



# Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

Administración de ácido valproico en el día 12.5 de gestación y el efecto sobre la memoria y la conducta sexual en ratas macho estimuladas en un ambiente enriquecido durante la vida posterior

## T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

P r e s e n t a

César Javik Dorantes Barrios

Dr. Oscar González Flores

Tlaxcala, Tlax.

Septiembre 2023



# Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

Administración de ácido valproico en el día  
12.5 de gestación y el efecto sobre la memoria y  
la conducta sexual en ratas macho estimuladas en  
un ambiente enriquecido durante la vida posterior

## T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE  
**DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

P r e s e n t a

César Javik Dorantes Barrios

**Comité Tutorial**

Dr. Oscar González Flores

Dr. Josué Antonio Camacho Candia

Dra. Verónica Reyes Meza

**Agradecimientos:**

Al Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta. (C.T.B.C.) Universidad Autónoma de Tlaxcala. Tlaxcala, México

Al Centro de investigación en Reproducción Animal, Universidad Autónoma de Tlaxcala- CINVESTAV, México.

A La Facultad de Ciencias para el Desarrollo Humano, Universidad Autónoma de Tlaxcala. Tlaxcala, México.

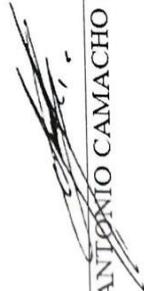
Al Consejo nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para la realización de este doctorado CVU 858453

**COORDINACIÓN DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA  
P R E S E N T E**

Los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del proyecto de tesis que **César Javik Dorantes Barrios** realiza para la obtención del grado de **Doctor 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 del ambiente enriquecido sobre la capacidad cognitiva en ratas macho que fueron administradas con ácido valproico en el día 12.5 de gestación”**.

Sin otro particular, aprovechamos para enviarle un cordial saludo.

**A T E N T A M E N T E**  
TLAXCALA, TLAX., A 21 DE AGOSTO DEL AÑO 2023

  
DR. JOSUÉ ANTONIO CAMACHO CANDIA

  
DRA. VERÓNICA REYES MEZA

  
DR. KURT LEROY HOFFMAN

  
DR. HUGO CANO RAMÍREZ

  
DR. RAYMUNDO DOMÍNGUEZ ORDOÑEZ

Índice	Pag.
Índice de figuras.....	1
Resumen.....	1
1 Introducción .....	1
2 Antecedentes.....	5
2.1 Trastorno espectro autista.....	5
2.2 El ácido Valproico como modelo de autismo en roedores.....	7
2.3 Función cognitiva: aprendizaje y memoria.....	9
2.4 Conducta sexual de la rata macho.....	11
2.5 Ambiente enriquecido.....	12
2.6 Efecto de AE en individuos expuestos al AVP durante la gestación .....	14
3 Justificación .....	15
4 Hipótesis.....	15
5 Objetivos .....	15
5.1 Objetivos generales.....	15
5.2 Objetivos específicos.....	15
6 Materiales y métodos.....	16
6.1 Sujetos.....	16
6.2 Administración de AVP.....	16
6.3 Criterio de selección de individuos valproicos.....	16
6.4 Ambiente enriquecido.....	17
6.5 Evaluación de la memoria espacial en el Laberinto acuático de Morris.....	17
6.6 Prueba de reconocimiento de objetos.....	18
6.7 Evaluación de la conducta sexual.....	18
6.8 Análisis estadísticos.....	19
7 Resultados.....	19
7.1 Pruebas de aprendizaje y memoria: Laberinto acuático de Morris.....	19
7.2 Prueba de reconocimiento de objetos.....	21
7.3 Evaluación de la conducta sexual .....	21
8 Discusión .....	23
8.1 AE sobre el aprendizaje y memoria en individuos AVP.....	23
8.2 AE sobre la conducta sexual en individuos AVP.....	25
9 Conclusiones .....	27
10 Referencias .....	27
11 Glosario .....	34

## Índice de Figuras

Figura 1.- Pruebas de aprendizaje y memoria: Laberinto acuático de Morris .....	20
Figura 2.- Prueba de reconocimiento de objetos.....	21
Figura 3.-Evaluacion de la conducta sexual.....	22

### Resumen

El trastorno del espectro autista (TEA) es un trastorno psiquiátrico con graves consecuencias conductuales y sin tratamiento específico. Su etiología es multifactorial, ya que es producida por una compleja interacción de factores genéticos y ambientales. Las crías de ratas que fueron expuestas durante la gestación al ácido valproico (AVP, un fármaco antiepiléptico) mostraron comportamientos de tipo autista en la descendencia, incluidos déficits de comportamiento social, aumento de comportamientos repetitivos y deterioro cognitivo. Además, las ratas tratadas prenatalmente con AVP han mostrado alteraciones en los comportamientos sociosexuales. Sin embargo, los mecanismos celulares involucrados en estas alteraciones en los procesos reproductivos en ratas tratadas con AVP no son bien conocidos. Recientes reportes obtenidos en nuestro laboratorio mostraron que algunos comportamientos anormales en los modelos de autismo AVP mejoran en un ambiente enriquecido (AE). En el presente estudio, examinamos los efectos de AE sobre la memoria, el aprendizaje y el comportamiento sexual en ratas macho expuestas a AVP durante la gestación. Nuestros resultados muestran que en el día posnatal 90, el AE redujo el tiempo que les tomó a los grupos control y tratados con AVP para encontrar la plataforma oculta en el laberinto acuático de Morris. Mientras que en el día posnatal 100, la exposición prenatal al AVP redujo el tiempo total de exploración en las pruebas de reconocimiento de objetos. En el día posnatal 110, el AE redujo la latencia de montaje e intromisión y aumentó la frecuencia eyaculatoria en ratas macho tratadas con AVP. Estos resultados sugieren que los estímulos ambientales influyen significativamente en el inicio del comportamiento sexual en ratas macho tratadas con AVP y que AE puede ser una potencial herramienta para mejorar una variedad de deficiencias conductuales en modelos de autismo en roedores.

### 1 Introducción

El ácido valproico (AVP) es un ácido graso simple de cadena ramificada de ocho carbonos, el cual fue sintetizado por primera vez en 1882 por Burton, sin embargo, fue hasta que en 1962 Pierre Eymard descubrió su efecto anticonvulsivo (Lagace y cols. 2004). Desde entonces, el AVP se ha establecido en todo el mundo como un importante fármaco contra varios tipos de crisis epilépticas (infantil, juvenil, síndrome de Lennox-Gastaut) (Wheless y cols.,2007). El uso clínico de este compuesto ha seguido creciendo en los últimos años, incluyendo su uso para enfermedades distintas a la epilepsia, por ejemplo, en los trastornos bipolares y la migraña (Lagace y cols. 2004). Sin embargo, estudios posteriores demostraron su alto efecto teratógeno sobre el Sistema Nervioso Central (SNC) si este agente químico es administrado durante la

gestación (Ornoy y cols. 2009; Favre y cols. 2013). Por ejemplo, la descendencia de ratas hembra que recibieron AVP vía intraperitoneal en el día 12.5 de la gestación (400 mg / kg de peso para Sprague-Dawley), mostraron anomalías cerebrales, semejantes a las encontradas en estudios de imagen cerebral y en la autopsia de pacientes autistas (Ingram y cols. 2000). Además, en la evaluación conductual de los modelos animales donde se administró AVP durante la gestación mostraron a individuos con una menor sensibilidad al dolor, hiperactividad locomotora, pero con menor capacidad exploratoria, así como una disminución del número de comportamientos sociales, y altos niveles de ansiedad características similares a las reportadas en pacientes autistas (Schneider y cols. 2001;2004). Debido a reportes previos del uso del AVP durante la gestación, sus efectos sobre el SNC y sobre la conducta en individuos experimentales, se ha propuesto a este como un modelo para la investigación del autismo (Rodier y cols. 1996, 1997; Ingram y cols. 2000; Schneider y cols. 2001, 2005, 2006). El autismo es un trastorno neurobiológico que se identifica conductualmente con mayor facilidad entre los dos y tres primeros años y perdura durante toda la vida (Donohue y cols. 2019). Este trastorno se caracteriza por el deterioro de la interacción social, la deficiencia en el desarrollo del habla y actividades e intereses limitados (Acosta y cols., 2004). La última categoría incluye comportamientos como la fascinación por objetos giratorios, movimientos estereotipados repetitivos, intereses obsesivos y aversión al cambio en el entorno, así como altos niveles de ansiedad, dificultad para conciliar el sueño y trastornos digestivos (DSM-5). Además, Lovas (1987) advierte que sin una intervención de estimulación sensorial durante la etapa infantil los individuos autistas presentarán un retraso en la capacidad de su aprendizaje en comparación con individuos sanos. Estudios realizados en pacientes autistas han mostrado una alta incidencia en alteraciones morfológicas a nivel del sistema nervioso central afectando regiones como cerebelo, hipocampo, amígdala y corteza frontal. (Bauman y Kemper 1994; Palmen y cols. 2004; Donovan y Basson 2016). Sin embargo, algunas de las principales dificultades para entender la etiología y las posibles vías de atención terapéutica hacia los pacientes autistas, son la alta heterogeneidad de síntomas que estos

presentan y los reportes neuroanatómicos contradictorios (Aylward y cols. 1999; Patterson y cols. 2011).

Interesantemente, Juliandi y cols. (2015) observaron que ratones expuestos al AVP durante la gestación a los que se le permitió acceso a la rueda de ejercicio, se presentó un incremento en la proliferación de células nerviosas y la neurogénesis, así como un mejor desempeño conductual. Este antecedente fue fundamental para comenzar a experimentar con sujetos expuestos al AVP fueran estimulados por el ambiente enriquecido (AE) (Yamaguchi y cols. 2017).

El AE se refiere a un modelo experimental en donde los roedores son estimulados en un medio ambiente complejo, el cual contiene objetos que proporcionan mayor actividad física y sensorial, además de una mayor interacción social (Kolb y cols. 2013). Se ha demostrado que los roedores que fueron expuestos al AE mejoran considerablemente el desempeño en pruebas de memoria como son el laberinto acuático de Morris y la prueba de reconocimiento de objetos (Van Praag y cols. 2000). Además, en un estudio que realizamos recientemente en nuestro laboratorio (Dorantes y cols. 2021) encontramos que los machos expuestos AE mostraron un mejor desempeño en la expresión de los patrones de la conducta sexual ya que disminuyó la latencia en la monta, la intromisión y alcanzaron mayor número de eyaculaciones en un intervalo de 30 minutos. Sin embargo, los estudios de la evaluación de conducta sexual y procesos reproductivos en ratas macho expuesta al AE son limitados. Los estudios en animales de laboratorio han demostrado que la exposición al AE da como resultado una serie de alteraciones moleculares y morfológicas, que se cree sustentan los cambios en la función neuronal y en última instancia, sobre el comportamiento de los individuos (Kempermann y col. 1997; Kolb y cols. 2014). Estas consecuencias de la exposición al AE lo hacen ideal para investigar su uso en diferentes trastornos neurológicos (Alwis y Rajan 2014). Schneider y cols., (2006) emplearon el AE con el objetivo de encontrar una herramienta terapéutica que pueda mejorar la condición conductual en los individuos expuestos al AVP durante la gestación. Los resultados mostraron un incremento en la interacción social, mayor exploración, un incremento en la sensibilidad a los estímulos

térmicos y sonoros y menores niveles de ansiedad.

Se ha mostrado que los individuos expuestos al AVP durante la gestación presentan alteraciones en el hipocampo y sobre la memoria y el aprendizaje (Juliandi y cols. 2015). Esta región del cerebro desempeña un papel importante en la memoria y se ha observado que factores ambientales y genéticos que afectan la neurogénesis del hipocampo provocan cambios sobre la capacidad de aprendizaje y memoria en modelos experimentales de laboratorio (Godoy y col. 2013), por lo que se espera que los individuos expuestos a AVP presenten deficiencias en tareas de búsqueda y de navegación espacial.

Por lo tanto, se han investigado los efectos de la administración de AVP durante la gestación y sus efectos en otros mecanismos neurológicos y conductuales. Schneider y cols. (2006) encontraron que individuos expuestos a AVP durante la gestación pasan menos tiempo en el brazo abierto en laberinto elevado en cruz en comparación con los individuos control, indicando altos niveles de ansiedad. Las investigaciones previas sobre el estudio de la ansiedad muestran que los individuos que la presentan desarrollan patrones anormales en el desempeño de la conducta sexual, esto desde que la administración de ansiolíticos puede reducir el número de eyaculaciones en individuos saludables (Mos y cols.1999), sin embargo, no existen reportes sobre la conducta sexual en individuos expuestos al AVP durante la gestación.

Debido a la escasa información sobre la memoria y la conducta sexual en individuos expuestos al AVP durante la gestación; el objetivo de este estudio es evaluar el efecto del AE sobre la memoria y el aprendizaje, así como la conducta sexual en ratas macho expuestas al AVP durante la gestación. Para nuestro conocimiento este es el primer estudio sobre conducta sexual y memoria en ratas macho expuestas a una dosis de AVP durante la gestación posteriormente estimulados en un AE.

## **2 Antecedentes**

### **2.1 Trastorno espectro Autista**

El psiquiatra suizo Eugene Bleuler fue quien utilizó por primera vez el término autismo (del griego auto,

<sí mismo>, ismo, <estado>), aunque fue hasta el año 1943 cuando el Dr. Leo Kanner realizó sus estudios en pacientes autistas otorgando así la clasificación médica a este padecimiento (Artigas-Pallares y Paula 2012). El trastorno autista está clasificado dentro de los trastornos del desarrollo neurológico y se caracteriza por deficiencias en la reciprocidad socioemocional, que pueden variar desde un acercamiento social anormal hasta el fracaso de la conversación (DSM5). Además, el contacto visual y el lenguaje corporal se ven disminuidos junto con una deficiencia en la comprensión en el uso de gestos, expresión facial y comunicación no verbal (DSM5). Las personas con autismo, además de presentar una reducción en la capacidad de comunicación, también muestran patrones conductuales restrictivos y repetitivos como estereotipias motoras, alineación de los juguetes o cambio de lugar de los objetos, ecolalia, gran angustia frente a cambios pequeños en su entorno, preferencia por comer los mismos alimentos cada día, hiper- o hiporreactividad a los estímulos sensoriales, indiferencia aparente al dolor/temperatura, fascinación visual por las luces o el movimiento (DSM-5). También, se han registrado casos de pacientes autistas donde presentan deficiencias en la capacidad de aprendizaje cuando no son introducidos a un ambiente escolar no especializado durante la infancia (Lovas 1987). Además, los pacientes autistas pueden llegar a presentar epilepsia, retraso mental, ansiedad, disfunciones gastrointestinales, desordenes de sueño, entre otros (Moldin y cols. 2006). Por lo que el estudio del autismo se vuelve más complejo el estudio de este trastorno debido a la alta heterogeneidad tanto de características neurológicas como de características conductuales (Palmen y cols. 2004). Estas características conductuales se identifican en la infancia a partir de los primeros 18 meses de vida, aunque por lo general se manifiestan alrededor de los 3 años (Donohue y cols. 2019), e incluso hay estudios que nos sugieren que es posible identificar a infantes en riesgo desde los 6 meses de edad (Baird, Cass, y Slonims 2003; Kaur, Srinivasan y Bhat 2015). La incidencia de autismo en países como Estados Unidos varía entre 6.6 por 1000 y 14.7 por 1000 nacimientos (Durkin y cols. 2017).

Los estudios histológicos y anatómicos *post mortem* y de resonancia magnética de cerebros de pacientes autistas, muestran resultados contradictorios, por ejemplo, el peso y tamaño del cerebro de pacientes con autismo presenta mayor tamaño comparado con el de infantes no autistas (Sparks y cols. 2002), sin

embargo, también se han reportado resultados donde muestran un incremento o no del tamaño del cerebro en adolescentes y adultos (Aylward y cols. 1999). Aunque existe evidencia de aumento de tamaño en regiones del cerebro, un incremento en el peso y volumen cerebral total en pacientes autistas especialmente en niños, aún no se han determinado los mecanismos celulares subyacentes, los cuales podrían implicar un aumento de la neurogénesis, aumento de la gliogénesis, aumento de la sinaptogénesis, alteración de la migración de neuronas, disminución de la apoptosis y combinaciones de estos eventos (Palmen y cols. 2004).

En general, el cerebelo es una de las regiones del sistema nervioso central que presenta mayor incidencia en alteraciones en la composición neuronal en pacientes autistas (Williams y cols. 1980). El cerebelo está compuesto por una estructura celular homogénea que está implicada en funciones complejas como son procesamiento de información de tipo motor, sensorial, emocional, de aprendizaje y memoria (Donovan y Basson 2016). En los pacientes autistas el cerebelo muestra una deficiencia en el número de células de Purkinje en el vermis y hemisferios, así como la disminución del tamaño de las neuronas de Purkinje en adultos autistas (Bauman y Kemper 2005). Interesantemente, los efectos sobre el cerebelo no se presentan de forma homogéneos ya que se han reportado por un lado hiperplasia en, mientras otros reportes muestran hipoplasia en esta región del SNC cuando son comparados con sus respectivos controles (Palmen y col. 2004).

Otros estudios han revelado una variación en la densidad de neuronas en las distintas estructuras del SNC, incluida la amígdala, hipocampo y corteza cerebral. (Palmen y cols. 2004, Bauman y Kemper 2005; Donovan y Basson 2016). La amígdala está implicada en el procesamiento de emociones como el miedo, ansiedad, placer y agresividad (Ahrens y cols., 2018). Se han reportado casos de un incremento en la densidad neuronal junto con una reducción del tamaño de estas neuronas en individuos autistas en comparación con individuos sanos. Sin embargo, también se presenta una alta heterogeneidad en las características anatómicas para esta región (Donovan y Basson 2016). Deficiencias en la interacción social, reconocimiento facial y control emocional pueden ser indicativas de un mal funcionamiento de la amígdala en pacientes con autismo (Donovan y Basson 2016). La corteza cerebral es otra de las

regiones que presenta alteraciones histológicas en los individuos con autismo. Por ejemplo, la corteza frontal controla muchas de las funciones ejecutivas del cerebro, incluidos los procesos como la toma de decisiones, memoria, la planificación, las emociones entre otros (Dere y cols., 2007). En cerebros autistas las principales observaciones incluyen patrones de crecimiento cortical anormales, alteraciones en el grosor cortical y desorganización de las neuronas y sus conexiones con otras regiones del cerebro (Palmen y cols. 2004, Bauman y Kemper 2005). Por otro lado, el hipocampo también presenta irregularidades en pacientes autistas (Donovan y Basson 2016). Esta región está fuertemente vinculada con la memoria, la navegación espacial y la capacidad cognitiva en los individuos (Godoy y cols., 2013). Deficiencias o lesiones en la composición de esta estructura implica déficits de memoria, dificultades en la orientación espacial debido a la incapacidad de derivar información direccional de señales históricas en nuevos entornos, deterioro cognitivo, enfermedad de Alzheimer, demencia y epilepsia (Catani y cols., 2013).

Estas anomalías en distintas áreas del cerebro que muestran los pacientes autistas impactan sobre la función de estas estructuras cerebrales y la comunicación que existe entre ellas que en conjunto sustentarían las deficiencias conductuales que presentan los individuos autistas (Palmen y cols. 2004; Reynolds y cols. 2012). Aunque, debido a la alta heterogeneidad de síntomas que los pacientes autistas presentan, se necesitan más investigaciones en humanos y la elaboración de modelos experimentales en animales que permitan el estudio de este trastorno sobre el sistema nervioso (Patterson 2011).

## **2.2 El ácido valproico (AVP) como modelo de autismo en roedores**

El ácido valproico (AVP [ácido 2-propilpentanoico]) se sintetizó por primera vez en 1882, su nombre se deriva de la purificación original de la *Valeriana officinalis* y es un fármaco establecido en el tratamiento a largo plazo de la epilepsia, migraña entre otros (Koustrochová y cols. 2007). Sin embargo, reportes posteriores de mujeres que consumieron el AVP durante la gestación llamó la atención de los médicos, pues la descendencia de esas mujeres presentaban una mayor incidencia en afecciones como espina bífida, hispospadias, estrabismo, bajo peso en el nacimiento y el deterioro psicomotor durante el

desarrollo postnatal. (Vorhees y cols. 1987). Estudios recientes han revelado que el AVP puede inhibir directamente la actividad de la histona desacetilasa (HDAC) y causar hiperacetilación de histonas, modificando la transcripción de genes que resulta en una alteración en la programación genética del desarrollo y crecimiento celular (Göttlicher y cols. 2001). Por lo tanto, si el AVP es empleado durante la gestación puede interrumpir el desarrollo, crecimiento, diferenciación y proliferación de celular (Otzuka y cols. 2017). Este hecho motivó la investigación de los efectos secundarios de la administración de AVP sobre la descendencia (Favre y cols. 2013).

Gracias al uso de los modelos animales y las oportunidades que estos ofrecen para su estudio, se pudieron evaluar los efectos teratogénicos del AVP. Los reportes han mostrado que si el AVP es administrado durante los días 11-13 de gestación se ve comprometido el desarrollo del tubo neural, estructura de la cual se origina el SNC (Vorhees y cols. 1987; Rodier y cols. 1996; 1997). Por lo tanto, cualquier alteración del tubo neural durante este periodo provoca cambios en los procesos de desarrollo, diferenciación y maduración del SNC. (Kim y cols. 2011). Por ejemplo, presentan una disminución en el número de neuronas de los nervios craneales oculomotor, trigeminal, abducens, e hipogloso, acortamiento de la región caudal al núcleo facial y alargamiento de la región rostral al núcleo facial (Rodier y cols. 1996), así como, la alteración en el número de células de Purkinje en el cerebelo (Rodier y cols. 1997) e hipocampo (Juliandi y cols. 2015). Además, se presentan alteraciones conductuales similares a los síntomas autistas, como la reducción de la sensibilidad al dolor, altos niveles de ansiedad, poca capacidad de socialización, alteración en la respuesta a estímulos no dolorosos y conductas estereotipadas (Schneider y cols. 2001,2005).

Reportes previos muestran que los efectos de la administración de AVP comprometen el desarrollo de regiones implicadas en la memoria y el aprendizaje como lo es el hipocampo (Juliandi y cols. 2015). Lesiones en el hipocampo en ratas de laboratorio dan como resultado a individuos con deficiencias en pruebas de memoria y aprendizaje (Pereira y cols. 2008; Catani y cols. 2013). Sin embargo, no ha sido evaluado el efecto del AVP durante la gestación sobre la memoria en individuos ratas macho experimentales.

De igual forma los estudios previos (Schneider y cols. 2005) muestran altos niveles de ansiedad en individuos expuestos al AVP durante la gestación. Este antecedente sobre la ansiedad pudiese intervenir sobre la conducta sexual, ya que existen estudios donde la administración de fármacos que regulan los niveles de ansiedad son capaces de modificar el tiempo de respuesta en los patrones de la conducta sexual (Mos y cols.,1999). Sin embargo, la información sobre la conducta sexual en individuos expuestos a una dosis de AVP durante la gestación es también es escasa.

La mayoría de los estudios en roedores sobre los efectos conductuales que tiene el AVP administrado durante la gestación en ratas, se han basado principalmente en la percepción al dolor y la actividad motora y social, sin embargo, los procesos de memoria, aprendizaje y la conducta sexual que estos individuos presentan aún no han sido explorados.

### **2.3 Función cognitiva: aprendizaje y memoria**

El aprendizaje y la memoria son esenciales para el funcionamiento adecuado y la supervivencia independiente de las personas y los animales (Cowan y cols.,2021). En términos generales el aprendizaje se puede definir al cambio de conducta que resulta de adquirir información acerca del entorno y el medio interno y la memoria es el proceso, por el cual esa información es codificada, almacenada y recordada. (Orrego yTamayo 2016). A través de los estudios en humanos y en animales se ha podido observar que la información que está activa podría tener una capacidad de almacenamiento limitado a corto plazo (aprendizaje y memoria a corto plazo), sin embargo, cuando esta información es procesada da como resultado el desarrollo del almacenamiento de experiencias a la cual se puede acceder incluso después de largos períodos de tiempo (aprendizaje y memoria a largo plazo). (Ranganath y cols. 2012). Estos mecanismos de procesamientos de información son dependientes de distintas áreas del SNC. La memoria a corto plazo o declarativa relativa a individuos, objetos, lugares, hechos y sucesos se almacena en la corteza prefrontal; que por su parte la memoria a largo plazo se almacena en el hipocampo y en distintas zonas de la corteza (Dere y cols.,2007). También, se ha reportado que la amígdala, el lóbulo temporal y el cerebelo están implicados en procesos de

almacenamiento de experiencias (ej. En pacientes con amnesia que generalmente presentan daños en el lóbulo temporal, poseen deficiente capacidad de retener información a largo a plazo), aunque es importante mencionar que el almacenamiento de información es el resultado de varios procesos dinámicos de distintas estructuras del SNC (Milner y col. 1972).

Además de la memoria declarativa a corto y largo plazo, los organismos con SNC cuentan con la capacidad de registrar y recuperar información necesaria para planificar un curso hacia una ubicación y recordar un objeto en relación con la ocurrencia de un evento (Johnson y cols. 2010). En los animales de laboratorio este mecanismo les permite recordar donde está la comida o la salida en torno a entornos novedosos o en el caso de laberintos (Kolarik y cols. 2015). Además, el hipocampo es una de las regiones que más comprometida está con la capacidad de respuesta en tareas de navegación espacial (Morris y cols., 2003). Así, en modelos animales las lesiones al hipocampo contribuyen a un bajo desempeño en aprendizaje y en protocolos de memoria (Godoy y cols.,2013). El tiempo para resolver tareas de búsqueda en individuos con lesiones en hipocampo es mayor que animales intactos (Pereira y cols. 2008). Además del hipocampo, diferentes regiones de la corteza también han sido relacionadas con la capacidad de reconocimiento y navegación espacial. Por lo tanto, las lesiones en esta área también causan deficiencias en las tareas para reconocer las posiciones y deficiencias en la adquisición de tareas de memoria espacial durante las pruebas de entrenamiento (Aggleton y cols.1995).

#### **2.4 Conducta sexual de la rata macho**

La conducta sexual que realiza la rata macho consiste en varios tipos de patrones motores estereotipados como son las montas, intromisiones y posteriormente se presenta la eyaculación (Sachs y Mesiel, 1994). La monta se presenta por la aproximación del macho a una hembra receptiva, la cual le manda señales conductuales que son detectadas por él, como: carreras cortas en forma de zigzag, pequeños saltos en sus cuatro patas e inclusive por la emisión de feromonas (Agmo y cols.,1997; Domínguez 2008). Además, durante el apareamiento el macho olfatea los genitales de la hembra, y la persigue. Después de que la hembra realiza esos movimientos, se detiene de manera abrupta y la macho monta sobre su

espalda y la abraza de los flancos para comenzar a realizar movimientos pélvicos repetitivos de alta frecuencia (Larsson 1979). En una serie copulatoria el macho podría realizar varias montas hasta lograr la intromisión del pene, la cual es seguida de una abrupta separación de la hembra (Larsson y Ahlenius, 1999). El patrón eyaculatorio se produce gracias a que la hembra realiza la dorsiflexión de su columna vertebral (lordosis) permitiendo que el macho pueda introducir el pene en su vagina (Paredes y cols., 2009). Después de que el macho ha realizados de varias intromisiones logra eyacular soltando a la hembra de los flancos, y permaneciendo inmóvil por algunos segundos. Sin embargo, en ocasiones la eyaculación se puede producir fuera de la vagina, pero a pesar de eso, la hembra puede exhibir los patrones de intromisiones y eyaculación (Larsson y Ahlenious 1999). Después de la eyaculación se produce un periodo refractario en donde el macho no copula con la hembra sino hasta después de que haya pasado un periodo de reposo de entre 5 a 10 minutos. A pesar del periodo refractario, el macho puede presentar de 8 a 12 eyaculaciones antes de alcanzar su saciedad sexual (Sachs y Mesiel, 1994.). Por otro lado, si al macho se le permite realizar un segundo patrón eyaculatorio, esta se acorta de 3 a 6 intromisiones, es decir, la primera serie conlleva más tiempo que las series 2 y 3 y posteriormente se vuelve a incrementar (Larsson 1979). La duración del periodo refractario es más larga después de la primera serie eyaculatoria. Además, la prolongación de las latencias de eyaculación y el intervalo pos eyaculatorio puede ser considerado como un signo de fatiga sexual del macho. Con cada serie eyaculatoria repetida, el periodo refractario es progresivamente alargado de manera exponencial (Larsson 1979; Phillips y Fernández 2009).

Es importante señalar que los mecanismos fisiológicos que subyacen a la aparición de la conducta sexual son complejos, ya que resultan de múltiples interacciones entre el medio ambiente, señales hormonales y neuronales que son mediadas por una amplia variedad de mensajeros químicos que se integran a diferentes niveles del SNC (Mas 1995).

## **2.5 Ambiente Enriquecido**

En 1949 el investigador Donald Hebb observó que ratas que utilizó como mascotas, mostraban diferencias conductuales en comparación a las ratas que permanecieron en el laboratorio (Kempermann

2019). Esto llamó la atención de los investigadores y los llevó a estudiar el efecto que tienen las alteraciones del ambiente, sobre el desarrollo de la conducta y la calidad de vida en individuos experimentales de laboratorio (Beach y col. 1954). Los estudios en animales muestran que la conducta es el resultado de la programación genética en el desarrollo del cerebro a partir de una amplia gama de procesos como el nacimiento celular, la migración celular, la diferenciación celular, la maduración celular, la sinaptogénesis y la mielogénesis. (Kolb y cols. 2013) Este desarrollo cerebral es un proceso prolongado que se puede dividir en dos fases. La primera fase es en el útero, en ratas comienza en el día embrionario 10.5-11. En este punto, comienza a formarse el tubo neural y se distinguen procesos de generación de nuevas neuronas y la migración de estas por lo que podemos apreciar arreglos histoarquitectónicos de neuronas que conducen posteriormente a la formación de circuitos macroneuronales y microneuronales (Bayer y Altman 1991). La segunda fase, postnatal en ratas (pre y postnatal en humanos), es un momento en el que la programación genética de la conectividad del cerebro es muy sensible no solo al entorno sino también a los patrones de actividad cerebral producidos por la plasticidad de las experiencias (Kolb y cols. 2014) La plasticidad de la experiencia se refiere a un proceso de reestructuración de la conexión sináptica entre neuronas por estímulos como situaciones peligrosas, exploración de nuevos entornos, falta de alimento, experiencias impactantes o drogas psicoactivas (Kolb y cols, 2013). Este tipo de experiencias refleja la adición de sinapsis y/o la poda de sinapsis en diferentes regiones del cerebro (Ismail y cols., 2017) Por ejemplo: los eventos adversos tempranos pueden modular la expresión de moléculas involucradas en la plasticidad celular dentro del hipocampo, que por lo tanto contribuye a alteraciones permanentes en la estructura y función del cerebro, que en última instancia podrían conducir a una mayor vulnerabilidad a las enfermedades psiquiátricas (Korosi y cols. 2012). Los estudios experimentales con animales de laboratorio han confirmado estos hallazgos y los resultados generales son que la estimulación dada por la plasticidad de la experiencia está asociada con cambios en la conectividad de las neuronas (Kolb y cols., 2014). Estos cambios en el número de sinapsis dependientes de la experiencia, dan como resultado una modificación del comportamiento en la vida posterior. Por tanto, la conducta de cada individuo es el resultado de la

interacción de los genes X ambiente X experiencia (Kolb y cols., 2013).

Por lo tanto, los investigadores se dieron a la tarea de desarrollar diferentes tipos de ambiente y estimular con ciertas experiencias a los individuos experimentales dentro de los laboratorios con la finalidad de examinar los efectos en la conducta posterior (Beach y cols. 1954; Rosenzweig y Bennett 1972). Así, se encontró que existen factores que favorecen a los individuos en la aparición de conductas que les permiten optimizar las estrategias para resolver diversas tareas (Kolb y cols. 2014). Por lo tanto, cuando la exposición a cierto tipo de estímulos derivados del ambiente mejoraba el desempeño conductual en roedores de laboratorio, los investigadores reconocieron este fenómeno como: “ambiente enriquecido” (AE, Alwis y Rajan 2014; Kolb y cols. 2014).

En animales intactos, el AE mejora significativamente los procesos cognitivos como la memoria espacial (Pereira y cols. 2007; Soares y cols. 2017) y la memoria declarativa (Mesa-Gresa y cols. 2013) además, en otros estudios mostraron que el ambiente enriquecido es capaz de reducir los niveles de ansiedad (Benaroya y cols. 2004). También se ha reportado un mejor desempeño en las tareas de socialización a causa de la exposición a un AE (Alwis y Rajan 2014). Además, recientemente en un estudio que realizamos en el laboratorio sobre la evaluación de la conducta sexual en donde ratas macho eran expuestas a un AE (Dorantes y cols. 2021), encontramos una reducción significativa en la latencia de intromisión y eyaculación, así como en la frecuencia de monta en comparación con los individuos del grupo control no enriquecidos. además, los cambios conductuales por la exposición al AE, han mostrado cambios significativos dentro del cerebro en sus diferentes niveles de organización( Van Praag y cols., 2000). La estructura neural y dendrítica, sinapsis, neurogénesis, proteínas del sistema nervioso y hasta la expresión de genes se ven afectadas por la exposición a un ambiente enriquecido (Van Praag y cols. 2000; Kempermann y cols. 2019). En diferentes experimentos donde se emplearon a individuos sanos sometidos a un AE, éstos presentaron un menor índice de apoptosis, un incremento en el nacimiento de neuronas, junto con un incremento en la expresión de neurotransmisores y factores neurotróficos en estructuras como la corteza y el hipocampo en comparación a los individuos que permanecieron en condiciones estándar de laboratorio (Godoy y cols. 2013). Los cambios en las funciones nerviosas

sugieren que en sujetos expuestos a un AE existe una reactivación en la plasticidad neuronal que generalmente solo se puede observar en los periodos más importantes del desarrollo del cerebro (Van Praag, 2000). Considerando los efectos que el AE produce, se ha propuesto este modelo como una herramienta terapéutica para ciertas condiciones cognitivas desfavorables, por ejemplo: isquemia/Hipoxia (Pereira y cols. 2007), lesiones (Kolb y Gibb1991), epilepsia (Auvergne y cols. 2002), enfermedad de Huntington (Hockly y cols. 2002), Alzheimer (Berardi y cols. 2007) y Parkinson (Faherty y cols. 2005) obteniendo resultados favorables (Alwis y Rajan, 2014).

## **2.6 Ambiente enriquecido sobre individuos expuestos al AVP durante la gestación**

El efecto de plasticidad neuronal que el AE provoca, ha sido motivo para experimentar con diferentes condiciones neurológicas (Alwis y Rajan 2014). Para el caso de individuos expuestos al AVP durante la gestación que posteriormente experimentaron un modelo de AE, se han reportado resultados favorables para la reactivación de los sistemas sensoriales (Schneider y cols. 2006). La percepción al dolor es una de las capacidades que se pierden por la exposición al AVP, sin embargo, cuando los sujetos valproicos son estimulados por el AE recobran la sensibilidad al dolor, muestran un incremento en la capacidad de exploración y la interacción social y una disminución en los niveles de ansiedad en comparación a los que permanecieron en un ambiente estándar (Schneider y cols. 2006).

## **3 Justificación**

Dada la existencia de los múltiples efectos negativos sobre la calidad de vida por la exposición a AVP durante la gestación, hay una necesidad de explorar los mecanismos que subyacen la etiología de las distintas alteraciones que éste causa sobre el SNC. Además, la oportunidad que ofrecen los modelos animales para estudiar a detalle las distintas manifestaciones neurológicas y conductuales por la administración del AVP durante la gestación, nos permite establecer una hipótesis de cómo abordar la estimulación sensorial que ofrece el ambiente enriquecido y de este modo generar la posibilidad de reducir los daños sobre el sistema nervioso central que los individuos presentan. Así, los antecedentes

sugieren la posibilidad de continuar explorando los efectos del AE para mejorar la calidad de vida sobre individuos que presentan alguna deficiencia neurológica como puede ser la inducción del comportamiento autista por la exposición al AVP durante la gestación.

#### **4 Hipótesis**

La exposición al AE en la etapa juvenil mejora el desempeño en el aprendizaje, la memoria espacial y la conducta sexual de ratas macho expuestas al ácido valproico durante su gestación en comparación con ratas no expuestas al AE.

#### **5 Objetivos**

##### **5.1 Objetivo general**

El objetivo de este estudio fue desarrollar un programa de AE y estimulación sensorial para poder revertir los efectos sobre la conducta sexual y la capacidad cognitiva que la exposición al AVP durante la gestación ejerce en ratas macho.

##### **5.2 Objetivos Específicos**

Evaluar el efecto de la exposición al AE sobre la memoria espacial en ratas macho expuestas al AVP en el día 12.5 de gestación.

Evaluar el efecto de la exposición al AE sobre la memoria declarativa en ratas macho expuestas al AVP en el día 12.5 de gestación.

Evaluar el efecto de la exposición al AE sobre la conducta sexual en ratas macho expuestas al AVP en el día 12.5 de gestación.

#### **6 Materiales y métodos**

##### **6.1 Sujetos**

Se utilizaron 16 ratas hembra de la cepa Sprague-Dawley mantenidas en condiciones de bioterio con alimento y agua *ad libitum* en luz oscuridad invertido de 12:12 hrs. de duración de 10 am a 10 pm.

Se determinó el estro de la hembra por vía conductual (lordosis) para establecer el momento en el que se le reúne con el macho para el apareamiento. Se le permiten tres eyaculaciones por parte del macho, se registra la hora de la tercera eyaculación, considerando este momento como el día 1 de gestación.

## **6.2 Administración del AVP**

Posteriormente, 10 hembras recibieron una sola inyección intraperitoneal de AVP en el día 12.5 de gestación. El AVP está disuelto en una concentración de 100mg/ml de solución salina y se administraron 400 mg / kg de peso (Kim y cols. 2011). Seis hembras control fueron inyectadas con solución salina fisiológica al mismo tiempo.

## **6.3 Criterio de selección de individuos valproicos**

El día de nacimiento se tomó como PD1. A todas las crías se les permitió pasar la lactancia con sus madres naturales. En el PD30, fueron seleccionados los individuos machos que presentaron una o más torceduras en la cola de crías de madres que fueron inyectadas con AVP (Saft y cols. 2014), se destetaron y se agruparon aleatoriamente en jaulas de 3 individuos. De igual forma se destetaron al mismo tiempo los individuos expuestos a solución salina durante la gestación y fueron aleatoriamente introducidos en condiciones estándar de laboratorio en grupos de 3 individuos.

## **6.4 Ambiente enriquecido**

Al día postnatal 45; las crías fueron introducidas a un ambiente enriquecido. Los grupos experimentales se definieron por la condición de sujetos expuestos al AVP y también por la condición de alojamiento, conformando cuatro grupos: control no enriquecido (C, n= 9); valproico no enriquecido (V, n= 9); control enriquecido (E, n= 9) y valproico enriquecido (VE, n=9). En este estudio se utilizó una jaula de 120 x70 x 50 cm, con tres niveles conectados por rampas, con varios objetos en su interior como: túneles fabricados con tubos de PVC, ruedas para ejercicio y objetos con

distintas texturas y formas. Agua y alimento ad libitum. Cada semana los objetos se cambiaban, así como el aserrín del suelo de la jaula, que era removido por más aserrín limpio y fresco. La temperatura se mantuvo en 23 °C. Todos los experimentos fueron realizados conforme a la Guía de Uso y Cuidados de Mamíferos en la Investigación de Conducta y Neurociencia (National Research Council 2010) en acuerdo con la guía ARRIVE (Animal Research Reporting In Vivo Experiments /www.nc3rs.org.uk/arrive-guidelines)

### **6.5 Evaluación de la memoria espacial en el Laberinto acuático de Morris**

En día postnatal 90 todos los individuos de este estudio fueron evaluados en el laberinto acuático de Morris, diseñado para evaluar la memoria espacial y el aprendizaje de animales de laboratorio (Pereira y cols. 2007). El objetivo de esta prueba es colocar dentro de una piscina cilíndrica con agua (140 de diámetro x 50 cm de profundidad y 20° C) una plataforma oculta bajo el agua (1 cm), en alguno de los cuatro cuadrantes imaginarios. El agua se tiñe con un colorante artificial. Alrededor de la piscina se colocaron numerosas señales visuales para facilitar la orientación espacial las cuales se mantuvieron en toda la fase experimental de la prueba. La posición del observador siempre fue la misma en toda la fase experimental. El sujeto experimental se introdujo a uno de los cuadrantes imaginarios del laberinto viendo hacia la pared de la piscina. Se registró el tiempo en que el individuo encontró la plataforma para ponerse a salvo. En caso de que el individuo fuera incapaz de encontrar en 60 segundos la plataforma oculta, el investigador-observador tomó cuidadosamente al sujeto experimental y lo transportó a la plataforma manteniéndolo durante 10 segundos sobre la superficie. Se realizaron 4 sesiones por día de entrenamiento. Las ratas recibieron un entrenamiento diario durante 4 días consecutivos registrando el tiempo que les tomó llegar a la plataforma. La posición de la plataforma siempre se mantuvo en el mismo cuadrante. En el día 5 se realizó la prueba de memoria en donde los individuos fueron llevados al laberinto, en esta última sesión de la prueba la plataforma fue retirada y se registró el tiempo que pasó en cada cuadrante en un lapso de 60 segundos.

### **6.6 Prueba de reconocimiento de objetos**

En el día postnatal 100, se evaluaron a los individuos en la prueba de reconocimiento de objetos. Esta prueba se basa en el comportamiento natural de los animales para pasar más tiempo explorando un objeto nuevo, en lugar de uno encontrado anteriormente (Ennauceur y cols. 2010). El aparato consistió en una caja de vidrio donde se colocaron dos objetos similares (en forma, textura y tamaño) equidistantes de las paredes laterales. El protocolo de prueba consta de tres fases: (1) habituación, en la que los animales se habituaron a explorar un campo abierto durante 5 minutos 1 día antes de la prueba; (2) entrenamiento, donde se colocaron dos objetos novedosos idénticos (dos tazas o botellas pequeñas) en la arena y se permitió que los animales los exploraran durante 5 min; y (3) prueba (4 h después del entrenamiento), donde las ratas exploraron un objeto nuevo y uno familiar (que había sido previamente explorado durante 5 min). En esta prueba de reconocimiento de objetos se registra el tiempo total dedicado a explorar ambos objetos.

### **6.7 Evaluación de la conducta sexual de la rata macho**

En el día postnatal 110 se evaluó la conducta sexual de todos los individuos del estudio. Cuando la conducta sexual de la rata es estudiada dentro del laboratorio, es común utilizar un cilindro de acrílico transparente (50 cm de diámetro por 40 cm de altura) con aserrín cubriendo el suelo. Hembras previamente ovariectomizadas son empleadas como estímulo y son inducidas al estro por dosis secuenciales de benzoato de estradiol seguida de una inyección de progesterona (la receptividad de la hembra depende de la presencia de estrógenos, o de estrógenos y progesterona). En este estudio se registró el componente ejecutorio de la conducta sexual de la rata macho que consta de: la monta del macho hacia la hembra, la inserción del pene en la vagina (intromisión), y la eyaculación; que se refiere a la expulsión de semen en el tracto genital de la hembra (Larsson, 1979). Los siguientes componentes son tomados en cuenta para evaluar la conducta sexual de los grupos y estos son registrados:

Número de montas e intromisiones previas a la primera eyaculación, número de eyaculaciones dentro de un periodo de 30 minutos, latencia de monta, intromisión y eyaculación.

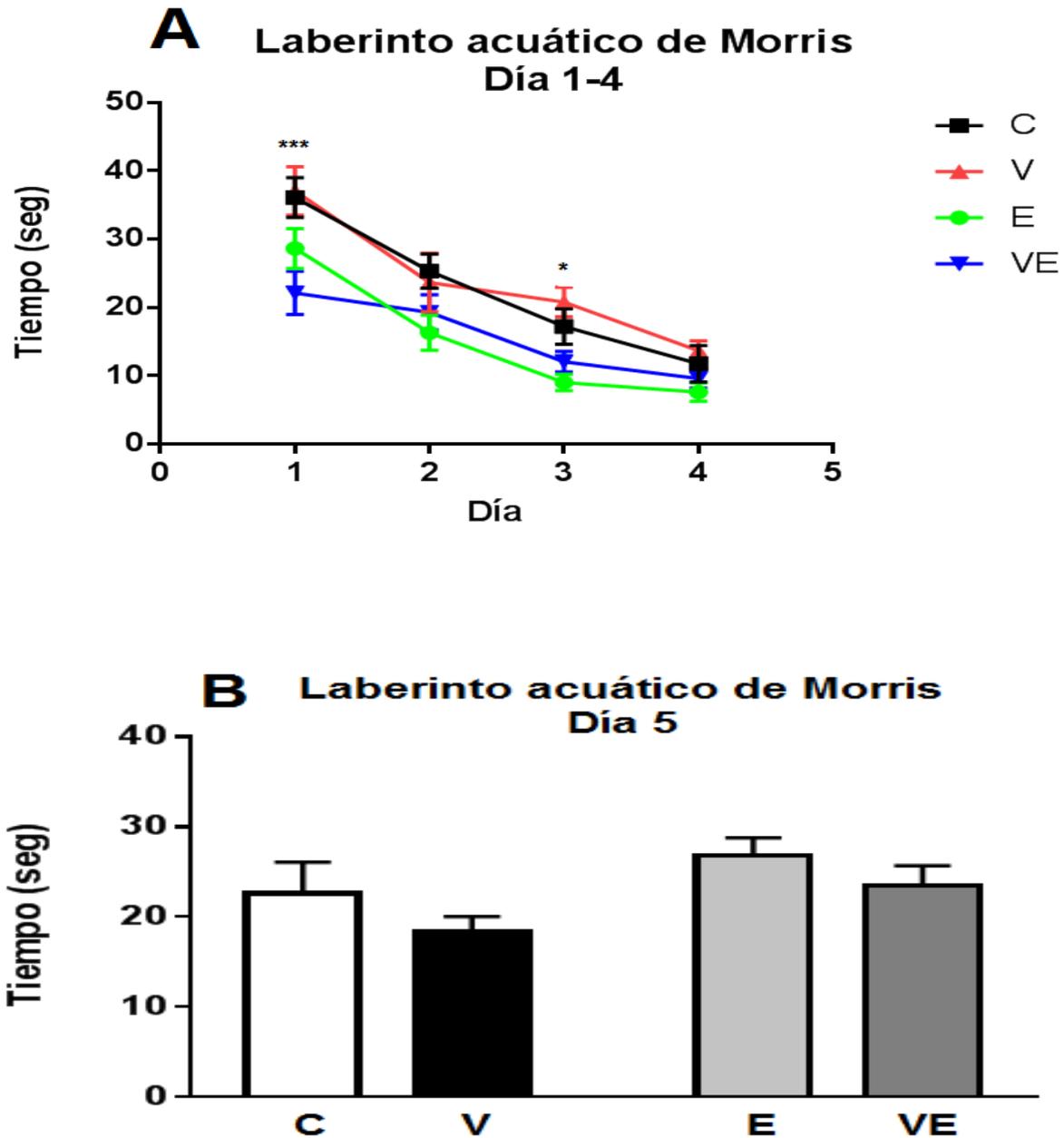
## **6.8 Análisis estadísticos**

Todos los análisis estadísticos se realizaron con el software Graph Pad Prism versión 7. Los valores son expresados con la media  $\pm$  error estándar. Para evaluar la curva de aprendizaje en el laberinto acuático de Morris se empleó una ANOVA de dos vías de medidas repetidas (AVP x AE x Día). Se utilizó una ANOVA de dos vías tratamiento farmacológico (AVP vs Salina) y de manipulación (AE vs no AE), seguido de una prueba de Tukey para evaluar las diferencias entre grupos para la prueba de laberinto acuático de Morris, prueba de reconocimiento de objetos y conducta sexual.

## **7 Resultados**

### **7.1 Pruebas de aprendizaje y memoria: Laberinto acuático de Morris**

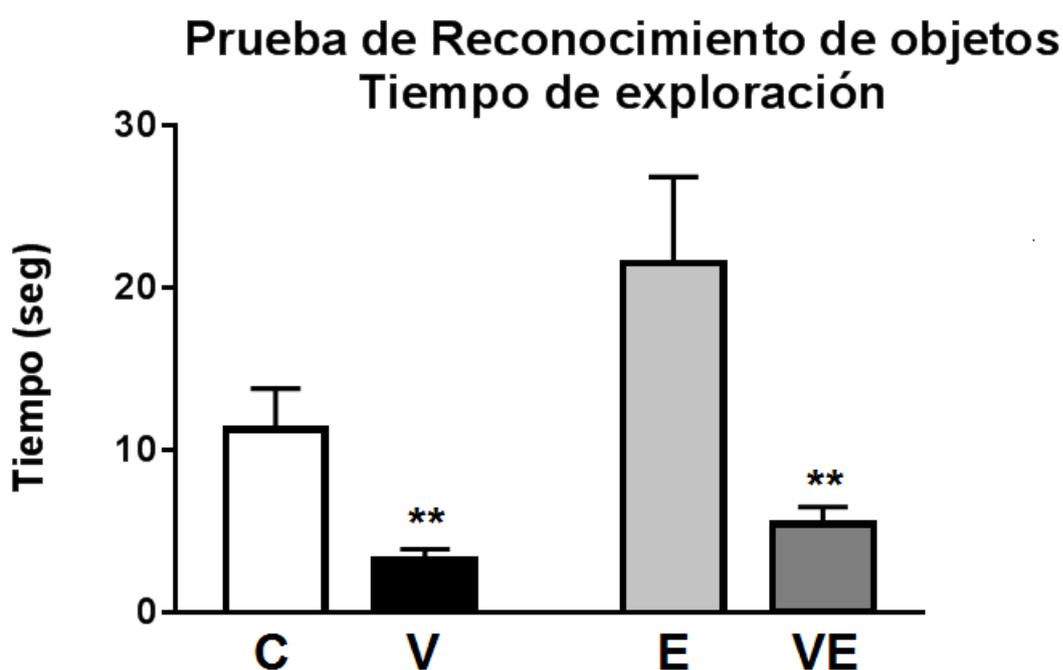
En el día postnatal 90 se valoró el aprendizaje y memoria espacial mediante la prueba de laberinto acuático de Morris. La ANOVA de dos vías de medidas repetidas mostró una disminución progresiva en el tiempo para encontrar la plataforma en los grupos de este experimento ( $F(3, 90) = 49.12$ ,  $P < 0,0001$ ) (Figura 1A). Durante el entrenamiento (D1) la prueba post hoc de Tukey mostró una disminución de tiempo significativo para encontrar la plataforma por parte del grupo VE respecto a los grupos V ( $p = 0,0008$ ) y C ( $p = 0,0010$ ). En (D3) de entrenamiento la prueba post hoc de Tukey mostró que el ambiente enriquecido reduce significativamente el tiempo total invertido para encontrar la plataforma en el grupo E respecto al grupo V ( $p = 0,0124$ ). El día de la prueba de memoria D5 (Figura 1B), no se observó alguna diferencia significativa entre los grupos de este experimento para encontrar el cuadrante donde se encontraba la plataforma.



**Figura 1** Desempeño en la prueba de laberinto acuático de Morris para encontrar la plataforma. La ANOVA de dos vías, mostro diferencia significativa en el tiempo para encontrarla plataforma en D1 y D3 (Figura 1A). La ANOVA de dos vías no mostró diferencia significativa en el tiempo de nado sobre el cuadrante donde se encontraba la plataforma entre los al grupos de este experimento (Figura 1B). Los resultados están expresados por su valor medio ( $\pm$ SEM). \* $p < .05$ , \*\*\* $p < .001$ . C (Control  $n=9$ ); V (Valproico  $n=9$ ), E (Control enriquecido  $n=9$ ) y VE (Valproico enriquecido  $n=9$ ).

## 7.2 Prueba de reconocimiento de objetos

En el día postnatal 100 se empleó la prueba de reconocimiento de objetos con la finalidad de evaluar la capacidad de memoria declarativa. Indistintamente del tipo de ambiente (enriquecido o estándar) la ANOVA de dos vías mostró efecto por parte de la administración de AVP ( $F(1,30) = 16.11, p < 0.0004$ ). La prueba post hoc de Tukey mostró que el grupo control enriquecido (E) tiene un incremento significativo en el tiempo de exploración total de ambos objetos en comparación a los grupos V ( $p = 0.0017$ ) y VE ( $0.0035$ ). En este estudio no encontramos diferencia significativa por efecto del AE en los grupos C y E ( $p = 0.0824$ ).

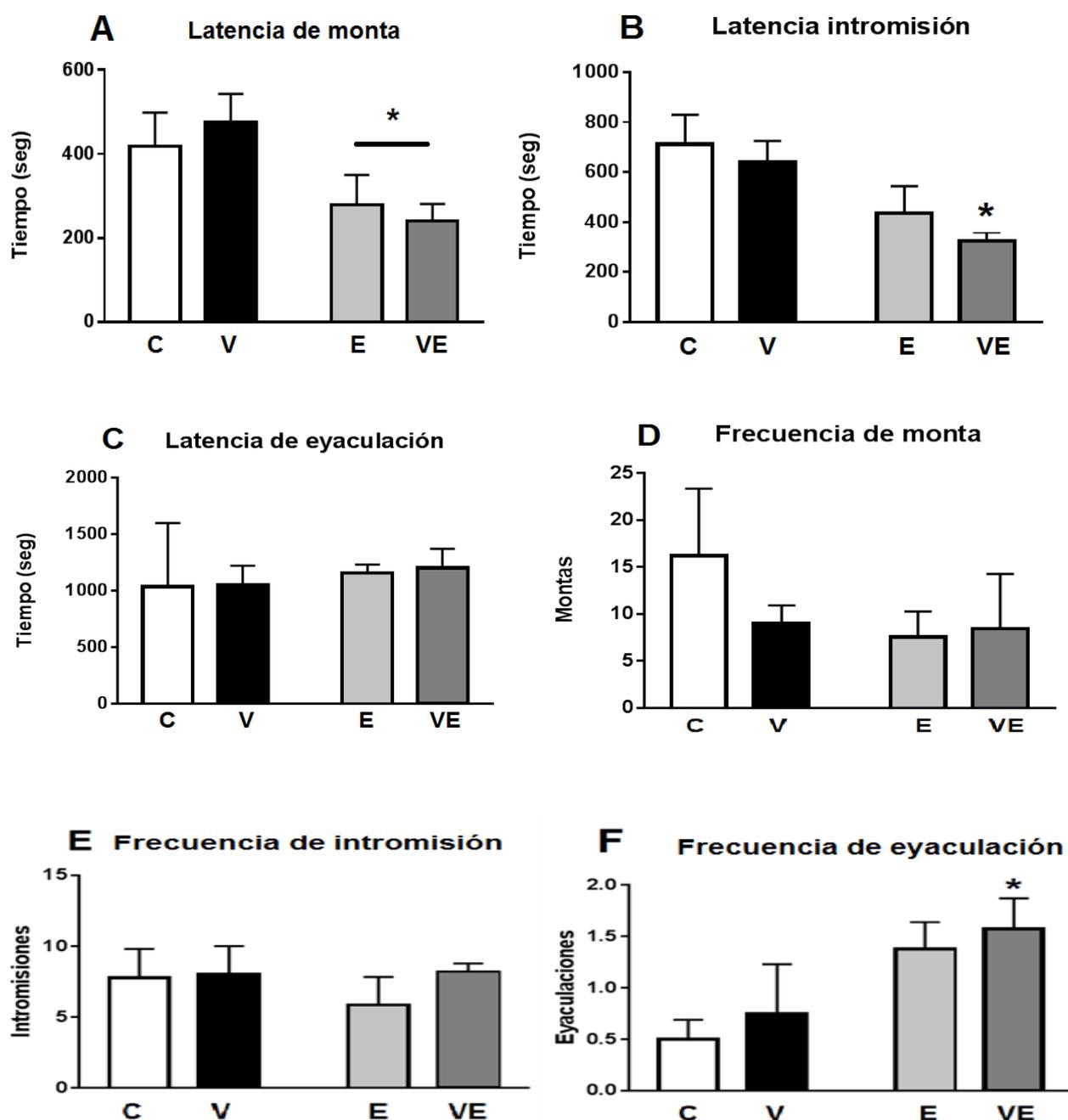


**Figura 2. Prueba de memoria reconocimiento de objetos (4 horas).** La ANOVA de dos vías reveló una reducción de tiempo de exploración sobre los individuos expuestos al AVP durante la gestación. Los resultados están expresados por su valor medio ( $\pm$ SEM). \*\*  $p < .01$ . C (Control  $n=9$ ); V (Valproico  $n=8$ ), E (Control enriquecido  $n=9$ ) y VE (Valproico enriquecido  $n=8$ ).

### 7.3 Evaluación de la conducta sexual

En el día postnatal 110 los siguientes componentes fueron tomados en cuenta para evaluar la conducta sexual: latencia de la primera monta, latencia de la primera intromisión, latencia de primera eyaculación, el número de montas e intromisiones previas a la primera eyaculación y el número de eyaculaciones durante los primeros 30 minutos. La ANOVA de dos vías mostró un efecto por parte del tipo de ambiente (AE vs no AE) en la latencia de monta ( $F(1,24) = 6.699, p = 0.0161$ ) y en la

latencia de intromisión ( $F(1,22) = 6.888, p = 0.0155$ ), así como en la frecuencia de eyaculación por efecto del AE ( $F(1, 23) = 8.344, p=0.0083$ ). La prueba post hoc de Tukey reveló que la latencia para alcanzar la primera intromisión del grupo VE es significativamente menor respecto del grupo C ( $p=0.045$ ), así como la frecuencia de eyaculación también se incrementa significativamente en el grupo VE en comparación con el grupo C ( $p=0.0441$ ). La ANOVA de dos vías no reveló diferencias en el tiempo para alcanzar la primera eyaculación y la frecuencia de monta, así como en la frecuencia de intromisión entre ninguno de los grupos de este experimento.



**Figura 3.- Evaluación de la conducta sexual (30 min.).** Latencia de monta (Figura 3A), latencia de intromisión (Figura 3B), latencia de eyaculación (Figura 3C), frecuencia de montas (Figura 3D), frecuencia de Intromisión (Figura 3E) y frecuencia de eyaculación (Figura 3F). Los resultados están expresados por su valor medio ( $\pm$ SEM). \*  $p < .05$ . C (Control  $n=9$ ); V (Valproico  $n=8$ ), E (Control enriquecido  $n=9$ ) y VE (Valproico enriquecido  $n=8$ ).

## 8 Discusión

El objetivo de este estudio fue evaluar los efectos del AE sobre el aprendizaje, la memoria y la conducta sexual en individuos que fueron expuestos a AVP durante el día 12.5 de gestación.

### 8.1 AE sobre el aprendizaje y memoria en individuos AVP

Los resultados del presente estudio concuerdan con reportes previos donde la administración del AVP durante la gestación genera efectos negativos sobre la conducta en ratas (Schneider y cols. 2001; 2005; 2006) y en ratones macho (Yamaguchi y cols. 2017). Para evaluar la capacidad de memoria y aprendizaje empleamos las pruebas de laberinto acuático de Morris y la prueba de reconocimiento de objetos. La administración de AVP durante la gestación reduce significativamente el tiempo total de exploración en la prueba de reconocimiento de objetos en comparación con los individuos a los que se les administró solución salina. En contraste con los resultados encontrados por (Yamaguchi y cols. 2017) en la prueba de reconocimiento de objetos el AE no es capaz de incrementar el tiempo total de exploración de los objetos en los individuos expuestos al AVP. Una posible explicación en la diferencia en cuanto a los resultados obtenidos puede ser el uso de ratones y no de ratas Sprague-Dawley. Sin embargo, los resultados concuerdan con los resultados encontrados por (Mesa-Gresa y cols. 2013) donde el AE mejora la capacidad sensorial en la prueba de reconocimientos de objetos ya que en nuestro estudio, el AE incrementa el tiempo de exploración de los objetos en individuos sanos. Reportes previos han demostrado que la exposición al AE tiene efectos positivos sobre las estrategias de navegación espacial en individuos con alguna deficiencia neurológica (Pereira y cols. 2007; Soares y cols. 2017). Cabe mencionar que este es el primer estudio en evaluar el efecto del AE sobre las

estrategias de navegación empleando el laberinto acuático de Morris en ratas macho expuestos al AVP durante el día 12.5 de gestación. En este estudio, la exposición al AE mejora significativamente la búsqueda de la plataforma oculta en individuos. En el D1 de entrenamiento en el laberinto acuático de Morris los machos expuestos al AVP muestran una reducción significativa de tiempo para encontrar la plataforma por efecto del AE en comparación a los individuos que permanecieron en un ambiente estándar de laboratorio. Estos resultados están de acuerdo con los reportes previos donde el AE puede ser empleado como una herramienta terapéutica para revertir los efectos negativos sobre la conducta por la exposición al AVP durante la gestación (Schneider y cols. 2006). Además, de acuerdo con nuestra hipótesis, la exposición al AVP durante el día 12.5 de gestación deteriora la capacidad de navegación y memoria espacial cuando se le compara con individuos control que fueron estimulados por el AE.

Interesantemente, en este estudio los efectos del AE sobre los individuos tratados con AVP contrastan con los resultados encontrados en la prueba de reconocimiento de objetos respecto con el desempeño en el laberinto acuático de Morris no se aprecia un efecto homogéneo. El tiempo de exploración total en la prueba de reconocimiento de objetos es significativamente reducido por efecto del AVP y no se observa efecto alguno por parte de la exposición al AE, mientras que en la prueba de laberinto acuático de Morris notamos que AE mejora significativamente la capacidad para encontrar la plataforma oculta en el D1 por parte de los individuos expuestos al AVP. Una posible explicación del contraste en los resultados encontrados entre la prueba de reconocimiento de objetos y el laberinto acuático de Morris puede ser la resolución de conflictos de "ansiedad" / "memoria espacial" (McNaughton y Morris 1987). Por lo que es posible que el AE tenga un efecto positivo sobre las estrategias de navegación y memoria espacial sin intervenir sobre los mecanismos neurales que regulan la respuesta conductual de la ansiedad.

El desarrollo de regiones como hipocampo y amígdala asociadas al sistema límbico están altamente comprometidas en individuos que presentan el trastorno autista (Palmen y cols. 2004), por ejemplo,

Schneider y cols. (2005) reportaron que ratas expuestas al AVP durante la gestación, una disminución en el tiempo de exploración en la prueba del laberinto elevado en cruz, indicando alto niveles de ansiedad. Existen registros en donde se ha evidenciado que el hipocampo es un sitio crítico para el control de fármacos ansiolíticos y en particular, para el control de la conducta de ansiedad (Gray y McNaughton 1983). Sin embargo, Morris y cols., (2003) proponen que los mecanismos subyacentes a los factores que afectan al hipocampo para la manifestación del comportamiento de ansiedad son diferentes para los componentes hacia la pérdida de estrategias espaciales y navegación espacial. Estudios previos reportan que la región del hipocampo rostral / dorsal se asocia principalmente con el aprendizaje espacial y la memoria, y la porción caudal/ventral del hipocampo parece estar más involucrada en las funciones emocionales y neuroendocrinas. Korosi y cols., ( 2012) encontraron que la administración de fármacos ansiolíticos no afectaba la capacidad de navegación y estrategia espacial, por lo que sugieren que solo afecta a la porción caudal/ventral del hipocampo. Existe la posibilidad que el tipo de modelo de AE que proponemos mejore parcialmente el aprendizaje y navegación espacial sin estimular lo suficiente la capacidad de exploración de objetos novedosos y la memoria declarativa en sujetos expuestos al AVP durante la gestación.

## **8.2 AE sobre la conducta sexual en individuos AVP**

Debido a la escasa información que se tiene sobre la maduración sexual y capacidad reproductiva de los individuos autistas, uno de nuestros objetivos fue encontrar evidencia del efecto que tiene la administración del AVP en el día 12.5 de gestación sobre la conducta sexual en ratas macho. Contrario a lo que esperábamos, no encontramos diferencias significativas entre en el grupo V y el grupo C. La administración de AVP durante el día 12.5 de gestación no es capaz de reducir o alterar la conducta sexual en ratas macho con respecto al grupo control. Sin embargo, los estudios que exploran el efecto de la administración de AVP durante la gestación sobre las regiones cerebrales que controlan la aparición de la conducta sexual y la regulación hormonal vinculada a la respuesta y maduración sexual

son escasos. Por ello, el empleo de los modelos animales ofrece una ventana de oportunidades para el estudio a detalle de los efectos del AVP sobre la respuesta neural, fisiológica, endocrina y conductual de la respuesta sexual y la capacidad reproductiva en individuos autistas.

En estudios previos realizados por nuestro grupo de trabajo (Dorantes y cols. 2021) encontramos que el AE mejora significativamente la conducta sexual por lo que evaluamos el efecto que el AE tiene sobre individuos expuestos a AVP durante el día 12.5 de la gestación. Indistintamente, el AE tiene efectos positivos en el grupo control y en el grupo AVP. Ambos grupos enriquecidos (E y VE) presentan un mayor número de eyaculaciones en un periodo de 30 minutos en comparación con los grupos no enriquecidos. Este efecto del AE sobre la conducta sexual ya ha sido reportado por otros grupos de investigadores (Carlstead y cols., 1994; Pizzutto y cols., 2009) quienes reconocen la importancia de proveer ambientes con ciertos requisitos básicos para la reproducción, como el clima y los grupos sociales. El control de los procesos fisiológicos, psicológicos y sociales a los que un individuo es expuesto, intervienen en el resultado de la interacción entre el medio ambiente y la capacidad de reproducción (Carlstead y cols., 1994). Estas diferencias cualitativas en el comportamiento pueden ejercer una influencia significativa en la capacidad de un animal para comportarse de manera adaptativa frente a una situación novedosa (Fisch y cols. 2017). Además, se ha reportado que el AE aumenta la excitación y puede beneficiar a la función reproductiva en una variedad de especies mediante la estimulación en la producción de factores neuroendocrinos necesarios para una adecuada respuesta fisiológica y conductual (Pizzutto y cols. 2009). Ciertamente, se necesitan más estudios para examinar los efectos del AE en individuos expuestos al AVP sobre la activación sexual, la calidad y cantidad en espermatozoides, la sensibilidad a las gonadotropinas y otras hormonas relacionadas con la respuesta sexual y la calidad y capacidad reproductiva en individuos autistas.

## **9 Conclusiones**

El AE mejora parcialmente la capacidad de navegación espacial en individuos expuestos al AVP

durante la gestación, así como, la exploración de objetos novedosos solo en individuos sanos. La exposición al AVP en el día 12.5 de la gestación no modifica la conducta sexual en ratas macho y la exposición al AE disminuye la latencia de los patrones de la conducta sexual en individuos expuestos al AVP o a solución salina en el día 12.5 de la gestación.

## 10 REFERENCIAS

1. Acosta MT, Pearl PL. Imaging data in autism: from structure to malfunction. *Semin Pediatr Neurol.* 2004 Sep;11(3):205-13. doi: 10.1016/j.spen.2004.07.004. PMID: 15575415.
2. Aggleton, J. P.; Neave, N.; Nagle, S.; Sahgal, A. (1995). "A comparison of the effects of medial prefrontal, cingulate cortex, and cingulum bundle lesions on tests of spatial memory: Evidence of a double dissociation between frontal and cingulum bundle contributions". *The Journal of Neuroscience.* 15 (11): 7270–7281. doi:10.1523/JNEUROSCI.15-11-07270.1995. PMC 6578066. PMID 7472481
3. Agmo A. Male rat sexual behavior. *Brain Res Brain Res Protoc.* 1997 May;1(2):203-9. doi: 10.1016/s1385-299x(96)00036-0. PMID: 9385085.
4. Ahrens S, Wu MV, Furlan A, Hwang GR, Paik R, Li H, Penzo MA, Tollkuhn J, Li B. A Central Extended Amygdala Circuit That Modulates Anxiety. *J Neurosci.* 2018 Jun 13;38(24):5567-5583. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0705-18.2018. Epub 2018 May 29. PMID: 29844022; PMCID: PMC6001032.
5. Alwis, D.S., y Rajan, R. (2014). Environmental enrichment and the sensory brain: the role of enrichment in remediating brain injury. *Frontiers in Systems Neuroscience,* doi:10.3389/fnsys.2014.00156
6. American Psychiatric Association APA (2013) *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-V-TR.* Washington, DC: American Psychiatric Association
7. Artigas-Pallares, J., & Paula, I. (2012). El autismo 70 años después de Leo Kanner y Hans Asperger. *Revista de La Asociación Española de Neuropsiquiatría,* 32(115), 567–587. doi:10.4321/s0211-57352012000300008
8. Auvergne, R., Lere, C., El Bahh., Arthaud, S., Lespinet, V., Rougier, A. (2002). Delayed kindling epileptogenesis and increased neurogenesis in adult rats housed in an enriched environment. *Brain Res.* 954, 277-285. doi:10.1016/S0006-8993(02)03355-3
9. Aylward EH, Minshew NJ, Goldstein G, Honeycutt NA, Augustine AM, Yates KO, et al. MRI volumes of amygdala and hippocampus in nonmentally retarded autistic adolescents and adults. *Neurology* 1999; 53: 2145–50
10. Baird G, Cass H, Slonims V. Diagnosis of autism. *BMJ.* 2003 Aug 0;327(7413):488-93. doi: 10.1136/bmj.327.7413.488. PMID: 12946972; PMCID: PMC188387.
11. Bauman M y Kemper T. (2005). Neuroanatomic observations of the brain in autism: review and future directions. *Int. J. Devl Neuroscience* 23 (2005) 183–187.
12. Bayer A., Altaman J., Raymond J., Zhang X. (1993) Timetables of neurogenesis in the human brain based on experimentally determined patterns in the rat. *Neurotoxicology* 14(1) 83-144
13. Beach, F. A. & Jaines, J. (1954). Effects of early experience upon the behavior of animals. *Psychological Bulletin,* 51, 3, 239-263.

14. Benaroya-Milshtein, N., Hollander, N., Apter, A., Kukulansky, T., Raz, N., Wilf, A. Pick, C. G. (2004). Environmental enrichment in mice decreases anxiety, attenuates stress responses and enhances natural killer cell activity. *European Journal of Neuroscience*, 20(5), 1341–1347. doi:10.1111/j.1460-9568.2004.03587.x
15. Berardi, N., Braschi, C., Capsoni, S., Cattaneo, A. y Maffei, L. (2007). Environmental enrichment delays the onset of memory deficits and reduces neuropathological hallmarks in a mouse model of Alzheimer-like neurodegeneration. *J. Alzheimers Dis.* 11, 359-370.
16. Carlstead, D. Shepherdson, Effects of environmental enrichment on reproduction, *Zoo Biology*. 13 (1994) 447–458. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/zoo.1430130507> Carughi, A., Carpenter, K.J. y Diamond, M.C. (1989). Effect of Environmental Enrichment during Nutritional Rehabilitation on Body Growth, Blood Parameters and Cerebral Cortical Development of Rats. *The Journal of Nutrition*, 119(12), 2005–2016. doi:10.1093/jn/119.12.2005.
17. Catani M, Dell'acqua F, Thiebaut de Schotten M. A revised limbic system model for memory, emotion and behaviour. *Neurosci Biobehav Rev.* 2013 Sep;37(8):1724-37. doi: 10.1016/j.neubiorev.2013.07.001. Epub 2013 Jul 9. PMID: 23850593.
18. Courchesne E, Yeung-Courchesne R, Press GA, Hesselink JR, Jernigan TL. Hypoplasia of cerebellar vermal lobules VI and VII in autism. *N Engl J Med.* 1988 May 26;318(21):1349-54. doi: 10.1056/NEJM198805263182102. PMID: 3367935.
19. Cowan ET, Schapiro AC, Dunsmoor JE, Murty VP. Memory consolidation as an adaptive process. *Psychon Bull Rev.* 2021 Dec;28(6):1796-1810. doi: 10.3758/s13423-021-01978-x. Epub 2021 Jul 29. PMID: 34327677.
20. Dere E, Huston JP, De Souza Silva MA. The pharmacology, neuroanatomy and neurogenetics of one-trial object recognition in rodents. *Neurosci Biobehav Rev.* 2007;31(5):673-704. doi: 10.1016/j.neubiorev.2007.01.005. Epub 2007 Feb 12. PMID: 17368764.
21. Domínguez-Salazar E, Camacho FJ, Paredes RG. Perinatal inhibition of aromatization enhances the reward value of sex. *Behav Neurosci.* 2008 Aug;122(4):855-60. doi: 10.1037/0735-7044.122.4.855. PMID: 18729639.
22. Donohue MR, Childs AW, Richards M, Robins DL. Race influences parent report of concerns about symptoms of autism spectrum disorder. *Autism.* 2019 Jan;23(1):100-111. doi: 10.1177/1362361317722030. Epub 2017 Nov 3. PMID: 29100475; PMCID: PMC5930138.
23. Donovan A. y Basson M The neuroanatomy of autism a developmental perspective *J. Anat.* (2016) doi: 10.1111/joa.12542.
24. Durkin MS, Maenner MJ, Baio J, et al. Autism Spectrum Disorder Among US Children (2002-2010): Socioeconomic, Racial, and Ethnic Disparities. *Am J Public Health.* 2017;107(11):1818-1826. doi:10.2105/AJPH.2017.304032
25. Faherty, C. J., Raviie Shepherd, K., Herasimtschuk, A., y Smeyne, R. J. (2005). Environmental enrichment in adulthood eliminates neuronal death in experimental Parkinsonism. *Molecular Brain Research*, 134(1), 170–179. doi:10.1016/j.molbrainres.2004.08.008.
26. Favre R.,Barkat T.,LaMendola D., Khanzen G., Markram K. (2013). General developmental health in the VPA-rat model of autism. *F.Beh.Neu.* Vol 7. Art. 88. 1-11
27. Fisch, I.V. de Oliveira, J. Fank, L.M.G. Paim, M.R. Zandoná, E.F. Lopes, F.B.de Mello, A.T.D. de Oliveira, Effects of environmental enrichment on reproductive performance and quantity and morphology of cumulus-oocyte complexes obtained from *Rattus norvegicus.*, *Theriogenology.* 94 (2017) 114–119. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.02.014>.

28. Geier DA, Geier MR. A prospective study of mercury toxicity biomarkers in autistic spectrum disorders. *J Toxicol Environ Health A*. 2007; 70(20): 1723-30.
29. Godoy, M. A. de, Souza, A. S. de, Lobo, M. A., Sampaio, O. V. K., Moraes, L., Baldanza, M. R., Santiago, M. F. (2013). Effects of protein restriction during gestation and lactation on cell proliferation in the hippocampus and subventricular zone: Functional implications. Protein restriction alters hippocampal/SVZ cell proliferation. *Brain Research*, 1496, 10–27. doi:10.1016/j.brainres.2012.10.047
30. Göttlicher, M., Minucci, S., Zhu, P., Krämer, O.H., Schimpf, A., Giavara, S., Sleeman, J.P., Lo Coco, F., Nervi, C., Pelicci, P.G., and Heinzl, T. (2001). Valproic acid defines a novel class of HDAC inhibitors inducing differentiation of transformed cells. *EMBO J*. 20, 6969–6978.
31. Gray JA, McNaughton N. Comparison between the behavioural effects of septal and hippocampal lesions: a review. *Neurosci Biobehav Rev*. 1983 Summer;7(2):119-88. doi: 10.1016/0149-7634(83)90014-3. PMID: 6348604.
32. Hockly, E., Cordery, P.M., Woodman, B., Mahal, A., VanDellen, A., Blakemore, C., (2002). Environmental enrichment slows disease progression in R6/2 Huntington's disease mice. *Ann. Neurol*. 51, 235–242. doi:10.1002/ana.10094
33. Ingram JL, Peckham SM, Tisdale B, Rodier PM (2000). Prenatal exposure of rats to valproic acid reproduces the cerebellar anomalies associated with autism. *Neurotoxicol Teratol* 22(3) 319-24
34. Ismail FY, Fatemi A, Johnston MV. Cerebral plasticity: Windows of opportunity in the developing brain. *Eur J Paediatr Neurol*. 2017 Jan;21(1):23-48. doi: 10.1016/j.ejpn.2016.07.007. Epub 2016 Aug 9. PMID: 27567276.
35. Johnson, E.; Adamo-Villani, N. (2010). "A Study of the Effects of Immersion on Short-term Spatial Memory". *Engineering and Technology*. 71: 582–587.
36. Juliandi, B., Tanemura, K., Igarashi, K., Tominaga, T., Furukawa, Y., Otsuka, M., Moriyama, N., Ikegami, D., Abematsu, M., Sanosaka, T., Tsujimura, K., Narita, M., Kanno, J., Nakashima, K., 2015. Reduced Adult Hippocampal Neurogenesis and Cognitive Impairments following Prenatal Treatment of the Antiepileptic Drug Valproic Acid. *Stem Cell Reports* 5, 996–1009. doi:10.1016/j.stemcr.2015.10.012.
37. Kaur M, Srinivasan SM, Bhat AN. Atypical object exploration in infants at-risk for autism during the first year of life. *Front Psychol*. 2015 Jun 16;6:798. doi: 10.3389/fpsyg.2015.00798. PMID: 26136702; PMCID: PMC4468838.
38. Kempermann, G., Kuhn, H. G. & Gage, F. H. More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature* 386, 493–495 (1997).
39. Kempermann G. Environmental enrichment, new neurons and the neurobiology of individuality. *Nat Rev Neurosci*. 2019 Apr;20(4):235-245. doi: 10.1038/s41583-019-0120-x. PMID: 30723309.
40. Kim K., Kim P., Go H., Choi C., Yang S., Cheong J., Shin C., y Ko K. (2011). The critical period of valproate exposure to induce autistic symptoms in Sprague-Dawley rats. *Toxicology letters* 201. 137-142
41. Kolb, B., Mychasiuk, R., Muhammad, A., & Gibb, R. (2013). Brain Plasticity in the Developing Brain. *Progress in Brain Research*, 35–64. doi:10.1016/b978-0-444-63327-9.00005-9

42. Kolb B, Mychasiuk R, Gibb R. Brain development, experience, and behavior. *Pediatr Blood Cancer*. 2014 Oct;61(10):1720-3. doi: 10.1002/pbc.24908. Epub 2013 Dec 24. PMID: 24376085.
43. Korosi A, Naninck EF, Oomen CA, Schouten M, Krugers H, Fitzsimons C, Lucassen PJ. Early-life stress mediated modulation of adult neurogenesis and behavior. *Behav Brain Res*. 2012 Feb 14;227(2):400-9. doi: 10.1016/j.bbr.2011.07.037. Epub 2011 Jul 28. PMID: 21821065.
44. Kolarik, B.; Ekstrom, A. (2015-01-01). "The Neural Underpinnings of Spatial Memory and Navigation". *Brain Mapping*. pp. 507–514. doi:10.1016/B978-0-12-397025-1.00277-3. ISBN 9780123973160.
45. Kostrouchová M, Kostrouch Z, Kostrouchová M. (2007) Valproic acid, a molecular lead to multiple regulatory pathways. *Folia Biol* 53: 37-49
46. Lagace DC, O'Brien WT, Gurvich N, Nachtigal MW, Klein PS. Valproic acid: how it works. Or not. *Clinical Neuroscience Research*. 2004; 4(3-4): 215-25.
47. Larsson K. (1979) Features of the neuroendocrine regulation of masculine sexual behavior. *Endocrine Control of sexual Behavior* 77-163.
48. Larsson K, Ahlenius S. Brain and sexual behavior. *Ann N Y Acad Sci*. 1999 Jun 29;877:292-308. doi: 10.1111/j.1749-6632.1999.tb09274.x. PMID: 10415656.
49. Lovaas OI. Behavioral treatment and normal educational and intellectual functioning in young autistic children. *J Consult Clin Psychol*. 1987 Feb;55(1):3-9. doi: 10.1037//0022-006x.55.1.3. PMID: 3571656.
50. Mas M. Neurobiological correlates of masculine sexual behavior. *Neurosci Biobehav Rev*. 1995 Summer;19(2):261-77. doi: 10.1016/0149-7634(94)00059-a. PMID: 7630582.
51. McNaughton, N., Morris, R.G.M., 1987. Chlordiazepoxide, an voluntary movement in the rat. *Electroencephalogr. Clin. anxietytic benzodiazepine, impairs place navigation in rats. Neurophysiol.* 26, 407–418. *Behav. Brain Res.* 24, 39–46. DOI: 10.1016/0166-4328(87)90034-9
52. McNaughton N, Gray JA. Anxiolytic action on the behavioural inhibition system implies multiple types of arousal contribute to anxiety. *J Affect Disord*. 2000 Dec;61(3):161-76. doi: 10.1016/s0165-0327(00)00344-x. PMID: 11163419.
53. Mesa-Gresa P., Pérez-Martinez A., Redolat R.(2013). Environmental enrichment improves novel object recognition and enhances agonistic behavior in male mice. *Aggr. Behav.* Volume 39, pages 269–279
54. Milgram, N.W., Siwak-Tapp, C.T., Araujo, J., y Head, E. (2006). Neuroprotective effects of cognitive enrichment. *Ageing Research Reviews*, 5(3), 354–369. doi:10.1016/j.arr.2006.04.004.
55. Milner B. Disorders of learning and memory after temporal lobe lesions in man. *Clin Neurosurg* 1972; 19:421-446.
56. Moldin SO, Rubenstein JLR. *Understanding Autism*. Boca Raton, FL, USA: Taylor& Francis Group 2006: 1-526.
57. Morris R, Moser E, Riedel G, Martin S, Sandin J, Day M, et al. Elements of a neurobiological theory of the hippocampus: the role of activity- dependent synaptic plasticity in memory. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2003;358:773–86.
58. Mos J, Mollet I, Tolboom JT, Waldinger MD, Olivier B. A comparison of the effects of

- different serotonin reuptake blockers on sexual behaviour of the male rat. *Eur Neuropsychopharmacol.* 1999 Jan;9(1-2):123-35. doi: 10.1016/s0924-977x(98)00015-7. PMID: 10082238.
59. Ornoy A. Valproic acid in pregnancy: How much are we endangering the embryo and fetus? *Reproductive Toxicology.* 2009; 28(1): 1-10.
  60. Otsuka, M., Igarashi, K., Narita, M., Hirabayashi, Y., Epigenetic toxicity of environmental chemicals upon exposure during development - Bisphenol A and valproic acid may have epigenetic effects, *Food and Chemical Toxicology* (2017), doi: 10.1016/j.fct.2017.09.014.
  61. Palmen SJ, van Engeland H, Hof PR, Schmitz C. Neuropathological findings in autism. *Brain.* 2004 Dec;127(Pt 12):2572-83. doi: 10.1093/brain/awh287. Epub 2004 Aug 25. PMID: 15329353.
  62. Paredes RG, Vazquez B. What do female rats like about sex? Paced mating. *Behav Brain Res.* 1999 Nov 1;105(1):117-27. doi: 10.1016/s0166-4328(99)00087-x. PMID: 10553695.
  63. Paredes RG. Evaluating the neurobiology of sexual reward. *ILAR J.* 2009;50(1):15-27. doi: 10.1093/ilar.50.1.15. PMID: 19106449.
  64. Patterson P. (2011) Modeling autistic features in Animals *Pediatric Research* 69:7
  65. Pereira L , Nice Sarmiento A.i , Ruth Chamorro Petersen R, Padilha da Rocha A, Matilde Achaval, Alexandre Netto (2007). Effects of daily environmental enrichment on memory and brain injury following neonatal hypoxia-ischemia in the rat *Neurobiology of Learning and Memory* 87 101–108.
  66. Pereira LO, Strapasson AC, Nabinger PM, Achaval M, Netto CA. Early enriched housing results in partial recovery of memory deficits in female, but not in male, rats after neonatal hypoxia-ischemia. *Brain Res.* 2008 Jul 7;1218:257-66. doi: 10.1016/j.brainres.2008.04.010. Epub 2008 Apr 16. PMID: 18514167.
  67. Phillips-Farfán BV, Fernández-Guasti A. Endocrine, neural and pharmacological aspects of sexual satiety in male rats. *Neurosci Biobehav Rev.* 2009 Mar;33(3):442-55. doi: 10.1016/j.neubiorev.2008.11.003. Epub 2008 Nov 27. PMID: 19073212.
  68. Pizzutto, Cristiane & Sgai, Manuela & A.B.V. Guimarães, Marcelo. (2009). O enriquecimento ambiental como ferramenta para melhorar a reprodução e o bem-estar de animais cativos: revisão.. *Revista Brasileira de Reprodução Animal.* 33. 129-138.
  69. Ranganath C, Libby A, Wong L. Human learning and memory in: Frankish, K. and Ramsey, W. (eds.). ‘The Cambridge Handbook of Cognitive Science’. 1st ed. New York: Cambridge University Press; 2012
  70. Reynolds S, Millette A, Devine DP. Sensory and motor characterization in the postnatal valproate rat model of autism. *Dev Neurosci.* 2012;34(2-3):258-67. doi: 10.1159/000336646. Epub 2012 May 24. PMID: 22627078; PMCID: PMC3578287.
  71. Rodier PM, Ingram JL, Tisdale B, Nelson S, Romano J (1996). Embryological origin for autism: developmental anomalies of the cranial nerve motor nuclei. *J Comp Neurol* 370: 247–261.
  72. Rodier PM, Ingram JL, Tisdale B, Croog VJ (1997). Linking etiologies in humans and animal models: studies of autism. *Reprod Toxicol* 11: 417–422.
  73. Rosenzweig MR, Bennett EL. Cerebral changes in rats exposed individually to an enriched environment. *J Comp Physiol Psychol.* 1972 Aug;80(2):304-13. doi: 10.1037/h0032978. PMID: 5047833.

74. Sachs BD, Meisel RL. Pubertal development of penile reflexes and copulation in male rats. *Psychoneuroendocrinology*. 1979 Oct;4(4):287-96. doi: 10.1016/0306-4530(79)90013-1. PMID: 523587.
75. Saft P, Toledo-Cardenas R, Coria-Avila GA, Perez-Pouchoulen M, Brug B, Hernandez ME et al. Characterization of four types of tail abnormalities in rats treated prenatally with valproic acid. *Revista Neurobiología* 2014; 5:1-6.
76. Schneider T, Labuz D, Przewlocki R (2001). Nociceptive changes in rats after prenatal exposure to valproic acid. *Pol J Pharmacol* 53:531–534.
77. Schneider T, Przewlocki R (2005). Behavioral alterations in rats prenatally exposed to valproic acid: animal model of autism. *Neuropsychopharmacology* 30: 80–89.
78. Schneider T, Turczak J, Przewlocki R. (2006) Environmental enrichment reverses behavioral alterations in rats prenatally exposed to valproic acid: issues for a therapeutic approach in autism. *Neuropsychopharmacology*. Jan;31(1):36-46. doi: 10.1038/sj.npp.1300767. PMID: 15920505.
79. Soares Roberto O, Horiquni-Barbosa Everton, Almeida Sebastiao S, Lachat Joao-Jose.(2017). Environmental enrichment protects spatial learning and hippocampal neurons from the long-lasting effects of protein malnutrition early in life. *Behavioural Brain Research* doi.org/10.1016/j.bbr.2017.08.012
80. Sparks BF, Friedman SD, Shaw DW, Aylward EH, Echelard D, Artru AA, Maravilla KR, Giedd JN, Munson J, Dawson G, Dager SR. Brain structural abnormalities in young children with autism spectrum disorder. *Neurology*. 2002; 59(2): 184-92.
81. Stromland K, Nordin V, Miller M, Akerstrom B, Gillberg C. Autism in thalidomide embryopathy: a population study. *Dev Med Child Neurol*. 1994; 36(4): 351-6.
82. Van Praag H, Kempermann G, Gage FH (2000). Neural consequences of environmental enrichment. *Nat Rev Neurosci* 1(3):191-198.
83. Verhoeff B. Autism in flux: a history of the concept from Leo Kanner to DSM-5. *Hist Psychiatry* 2013 24: 442–458.
84. Vorhees, C.V. (1987) Behavioral teratogenicity of valproic acid: Selective effects on behavior after prenatal exposure to rats. *Psychopharmacology*92: 173-179.
85. Weber AM, Egelhoff JC, McKellop JM, Franz DN. Autism and the cerebellum: evidence from tuberous sclerosis. *J Autism Dev Disord*. 2000; 30(6): 511-7.
86. Wheless JW, Clarke DF, Arzimanoglou A, Carpenter D. Treatment of pediatric epilepsy: European expert opinion, 2007. *Epileptic Disord*. 2007 Dec;9(4):353-412. doi: 10.1684/epd.2007.0144. PMID: 18077226.
87. Williams RS, Hauser SL, Purpura DP, DeLong GR, Swisher CN. Autism and mental retardation: neuropathologic studies performed in four retarded persons with autistic behavior. *Arch Neurol* 1980; 37: 749–53.
88. Williams PG, Hersh JH. A male with fetal valproate syndrome and autism. *Dev Med Child Neurol*. 1997; 39(9): 632-
89. Yamaguchi Hiroshi, Hara Yuta, Ago Yukio, Takano Erika, Hasebe Shigeru, Nakazawa Takanobu, Hashimoto Hitoshi, Matsuda Toshio, Takuma Kazuhiro. (2017). Environmental enrichment attenuates behavioral abnormalities in valproic acid-exposed autism model mice. *Behavioural Brain Research* <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2017.06.035>.

## 11 Glosario

- *ad libitum*. - Expresión en latín que significa libremente o a voluntad. Empleado para describir libre acceso a los alimentos.
- Alzheimer, Enfermedad. - Enfermedad progresiva que afecta a la memoria y a otras funciones mentales.
- Autismo. -Trastorno psicológico que se caracteriza por la intensa concentración de una persona en su propio mundo y la progresiva pérdida de contacto con la realidad del exterior.
- Cognitiva, Deficiencia/Capacidad.- Consiste en procesos tales como el aprendizaje, el razonamiento, la atención, la memoria, la resolución de problemas, la toma de decisiones; con la finalidad de interactuar con el entorno.
- Celular, Diferenciación.-Mecanismo mediante el cual una célula no especializada sufre modificaciones citológicas, dando lugar a los numerosos tipos celulares.
- Celular, División.- Mecanismo celular en la que una célula inicial se divide para formar células hijas
- Celular, Migración.- A partir de la fecundación, las células comienzan a multiplicarse para constituir lo que más adelante será un ser vivo. No pueden solamente reproducirse y quedarse en el sitio donde nacieron, así que migran hacia un lugar específico para realizar su función, sea para formar un órgano, desarrollar algún trabajo en el organismo o moldearlo para adquirir su forma
- Estro.- El ciclo estral o estro; es el conjunto de acontecimientos fisiológicos que se producen en el ovario, a intervalos de tiempo no cíclicos, como consecuencia de las variaciones en los niveles hormonales y que regula la receptividad femenina depende de las características como la temperatura, condiciones alimenticias o la presencia de olores de machos etc. Además, no se produce el desprendimiento del endometrio sino que este es reabsorbido.
- Estrógenos.- Son hormonas sexuales esteroideas (derivadas del colesterol) principalmente producidas por los ovarios, por la placenta durante el embarazo y en menores cantidades, por las glándulas adrenales.
- Epilepsia.-Trastorno en el que se interrumpe la actividad de las células nerviosas en el cerebro, lo que provoca convulsiones.
- Gestación.-Estado de la mujer o de la hembra de mamífero que lleva en el útero un embrión o un feto producto de la fecundación del óvulo por el

espermatozoide.

- Hipocampo.- Tanto en humanos como en otros primates, el hipocampo se localiza en el interior de la parte medial o interna del lóbulo temporal, bajo la superficie cortical. Tiene un papel importante en la formación de nuevos recuerdos de los acontecimientos experimentados.
- Hipófisis, Glándula.- Glándula de secreción interna del organismo que está en la base del cráneo y se encarga de controlar la actividad de otras glándulas y de regular determinadas funciones del cuerpo.
- Hipoxia.-Es la ausencia de oxígeno suficiente en los tejidos como para mantener las funciones corporales.
- Huntington`s, Enfermedad.- Padecimiento neurológico y hereditario. Produce alteración psiquiátrica y motora; de progresión muy lenta. El rasgo externo más asociado a la enfermedad es el movimiento exagerado de las extremidades y la aparición de muecas repentinas.
- Isquemia.- Disminución de la circulación de sangre a través de las arterias de una determinada zona.
- Laberinto acuático de Morris.- Prueba para evaluar la memoria espacial y el aprendizaje en roedores de laboratorio.
- Lactación.- Es una forma de alimentación que presentan los mamíferos, comienza en el nacimiento y promueve la síntesis de leche producida en el seno materno. controla la maduración de los folículos, la ovulación, la iniciación del cuerpo lúteo y la secreción de progesterona.
- Mielinización, Neuronal.- Consiste en recubrir los axones (partes de las neuronas en forma de cilindro alargado) con una sustancia llamada mielina o vaina de mielina, que se encarga de brindar protección específicamente a estas partes de la neurona.
- Neurona.- Componente principal del sistema nervioso, cuya función principal es recibir, procesar y transmitir información a través de señales químicas y eléctricas.
- Neurotróficos, Factores.- Son péptidos o proteínas, que apoyan el crecimiento, la supervivencia y la diferenciación de las neuronas en desarrollo y también ya en edad madura.
- Neuropatologías.- Enfermedades propias del sistema nervioso, especialmente a nivel tisular. Es una especialidad de la anatomía patológica muy ligada a la

neurociencia y a la histología.

- Parkinson, Enfermedad.- Enfermedad progresiva del sistema nervioso que afecta el movimiento. Los síntomas comienzan gradualmente. A veces, comienza con un temblor apenas perceptible en una sola mano. Los temblores son habituales, aunque la enfermedad también suele causar rigidez o disminución del movimiento.
- Progesterona.- Hormonas sexuales que se desarrollan en la pubertad y en la adolescencia en el sexo femenino, actúa principalmente durante la segunda parte del ciclo menstrual, parando los cambios endometriales que inducen los estrógenos y estimulando los cambios madurativos, preparando así al endometrio para la implantación del embrión.
- Sinapsis, Neuronal.- es una aproximación (funcional) intercelular especializada entre neuronas
- Sinaptogénesis.- Es el incremento en el número de sinapsis entre neuronas.
- Testosterona.- Principal hormona sexual en los machos. Ayuda en el desarrollo de los testículos y en la expresión de los caracteres sexuales secundarios.