dependence on maternal sensitivity to young and effects of experience with pregnancy and parturition. *J Com Physiol Psych* 94: 495-505.
- Ferguson DE. 2000. En: *Motivation: A Biosocial and Cognitive Integration of Motivation and Emotion*. Editorial Oxford University. Pp. 239-280.
- Ferreira A, Dahlöf LG, Hansen S. 1987. Olfactory mechanisms in the control of maternal aggression, appetite, and fearfulness: effects of lesions to olfactory receptors, mediodorsal thalamic nucleus, and insular prefrontal cortex. *Behav Neurosci* 101: 709-717.
- Ferreira A y Hansen S. 1986. Sensory control of maternal aggression in *Rattus norvegicus*. *J Comp Psychol* 100: 173-177.
- Ferreira CA, Pereira M, Agrati D, Uriarte N y Fernández-Guasti A. 2002. Role of maternal behavior on aggression, fear and anxiety. *Physiol Behav* 77: 197-204.
- Ferreira CA y Picazo PO. 2002. Agresión y Frustración: la Agresión Maternal como Modelo. En: *Motivación Animal y Humana*. Editorial Manual Moderno. México DF. pp. 235-246.
- Flandera V y Nováková V. 1974. Effect of mother on the development of aggressive behavior in rats. *Dev Psychobiol* 8: 49-54.

- Fleming AS, Lovic V, Gonzalez A, Ree S, Kraemer B y Melo AI. 2002. Mothering begets mothering: the transmission of behaviour and its neurobiology across generations. *Pharmacol Biochem Behav* 73: 61-75.
- Fleming AS y Korsmit M. 1996. Plasticity in the maternal circuit: effects of maternal experience on Fos-Lir in hypothalamic, limbic, and cortical structures in the postpartum rat. *Behav Neurosci* 110:567-582.
- 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* 23: 673-685.
- Foroud A, Whishaw IQ y Pellis SM. 2004. Experience and cortical control over the pubertal transition to rougher play fighting in rats. *Behav Brain Res* 149: 69-76.
- Frazier CR, Traidor BC, Cravens CJ, Whitney TK y Marler CA. 2006. Parental behavior influences development of aggression and vasopressin expression in male California mouse offspring. *Horm Behav* 50: 699-707.
- Gandelman R y Simon NG. 1980. Postpartum fighting in the rat: nipple development and the presence of young. *Behav Neural Biol* 28: 350-360.
- Giovenardi M, de Azevedo MS, da Silva SP, Hermel ED, Gomes CM y Lucion AB. 2005. Neonatal handling increases fear and aggression in lactating rats. *Physiol Behav* 86: 209-217.
- Giovenardi M, Padoin MJ, Cadore LP y Lucion AB. 1997. Hypothalamic paraventricular nucleus, oxytocin, and maternal aggression in rats. *Ann NY Acad Sci* 807: 606-609.
- Gonzalez A, Lovic V, Ward GR, Wainwright PE y Fleming AS. 2001. Intergenerational effects of complete maternal deprivation and replacement stimulation on maternal behavior and emotionality in female rats. *Dev Psychobiol* 38: 11-32.
- Gray P y Chesley S. 1984. Development of maternal behavior in nulliparous rats (*Rattus norvegicus*): effects of sex and early maternal experiences. *J Comp Psy* 28: 91-99.
- Hall WG. 1975. Weaning and growth of artificially reared rats. *Science* 190: 1313-1315.

- Haller J, Tóth M y Halász J. 2005. The activation of raphe serotonergic neurons in normal and hypoarousal-driven aggression: a double labeling study in rats. *Behav Brain Res* 161: 88-94.
- Hansen NS y Gammie SC. 2006. Maternal aggression: new insights from Egr-1. *Brain Res* 1108: 147-156.
- Heidbreder CA, Weiss IC, Domeney AM, Pryce C, Homberg J, Hedou G, Feldon J, Moran MC y Nelson P. 2000. Behavioral, neurochemical and endocrinological characterization of the early social isolation syndrome. *Neuroscience* 100: 749-768.
- Hendricks TJ, Fyodorov DV, Wegman LJ, Lelutiu NB, Pehek EA, Yamamoto B, Silver J, Weeber EJ, Sweatt JD y Deneris ES. 2003. Pet-1 ETS gene plays a critical role in 5-HT neuron development and is required for normal anxiety-like and aggressive behavior. *Neuron* 37: 233-247.
- Ho H-P, Olsson M, Westberg L, Melke J y Eriksson E. 2001. The serotonin reuptake inhibitor fluoxetine reduces sex steroid-related aggression in female rats: an animal model of premenstrual irritability? *Neuropsychopharm* 24: 502-510.
- Hoffer MA. 1994. Early relationships as regulators of infant physiology and behavior. *Act Paediatric Supplement* 397: 9-18.
- Janus K. 1987. Early separation of young rats from the mother and the development of play fighting. *Physiol Behav* 39: 471-476.
- Jakubowski M y Terkel J. 1985. Incidence of pup killing and parental behavior in virgin female and male rats (*Rattus norvegicus*): differences between Wistar and Sprague-Dawley stocks. *J Comp Psychol* 99: 93-97.
- Johnsgard PA. 1967. *Animal Behavior*. Editorial Brown Co. EUA. pp. 57-60.
- Kikusui T, Takeuchi Y y Mori Y. 2004. Early weaning induces anxiety and aggression in adult mice. *Physiol Behav* 81: 37-42.
- King JA y Gurney NL. 1954. Effect of early social experience on adult aggressive behavior in C57BL/10 mice. *J Comp Physiol Psychol* 47: 326-330.

- Kolunie JM y Stern JM. 1995. Maternal aggression in rats: effects of olfactory bulbectomy, ZnSO₄-induced anosmia, and vomeronasal organ removal. *Horm Behav* 29: 492-518.
- Lehmann J y Feldon J. 2000. Long-term biobehavioral effects of maternal separation in the rat: consistent or confusing? *Rev Neurosci* 11: 383-408.
- Levine S, Haltmeyer GC, Karas GG y Denenberg VH. 1967. Physiological and behavioral effects of infantile stimulation. *Physiol Behav* 2: 55-59.
- Lonstein JS y Gammie SC. 2002. Sensory, hormonal, and neural control of maternal aggression in laboratory rodents. *Neurosci Biobehav Rev* 26: 869-888.
- Lovic V y Fleming AS. 2004. Artificially-reared female rats show reduced prepulse inhibition and deficits in the attentional set shifting task-reversal of effects with maternal-like licking stimulation. *Behav Brain Res* 148: 209-219.
- Lubin DA, Elliot JC, Black MC y Johns JM. 2003. An oxytocin antagonist infused into the central nucleus of the amygdala increases maternal aggressive behavior. *Behav Neurosci* 117: 195-201.
- Lucion AB, Almeida RM y Marques AB. 1994. Influence of the mother on development of aggressive behavior in male rats. *Physiol Behav* 55: 685-689.
- Manning A y Stamp DM. 1992. *An Introduction to Animal Behaviour*. Editorial Cambrige. EUA. pp. 97-100.
- Marler PR y Hamilton III WJ. 1966. *Mechanisms of Animal Behavior*. Editorial John Wiley and Sons. EUA. Pág. 670.
- Mayer AD, Ahdieh HB y Rosenblatt JS. 1990a. Effects of prolonged estrogen-progesterone treatment and hypophysectomy on the stimulation of short-latency maternal behavior and aggression in female rats. *Horm Behav* 24: 152-173.
- Mayer AD, Monroy MA y Rosenblatt JS. 1990b. Prolonged estrogen-progesterone treatment of nonpregnant ovariectomized rats: factors stimulating home-cage aggression and short-latency maternal behavior. *Horm Behav* 24: 342-364.
- Mayer AD y Rosenblatt JS. 1987. Hormonal factors influence the onset of maternal aggression in laboratory rats. *Horm Behav* 21: 253-267.

- Mayer AD y Rosenblatt JS. 1993. Persistent effects on maternal aggression of pregnancy but not of estrogen/progesterone treatment of nonpregnant ovariectomized rats revealed when initiation of maternal behavior is delayed. *Horm Behav* 27: 132-155.
- McDermott NJ y Gandelman R. 1979. Exposure to young induces postpartum-like fighting in virgen female mice. *Physiol Behav* 23: 445-448.
- Melchior LK, Ho H-P, Olsson M, Annerbrink K, Hedner J y Eriksson E. 2004. Association between estrus cycle-related aggression and tidal volume variability in female Wistar rats. *Psychoneuroendocrinol* 29: 1097-1100.
- Melo AI, Lovic V, Gonzalez A y Fleming AS. 2006. Maternal and littermate deprivation disrupts maternal behavior and social-learning of food preference in adulthood: tactile stimulation, nest odor, and social rearing prevent these effect. *Dev Psychobiol* 48: 209-219.
- Messer M, Thoman EB, Terrasa GA y Dallman PR. 1969. Artificial feeding of infant rats by continuous gastric infusion. *J Nut* 98: 404-410.
- Miczek KA, Fish EW y De Bold JF. 2003. Neurosteroids, GABA_A receptors, and escalated aggressive behavior. *Horm Behav* 44: 242-257.
- Monaghan EP y Glickman SE. 1993. Hormones and aggressive behavior. En: *Behavioral Endocrinology*. Becker JB, Breedlone MS y Crews D (eds), Editorial A Bradford Book The MIT. Pp. 261-285.
- Mos J, Oliver B, van Oorschot R y Dijkstra H. 1984. Different test situations for measuring offensive aggression in male rats do not result in the same wound patterns. *Physiol Behav* 32: 453-456.
- Moya-Albiol L. 2004. Bases neurales de la violencia humana. *Rev Neurobiol* 38: 1067-1675.
- Moyer KE. 1968. Kinds of aggression and their physiological basis. *Commun Behav Biol* 2: 65-87.
- Nakamura K, Kikusui T, Takeuchi Y y Mori Y. 2003. The influence of early weaning on aggressive behavior in mice. *J Vet. Med Sci* 65: 1347-1349.

- Padoin MK, Cadore LP, Gomes CM, Barros HM y Lucion AB. 2001. Long-lasting effects of neonatal stimulation on the behavior of rats. *Behav Neurosci* 115: 1332-1340.
- Parmigiani S, Palanza P, Rodgers J y Ferrari PF. 1999. Selection, evolution of behavior and animal models in behavioral neuroscience. *Neurosci Biobehav Rev* 23: 957-970.
- Pedersen CA. 2004. Biological aspects of social bonding and the roots of human violence. *Ann NY Acad Sci* 1036: 106-127.
- Pellis SM, Field EF, Smith LK y Pellis VC. 1997. Multiple differences in the play fighting of male and female rats. Implications for the causes and functions of play. *Neurosci Biobehav Rev* 21: 105-120.
- Preece MA, Dalley JW, Theobald DE, Robbins TW y Reynolds GP. 2004. Region specific changes in forebrain 5-hydroxytryptamine1A and 5-hydroxytryptamine2A receptors in isolation-reared rats: an in vitro autoradiography study. *Neurosci* 123: 725-732.
- Randt CT, Blizard DA y Friedman E. 1975. Early life undernutrition and aggression in two mouse strains. *Dev Psychobiol* 8: 275-279.
- Razzoli M, Cushing BS, Carter CS y Valsecchi P. 2003. Hormonal regulation of agonistic and affiliative behavior in female Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Horm Behav* 43: 549-553.
- Reite M y Short R. 1977. Nocturnal sleep in isolation-reared monkeys: evidence for environmental independence. *Dev Psychobiol* 10: 555-561.
- Renfrew JW. 2001. La Agresión y sus Causas. Editorial Trillas. México, DF. Pp.15-20.
- Simon NG. 2002. Hormonal processes in the development and expression of aggressive behavior. *Horm Brain Behav* 1: 365-373.
- Smart JL, Stephens DN, y Katz HB. 1983. Growth and development of rats artificially reared on a high or a low plane of nutrition. *Br J Nutr* 49: 497-506.
- Stern JM y Kolunie JM. 1991. Trigeminal lesions and maternal behavior in Norway rats: I. Effects of cutaneous rostral snout denervation on maintenance of nurturance and maternal aggression. *Behav Neurosci* 105: 984-997.
- Stern JM y Kolunie JM. 1993. Maternal aggression of rats is impaired by cutaneous anesthesia of the ventral trunk, but not by nipple removal. *Physiol Behav* 54: 861-868.

- Stockman ER. 1982. Aggressive experience and maternal aggression in the Mongolian gerbil. *Physiol Behav* 30: 319-321.
- Summers CH y Winberg S. 2006. Interactions between the neural regulation of stress and aggression. *J Exp Biol* 209: 4581-4589.
- Takahashi LK. 1990. Hormonal regulation of sociosexual behavior in female mammals. *Neurosci Biobehav Rev* 14: 403-413.
- Tang X, Liu X, Yang L y Sanford LD. 2005. Rat strain differences in sleep after acute mild stressors and short-term sleep loss. *Behav Brain Res* 160: 60-71.
- Val-Laillet D, Nowak R, Giraud S, Tallet C y Boivin X. 2006. Nonnutritive sucking: one of the major determinants of filial love. *Dev Psychobiol* 48: 220-232.
- Van den Berg CL, Van Ree JM y Spruijt BM. 1999. Sequential analysis of juvenile isolation-induced decreased social behavior in the adult rat. *Physiol Behav* 67: 483-488.

12. ANEXO

PROCEDIMIENTO PARA PREPARAR 500 ml. DE FÓRMULA LÁCTEA PARA RATA.

En 12.5 ml de agua añadir:

- a) ZnSO₄ 53 mg (0.053g)
- b) CuSO₄ 30 mg (0.030g)
- c) FeSO₄ 55 mg (0.055g)
- d) KCl 500 mg (0.5g)
- e) MgCl 500 mg (0,5g)

Mantener agitada continuamente para acelerar la disolución de los solutos. Después añadir:

- f) 1 bote de 500 ml leche evaporada (*Carnation*)
- g) 112.5 ml de agua destilada
- h) 17.5 g de proteína de soya y vitaminada (*Isomil*)
- i) 32.5 ml de aceite de maíz
- j) Methionine 500 mg (0.5 g)
- k) Tryptophane 250 mg (0.25g)
- l) Tricalcium phosphate (tribasic) 2.75 g
- m) Deoxycholic acid 50 mg (0.05 g)

Continuar agitando entre cada adición y después mezclar por 5 minutos en una licuadora de uso doméstico. A continuación vaciar en un frasco hermético previamente esterilizado y poner en agua a temperatura entre 60-65°C durante una hora y 30 minutos, para asegurar la pasteurización. Finalmente guardar en el refrigerador. Tomada de la Universidad de Iowa; Messer y cols. 1969, modificada por Smart y cols. 1983.

13. PUBLICACIONES.

A) CONGRESOS NACIONALES.

Melo AI, Lovic V, **Curiel MH** y Fleming AS. La separación maternal temprana: un modelo animal para el estudio del desarrollo de conductas agresivas y de esquizofrenia. 2005. IV Congreso Internacional de Cerebro y Mente: La Integración. Acapulco, Gro.

Hernández Curiel M, Pérez Ledezma M, Hoffman K, Melo AI. 2005. Efecto de la separación maternal y social de la camada durante el período postnatal sobre el desarrollo de la agresión ofensiva y maternal en la rata hembra. XLVIII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas. Guadalajara Jal.

Hernández Curiel M, Melo AI. 2005. Efecto de la experiencia temprana sobre el desarrollo de la agresión en la rata hembra adulta. Décimo Curso Internacional: Bases Biológicas de la Conducta. Tlaxcala, Tlax (premio al mejor cartel).

EFFECTO DE LA EXPERIENCIA TEMPRANA SOBRE EL DESARROLLO DE LA AGRESIÓN EN LA RATA HEMBRA ADULTA

Myrna Hernández-Curiel¹ y Melo Angel I²

¹Maestría en Ciencias Biológicas, Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala. ²Centro de Investigaciones en Reproducción Animal-CINVESTAV

En la mayoría de los animales que viven en colonias, las conductas sociales (afiliativas y agonistas) son esenciales para su sobrevivencia. Se ha propuesto que, además de los factores ambientales que inducen la expresión de esas conductas, los estímulos que provienen de la madre y los hermanos de camada después del parto (periodo postnatal) afectan el desarrollo de las crías. Sin embargo, la relación entre la experiencia postnatal y las conductas agonistas (e.g. agresión) aún no es del todo clara.

Para tratar de esclarecer esa relación se utilizaron crías de ratas de la cepa *Wistar* de 3-18 días de edad. Ellas fueron aisladas y mantenidas dentro de un sistema de crianza artificial con dos crías de la misma edad (CA-Social) o sin ellas (CA-Aislado). Para el grupo control, las crías fueron criadas por su madre (Control). Cuando adultas, se les realizó la prueba de agresión intruso-residente. Esta prueba consiste en introducir una hembra adulta en la caja de la hembra residente (CA-Social, CA-Aislado o Control) en el lado opuesto al que se encuentran en ese momento. Se filmaron los encuentros y se registró la latencia, duración y frecuencias de las conductas de agresión durante 10 minutos.

Los resultados de esta prueba indican que la frecuencia de postura de ataque, mordidas, luchas, y postura de sumisión completa en el intruso fue mayor en las hembras CA-Aisladas, que en las hembras Control ($p < 0.05$). Además, la latencia para iniciar el ataque e inducir la primera postura de sumisión en el intruso, fue menor en las CA-Aisladas que la mostrada por las Control y las CA-Social ($p < 0.05$). Las hembras CA-Social mostraron niveles de agresión similares a los desplegados por las hembras Control.

Estos datos apoyan la hipótesis de que los estímulos que provienen del cuidado maternal y de sus compañeros de camada durante el periodo postnatal, influyen en el desarrollo de la agresión.

CONACYT 188576 (MHC), CONACYT: SEP-2003-C02-43793

B) CONGRESOS INTERNACIONALES.

Hernandez-Curiel M, Perez-Ledezma M. Hoffman KL y Melo AI. 2005. Effect of maternal and littermate deprivation during the postnatal periodo on the development of maternal and offensive aggression in female rats. 38th Annual Meeting of Internacional Society for Developmental Psychobiology. Washigton, D.C. USA.



**International Society for
Developmental Psychobiology**

**38th Annual Meeting
Conference Program**

**November 9 - 12, 2005
Washington, D.C.**