



Universidad Autónoma del Estado de México

Facultad de Ciencias

Licenciatura en Biotecnología

Título:

Inmunoreactividad de c-Fos en el núcleo cama de la
estría terminalis, septum lateral y área preóptica asociada
a estímulos socio-ambientales novedosos

Tesis que para obtener el grado:

Licenciada en Biotecnología

PRESENTA

Brianda Eslava Guerrero

ASESOR

Dr. Arturo Venebra Muñoz

ÍNDICE

1. Capitulo 1. Sección Inicial
 - 1.1. Dedicatoria
 - 1.2. Agradecimientos
 - 1.3. Introducción
2. Capitulo 2. Sección Teórica
 - 2.1. Antecedentes
 - 2.2. Comportamiento Social
 - 2.3. Comportamiento y Entorno
 - 2.4. Novedad
 - 2.5. La reactividad del sistema nervioso, cambiada por el medio ambiente
 - 2.6. c-FOS
 - 2.7. Áreas Cerebrales
 - 2.7.1. Núcleo Cama de la Estría Terminal
 - 2.7.2. Área Preóptica Media
 - 2.7.3. Septum Lateral
3. Capitulo 3. Sección Experimental
 - 3.1. Animales
 - 3.1.1. Alojamiento
 - 3.1.2. Manipulación
 - 3.1.3. Pruebas y grupos experimentales
 - 3.1.4. Área de prueba
 - 3.2. Histología
 - 3.3. Análisis
 - 3.4. Resultados
4. Capitulo 4. Sección Final
 - 4.1. Discusión
 - 4.2. Conclusión
 - 4.3. Anexos
 - 4.3.1. Registro de Animales
 - 4.3.2. Registro conductual
 - 4.4. Bibliografía

CAPITULO 1. SECCIÓN INICIAL

DEDICATORIA

A mis padres, como un testimonio de gratitud y eterno reconocimiento, por el apoyo que siempre me han brindado y con el cual he logrado terminar mi carrera profesional, siendo para mí, la mejor de las herencias.

AGRADECIMIENTOS

A Dios.

Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos.

A mi familia: a mis padres Arturo y Laura, y a mi hermano Arturo.

Por los ejemplos de perseverancia y constancia que los caracterizan y que me han infundado siempre, por el valor mostrado para salir adelante, por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, y por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor.

A mis maestros.

Al Dr. Arturo Venebra Muñoz por su gran apoyo, enseñanza y motivación para la culminación de mis estudios profesionales, y para la elaboración de esta tesis. A todos mis maestros, aquellos que marcaron cada etapa de mi camino universitario, y que me ayudaron en asesorías y dudas presentadas en la elaboración de la tesis.

A mis amigos.

Que me han apoyado en mi formación profesional y que hasta ahora, seguimos siendo amigos: Alejandro, Tonatiuh, Humberto, Alicia, Andrea, David, Magda, Jade, Brian, a mis compis y a Yvette por haberme ayudado a realizar este trabajo.

INTRODUCCIÓN

El papel de la experiencia inicial en el desarrollo del comportamiento adulto y la psicopatología han sido de gran interés para los neurobiólogos durante décadas (Levine, 2002a). Las experiencias tempranas pueden ser traumáticas y aumentar la vulnerabilidad en un futuro, contribuyendo a los síntomas asociados con la depresión, la ansiedad, trastornos, abuso de sustancias y trastornos de estrés postraumático (Francis y Kuhar, 2008). En contraste, las experiencias tempranas pueden tener consecuencias positivas para la posterior socialización y regulación de la emoción, resistencia a las enfermedades, buena memoria, entre otras variables (Berardi *et al.*, 2007; Herring *et al.*, 2008; Carter *et al.*, 2009).

Una de las razones del porqué se desarrolló la neurociencia social es por el interés hacia el funcionamiento de las relaciones sociales. Interesa saber qué es lo normal y qué no, ya que de estos conocimientos depende el desempeño de áreas como la medicina y la psicología. Muchas de las anomalías en la conducta humana, como disfunciones sexuales, autismo, adicciones, anorexia, depresión e incluso esquizofrenia, están relacionadas con déficits sociales asociados a problemas del sistema de recompensa (Rich y Caldwell, 2015).

Cerca de la década los 80 s, se revolucionaron las técnicas para el estudio del cerebro. Estos avances fueron seguidos por el desarrollo de técnicas modernas de inmunohistoquímica, permitiendo que los investigadores rápidamente comenzaran a utilizar estos métodos para explorar las vías neurales que median en numerosos tipos de comportamientos sociales. Podría decirse que el primer camino que se abordó fue la circuitería de la conducta de apareamiento en el hámster, que se inició con las descripciones de las proyecciones vomeronasal en el cerebro (Powers *et al.*, 1975). Como la arquitectura neuronal entró en vigor, se hizo evidente que no solo el apareamiento es la única vía de comportamiento, mostró una amplia superposición con regiones del cerebro que regulan otros comportamientos sociales, incluyendo agresión, comunicación social y cuidado por parte de

los padres, estas áreas del cerebro ahora se conocen colectivamente como la "red de comportamiento social" (SBN por sus siglas en inglés) (Goodson, 2005).

A la fecha, se conoce que la socialización en edades tempranas son necesarias para el desarrollo de la conducta social adulta, no obstante, la mayoría de las investigaciones se ha centrado en otro tipo de interacciones sociales, como conducta materna, formación de parejas y preferencias sociales en adultos. Debido a lo anterior, este trabajo está pensado para conocer cómo impactan los estímulos sociales específicamente durante la juventud. La información recopilada ayudará a desarrollar nuevas investigaciones en el ámbito de los ambientes enriquecidos como generadores de plasticidad cerebral y amortiguadores ante la generación de adicciones a drogas de abuso. Al analizar los componentes básicos de la SBN, el patrón de actividad en el *Núcleo Cama de la Estría Terminal* (BNST por sus siglas en inglés), *Septum Lateral* (LS por sus siglas en inglés) y *Área Preóptica Media* (mPA por sus siglas en inglés), ante la novedad social en ratas jóvenes a diferentes estímulos socio-ambientales (ambiental novedoso, social familiar y social novedoso).

Debido a que las interacciones sociales durante la juventud son necesarias para el buen desarrollo de la conducta social adulta, se espera que haya un mayor número de neuronas inmunoreactivas a c-Fos (proteína cuya presencia es señal de actividad neuronal) en áreas cerebrales en ratas jóvenes expuestas a estímulos sociales novedosos en comparación con ratas jóvenes expuestas a estímulos sociales familiares o estímulos ambientales novedosos no sociales.

Los estudios de la neurobiología social se han focalizado principalmente en la formación de lazos afectivos y en la conducta materna. Los modelos animales más utilizados son la especie *Microtus ochrogaster*, pequeños roedores llamados topillos de pradera que forman lazos de por vida con su pareja (Insel y Hulihan, 1995), y la rata de laboratorio *Rattus norvegicus*, la

cual no es una especie monógama, pero es el modelo más utilizado para estudiar el cuidado materno (Champagne et al., 2003).

Socialización

En la rata, la edad juvenil se presenta entre el día 21 y 55 postparto, periodo en el cual, la socialización es importante para favorecer el desarrollo de una conducta normal en su vida adulta (Meaney y Stewart, 1981). Durante la juventud, la conducta social va cambiando conforme al desarrollo de las crías, los primeros días solo prestan atención a la madre pero durante la segunda semana comienzan a experimentar con las conductas de juego entre hermanos. Al principio, estas conductas, están dirigidas hacia la madre y sus hermanos independientemente de su sexo, pero a partir del día 35, los machos comienzan a dirigir su juego hacia las hembras, y las hembras hacia sus compañeros del mismo sexo (Meaney y Stewart, 1981).

Se ha sugerido que el juego en las ratas jóvenes se presenta para estimular el sistema motor, e incluso se ha llegado a pensar que es una especie de “práctica” para desarrollar las conductas agresivas y reproductivas de la vida adulta (Meaney y Stewart, 1981). Independientemente de su función, se sabe que el juego es una conducta sumamente recompensante en las ratas y en otros mamíferos, además, cuando la rata entra en la etapa adulta, las conductas de juego se reducen significativamente (Meaney y Stewart, 1981).

Es importante señalar que el entorno social es complejo, y no sólo proporciona oportunidades de apareamiento y otros comportamientos afiliativos, sino también escenarios estresantes que implican competencia, rechazo social, aislamiento y miedo. Estos factores de estrés social producen comportamientos anormales en los mamíferos, como aumento de la ansiedad (Huot et al., 2001), deterioro de la respuesta al miedo (Ladd et al., 2000), deterioro del aprendizaje en las tareas de navegación espacial (Huot et al., 2002).

Efectos del ambiente social

En edades tempranas, la estimulación social y la estimulación ambiental son necesarias para el buen desarrollo de la conducta social adulta. En especies que suelen vivir en grupos, el aislamiento social provoca estrés, ansiedad e incrementa las preferencias por los ambientes sociales más de lo normal, cosa que no ocurre en las especies que son solitarias (Shapiro e Insel, 1990). Se ha sugerido que las conductas maternas son heredadas epigenéticamente, lo que quiere decir que las hembras presentarán o darán a sus crías el mismo tipo de cuidado materno que ellas recibieron (Bales et al., 2011). Otro de los factores que tiene impacto sobre el desarrollo y puede causar problemas en los sistemas neuroendocrinos es la manipulación, principalmente en los ambientes de laboratorio. Se ha observado que si las crías son manipuladas por largos períodos (más de 10 minutos) incluyendo la separación de la madre, se compromete el desarrollo del sistema oxitocinérgico (Bales et al., 2011).

Por otra parte, poco se sabe en cuanto a las diferencias en el procesamiento cerebral de diferentes estímulos socio-ambientales. Aunque pueden representar estímulos recompensantes o aversivos, dependiendo del contexto en el que ocurran, parece que la socialización es preferida sobre la novedad ambiental (Van Loo et al., 2004), además también hace falta saber si el procesamiento de la información de las recompensas sociales difiere en cuanto al contexto social en que se desenvuelve un individuo.

Nuestro grupo de investigación se ha dedicado a estudiar el impacto que tiene la variación ambiental sobre la plasticidad neuronal y como esta variación ambiental puede proteger a un individuo ante conductas como las adictivas. De particular interés los modelos para implementar una variación ambiental, también llamados “enriquecimientos ambientales” han dejado de lado la importancia que tiene la novedad social, la mayoría de los reportes mencionan que es importante pero no lo analizan de forma puntual. El presente trabajo se enfoca en analizar de forma particular la relevancia que

tiene la novedad social en la activación de algunas regiones cerebrales y podrá sugerir la importancia que tiene cuando se utiliza en un enriquecimiento ambiental.

CAPITULO 2. SECCIÓN TEÓRICA

ANTECEDENTES

Es importante considerar algunos de los descubrimientos previos que tienen importancia para nuestro conocimiento actual del comportamiento animal, con énfasis particular en el tema de la influencia genética en la conducta de los animales. Al respecto, en la primera mitad del siglo XVII, Descartes llegó a la conclusión de que "los cuerpos de los animales y los hombres actúan enteramente como máquinas, y se mueven de acuerdo con leyes meramente mecánicas" (Huxley, 1874). Luego de Descartes, otros tomaron la tarea de explicar la conducta como una reacción a sucesos puramente físicos, químicos o mecánicos. Durante los siguientes tres siglos, el pensamiento científico acerca del comportamiento osciló entre la visión mecanicista, según la cual los animales son "autómatas" que se mueven por la vida sin conciencia ni sentido de su propia existencia, y una visión opuesta según la cual los animales tienen pensamientos y sentimientos similares a los de los seres humanos.

En el origen de las especies, las ideas de Darwin sobre la evolución comenzaron a despertar serias dudas acerca de la visión mecanicista del comportamiento animal. Darwin observó que los animales comparten muchas características físicas, y fue uno de los primeros en ocuparse de la variación dentro de una misma especie, tanto en el comportamiento como en la apariencia física. Él creía que la selección artificial y la selección natural estaban íntimamente asociadas (Darwin, 1868), y delineó con gran sagacidad la teoría de la evolución sin tener ningún conocimiento de genética. En el origen del hombre llegó a la conclusión de que los rasgos del temperamento de los animales son heredados. También pensaba como muchos otros científicos de su época, que los animales tienen sensaciones subjetivas y que pueden pensar. Escribió: *"Las diferencias entre la mente del hombre y la de los animales superiores, por grandes que sean, son por cierto de grado y no de clase"*.

En otros científicos se hizo eco de las implicancias de la teoría de Darwin en cuanto al comportamiento animal, y llevaron a cabo experimentos para investigar los instintos. Herrick (1908), observó el comportamiento de las aves salvajes con el objeto de determinar, primero, cómo se modifican sus instintos por obra de su capacidad de aprender, y segundo, el grado de inteligencia que alcanzan. Respecto del tema del pensamiento animal, (Schroeder, 1914) concluyó: *"La solución, si algún día llega, difícilmente evite ilustrar, si no la mente animal, al menos la del hombre"*. Para los científicos que estudiaban el comportamiento animal en situaciones naturales, ya era evidente a fines del siglo XIX que el enfoque mecanicista no podía explicar todas las conductas.

Comportamiento social

Dentro de la unidad social de la colonia, la rata exhibe un repertorio complejo y bien organizado de un comportamiento social. Factores como la edad, sexo, familiaridad y rango social de un animal y, además, la naturaleza del entorno en el que se producen las interacciones sociales, influyen en los comportamientos sociales exhibidos por los animales. Por ejemplo, cuando se observa una poca agresión entre dos machos colocados en un entorno desconocido, sí el ambiente es familiar para uno de los animales, que cuando la agresión es dirigida para un intruso (Meaney y Stewart, 1979). Por lo tanto, el comportamiento social normal de los adultos de la rata se caracteriza por la respuesta diferencial a las señales relacionadas con otros animales y al medio ambiente. El funcionamiento social final de un animal, entonces, depende de su capacidad para exhibir los comportamientos apropiados en el contexto apropiado.

Si bien existen varios estudios detallados y descriptivos de estas habilidades sociales en ratas adultas, las condiciones necesarias para su desarrollo pre-adulto son mucho menos conocidas. Un enfoque de esta cuestión ha sido restringir o eliminar el contacto social temprano entre animales durante ciertos períodos de tiempo. Los resultados de estos estudios de privación social han establecido que en la rata, el período juvenil ocurre a una edad de

21 a 55 días, periodo importante para el desarrollo del comportamiento social normal en la etapa adulta. Cuando se probaron como adultos, las ratas criadas en aislamiento se encontraron patrones anormales de los comportamientos de apareamiento, comportamiento agonístico y comportamientos afiliativos (Meaney y Stewart, 1979).

Los resultados de estos estudios de privación indican que una cierta cantidad de experiencia social temprana es necesaria para el desarrollo de patrones funcionales de comportamiento en adultos y ayudan a establecer parámetros para posibles períodos críticos para este desarrollo. Sin embargo, no proporcionan información sobre la naturaleza de la experiencia inicial necesaria para el desarrollo social normal en un área específica, ni sobre los procesos normales de desarrollo social en las especies (Bekorff, 1976). Así, aunque podamos saber que alguna forma de experiencia social temprana es necesaria para la competencia en alguna clase prescrita de comportamientos en la rata, sabemos poco de la naturaleza de esa experiencia temprana o de cómo esa experiencia influye en la competencia subsiguiente.

Comportamiento y entorno

En todos los sistemas sociales, los animales deben interactuar para sobrevivir y prosperar en sus entornos sociales y físicos. Los sistemas sociales notablemente diversos han evolucionado repetidamente a lo largo de la filogenia durante el curso de la evolución, reflejando las adaptaciones al medio ambiente limitadas por las capacidades intrínsecas de la especie. Quizás los grupos de animales surgieron inicialmente de los tiempos en que los animales se agruparon alrededor de las fuentes de alimento y de estos encuentros calóricos surgieron interacciones sociales organizadas. Se cree que todos estos grupos sociales continúan en una población porque los individuos obtienen un beneficio genético por sí mismos al ser miembros de un grupo. Dado que el comportamiento es la interfaz clave entre un animal y su entorno, los animales responden a las situaciones nuevas primero a través del cambio de comportamiento, mientras que las adaptaciones en la

morfología, la fisiología y la historia de la vida llevan más tiempo. Mientras que los etólogos han tendido a centrarse en los mecanismos y el desarrollo de la conducta, los ecólogos conductistas se han concentrado en general en las causas y consecuencias de la conducta social (Desjardins et al., 2015).

Novedad

Es todo aquello que es nuevo o extraño en el entorno de un animal. La novedad es una paradoja, porque atrae y provoca miedo en un mismo momento. Esta paradoja se acentúa en aquellos animales que tienen un temperamento nervioso o excitable. Confrontados con una novedad súbita, los animales altamente reactivos son más propensos a tener una fuerte reacción de miedo.

Los ejemplos de novedad súbita incluyen colocar al animal en una nueva jaula, transportarlo en un vehículo extraño, presenciar un ruido fuerte e inesperado o simplemente colocarlo en un espacio abierto. Mediante el uso de diversos ambientes experimentales Hennessy y Levine (1978), descubrieron que las ratas exhiben distintos grados de estrés y niveles de la hormona del estrés, que son proporcionales a cuán novedoso sea el ambiente en que se las coloca. Por ejemplo, una jarra de vidrio les parece totalmente nueva en comparación con el cubículo de laboratorio al que los animales ya están acostumbrados. Para las ratas, era más estresante ser puestas en una jarra de vidrio que en un cubículo limpio de laboratorio sin paja en el piso.

En mamíferos y aves, el desarrollo normal del cerebro y de los órganos sensoriales requiere del contacto con novedades y estímulos sensoriales variados. La investigación de Hubel y Wiesel (1970), demostró que el sistema visual de los gatos recién nacidos sufre un daño irreparable si ellos no reciben estímulos visuales variados durante su desarrollo. Schultz (1965), sostuvo que "cuando la variación en los estímulos es limitada, la regulación central de los umbrales de sensibilidad funcionará a niveles más bajos de estimulación". La influencia de las condiciones aisladas de crianza en el

desarrollo de reacciones de defensa pasiva (agresión temerosa) en perros, se encontró que la expresión de reacciones bien definidas de miedo depende del genotipo del animal (Krushinski, 1960). Este autor descubrió que la reacción de defensa pasiva se desarrollaba más agudamente, y alcanzaba un nivel superior, en los ovejeros alemanes que en los Airedale, criados todos ellos en aislamiento. En general, los animales criados en aislamiento se tornan más susceptibles a los estímulos sensoriales, porque su sistema nervioso procura readaptarse a la carencia previa de estimulación.

Cooper y Zubeck (1958), comprobaron que las ratas seleccionadas por su temperamento opaco mejoraban notablemente en el aprendizaje de laberintos cuando se les alojaba en un cubículo lleno de objetos diferentes. En cambio, las ratas seleccionadas por su alta inteligencia no respondían mayormente al enriquecimiento del entorno. La crianza de las ratas en un medio ambiente pleno de objetos nuevos mejora el aprendizaje y aumenta el crecimiento de sus dendritas o terminales nerviosas del cerebro (Grenough y Juraska, 1979).

En resumen, la novedad es algo a la vez temido y buscado, tanto por los animales salvajes como por los domésticos. Lo novedoso se hace más deseable para el animal cuando éste se le puede aproximar lentamente. En cambio, cuando los animales son confrontados súbitamente con una novedad, ésta les produce miedo.

La reactividad del sistema nervioso es cambiada por el ambiente

La crianza de animales jóvenes en entornos despejados, carentes de variedad y de estímulos sensoriales, tiene efectos en el desarrollo del sistema nervioso. Esto puede ocasionar que el animal sea más reactivo y excitable cuando se convierta en adulto, esto puede ser un cambio persistente, inducido experimentalmente en la forma en que el sistema nervioso reacciona a diversos estímulos. Los efectos de las privaciones durante el desarrollo temprano también son relativamente persistentes.

Melzak y Burns (1965), descubrieron que los perros cachorros criados en jaulas carentes de estímulos se convertían en adultos hiperexcitables. En un experimento, los perros privados de estímulos reaccionaron con "excitación difusa" y corrieron más alrededor de un cuarto que los perros del grupo de control, criados en hogares. La presentación de objetos novedosos también produjo "excitación difusa" en los perros criados en caniles. Además, el electroencefalograma de estos perros siguió dando resultados anormales incluso después de haber abandonado la jaula (Melzak y Burns, 1965).

Por otro lado, la corteza somato-sensorial de los cerebros de ratas recién nacidas no se desarrolla normalmente si se recortan los bigotes a fin de privarlas de insumos sensoriales (Simons y Land, 1987), la carencia de estos insumos hace que el cerebro sea hipersensible a los estímulos, y los efectos persisten incluso después de que los bigotes hayan vuelto a crecer. El desarrollo de la reactividad emocional del sistema nervioso comienza durante la fase temprana de la gestación. Denenberg y Whimbey, 1968 demostraron que el manejo de una rata preñada puede hacer que su descendencia sea más emotiva y explore menos en un espacio abierto que los animales del grupo de control. Este experimento es significativo porque muestra que el manejo de la madre preñada tuvo el efecto opuesto en el comportamiento de sus crías. El manejo, y posiblemente el estrés consiguiente en las madres preñadas cambio el ambiente hormonal del feto, lo que resulto en una descendencia más nerviosa. Sin embargo, el manejo de las ratas recién nacidas, tomándolas brevemente y poniéndolas en un contenedor, redujo su reactividad emocional una vez que se convierten en adultas (Denenberg y Whimbey, 1968). Las ratas expuestas a este manejo desarrollan temperamentos más calmados.

Se conoce que las glándulas adrenales tienen efectos sobre el comportamiento (Fuller y Thompson, 1978). Las porciones internas de las adrenales segregan las hormonas adrenalina y noradrenalina, mientras que la corteza externa segrega las hormonas sexuales andrógenas y estrógenas (hormonas reproductivas), y varios corticoesteroides (hormonas del estrés). Yeakel y Rhoades (1941), descubrieron que las ratas emotivas tenían

glándulas adrenales y tiroides más grandes que las ratas no-emotivas, así mismo se encontró que en las ratas noruegas, la domesticación iba acompañada de una disminución en el tamaño de las adrenales. Desde estos primeros estudios, se ha descubierto que existen varias diferencias según líneas y corrientes genéticas. Más adelante, encontraron que un manejo breve de las ratas recién nacidas reduce la respuesta de la glándula adrenal al estrés, concluyendo que el manejo temprano puede llevar a cambios importantes en el sistema neuroendócrino.

c-Fos

En su mayoría, la actividad neuronal eléctrica *in vivo* se mide utilizando microelectrodos en el cerebro, mientras se realizan las observaciones conductuales. Posteriormente, el modelo computacional se realiza para predecir las respuestas conductuales basadas únicamente en la actividad neuronal. Estas técnicas permiten asociaciones *in vivo* entre la actividad en áreas cerebrales discretas y la respuesta de comportamiento de salida (Mourao et al., 2015) pero suelen ser costosos y limitados en el número de áreas y la cantidad de neuronas controladas al mismo tiempo. Por otro lado, la inmunodetección de c-Fos es de bajo costo y representa una herramienta fácilmente utilizable para detectar simultáneamente la actividad neuronal en múltiples áreas del cerebro (Kim et al., 2015).

La expresión de c-Fos como proteína es un tipo de marcador. c-Fos es un protooncogen que se expresa dentro de las neuronas después de entrada de calcio en la célula (Morgan y Curran, 1986). La excitación neuronal conduce a una inducción rápida y transitoria de c-Fos. El producto proteico puede ser detectado dentro de las neuronas mediante técnicas inmunohistoquímicas de 20-90 minutos después de la excitación neuronal, y desaparece 4-16 horas después (Mugnaini et al., 1989). Una vez expresada, la proteína c-Fos entra en el núcleo celular y participa en complejos proteicos que interactúan con el ADN. La microscopía electrónica ha demostrado que la excitación neuronal induce una inmunoreactividad a c-Fos dentro de los núcleos de las neuronas, pero no dentro de las células

glial, ependimal o endotelial (Mugnaini et al., 1989). Por lo tanto, la expresión de c-Fos como proteína podría ser un marcador específico para la actividad neuronal en el nivel de célula única.

La cuantificación de c-Fos es una forma de determinar la activación neuronal diferencial en áreas cerebrales discretas, en tareas de comportamiento, es decir, comparaciones lineales núcleo a núcleo. Aquí analizaremos cómo las áreas cerebrales señaladas a continuación, son involucradas en el procesamiento de información social y expresan diferencialmente c-Fos durante la adquisición y recuperación de la memoria social en ratones.

Áreas cerebrales

Los estímulos sensoriales tienen que ser percibidos como sociales para promover un comportamiento apropiado durante el encuentro social. Al mismo tiempo, para que se pueda acceder a la información social, se debe formar un rastro de memoria. La capacidad de identificar y reconocer a los individuos de su propia especie es una de las bases fundamentales de la organización social en los roedores (Bluthé, 1993). La individualidad en los roedores se transmite principalmente a través de olores presentes en la orina y las secreciones corporales (Overath et al., 2014). Varias estructuras cerebrales están implicadas en el reconocimiento de olores individuales, en la formación y recuperación de trazas de memoria adquiridas (Brennan y Kenorick, 2006).

Los ratones y ratas procesan la información sobre el olor social de manera bastante similar (Brennan y Kenorick, 2006). Las moléculas socialmente relevantes son activamente inhaladas durante la interacción social y se detectan en el epitelio olfativo principal (MOE) o en el órgano vomeronasal (VNO), y envían axones a los bulbos olfativos principales (MOB) y accesorio (AOB), respectivamente. Más abajo del sistema olfativo principal (MOS) sigue el núcleo olfatorio anterior (AON) y la corteza piriforme (PIR), que se proyectan indirectamente, a través del núcleo cortical de la amígdala (CoA), a la amígdala medial (MeA) y directamente a la corteza entorrinal (EC). El

sistema olfativo accesorio (AOS) se proyecta directamente al MeA. al núcleo de la cama de la estria terminal (BST) y el área preóptica media (MPOA) y también reciben entrada directa e indirecta (a través de MeA) de la AOS y la entrada indirecta (vía Mea) de la MOS (Knobloch et al., 2012). El MeA también proyecta al Septum lateral (LS), que a su vez proyecta al hipocampo (HC) (las abreviaturas anteriores respecto a sus siglas en ingles) (Risold y Swanson, 1997).

Núcleo cama de la estria terminal (BNST)

El BNST rodea la comisura anterior y anterior al hipotálamo, se refiere a veces como una parte clave de la amígdala extendida (Oler et al., 2016) y está organizado en subdivisiones (Paxinos y Watson, 2007). Diferentes subdivisiones de BNST están conectadas con diferentes partes del cerebro. Las proyecciones aferentes y eferentes del BNST se han examinado en primates no humanos (Oler et al., 2016), roedores y otros animales mediante métodos de trazado anterógrado y retrogrado. Estos circuitos neuronales indican el posible papel de la BNST en los comportamientos relacionados con la adicción (Stamatakis et al., 2014) y la respuesta al estrés (Radley y Sawchenko, 2011).

El miedo y la ansiedad constituyen mecanismos importantes para hacer frente a situaciones dañinas. A pesar de muchas similitudes, el miedo y la ansiedad poseen diferencias conspicuas con respecto a las expresiones de comportamiento y los mecanismos neuronales subyacentes (Tovote et al., 2015). Como partes de la red amígdala extendida, la amígdala central (CeA) y el BNST son considerados elementos cruciales para mediar estos componentes distintos de las respuestas al miedo (Fox et al., Kalin, 2015)

Estudios previos sobre el miedo y la ansiedad demostraron funciones selectivas, pero relacionadas, para CeA y BNST en respuesta a estímulos amenazantes. Estudios en roedores reveló que CeA está implicado críticamente en la mediación de respuestas de miedo a señales cortas y discretas, mientras que BNST no (Campeau y Davis, 1995). Por el contrario,

se demostró que las lesiones del BNST alteraban el temor condicionado a contextos o señales largas e impredecibles, pero no a señales cortas y discretas (Davis et al., 2010).

Área preóptica media (mPA)

El área preóptica media (mPA) es la extensión anterior del hipotálamo y se ha relacionado con la regulación de la secreción de hormonas gonadales y el comportamiento de apareamiento (Hart y Leedy, 1985). Esta estructura puede desempeñar un papel crítico en la regulación de la conducta sexual masculina en ratas macho y ha estado implicada en el comportamiento sexual de las ratas hembras. El mPA también se considera como uno de los centros cerebrales que procesa la información olfativa. Dado que el paradigma de la memoria social probablemente se basa en señales olfativas (Popik et al., 1991), resultó de interés estudiar región.

Septo Lateral (LS)

Una revisión de Thomas en 1988 reunió evidencia de varios enfoques experimentales que apoyan una función propuesta para el núcleo lateral de la zona septal en la emoción. La evidencia acumulada de los estudios que usan lesiones, estimulación y registro de la actividad de la unidad sugiere un rol importante para este núcleo en la inhibición del miedo.

La adquisición de comportamientos que dependen de la reducción del temor se ve afectada en animales con lesión en el LS. Un ejemplo de tal comportamiento es el comportamiento de evitación, los animales sometidos a sedación septentrional mostraron déficit en la adquisición de comportamiento pasivo y unidireccional de evitación activa (Gray et al., 1983).

El LS es una de las áreas cerebrales críticas que modula tanto la ansiedad como la agresión (Veenema y Neumann, 2007). En los animales, las lesiones al LS aumentan el comportamiento agresivo (Albert y Walsh, 1982).

Además, en los seres humanos con trastorno de personalidad antisocial, aquellos con anomalías en el septum durante el neurodesarrollo presentan niveles más altos de personalidad antisocial, psicopatía y convicciones prenatales (Raine et al., 2010). El LS se activa en gran medida durante situaciones agresivas y amenazantes y está implicado en la regulación del eje autonómico y el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HPA) y en las respuestas al estrés (Herman et al., 2003).

CAPITULO 3. SECCIÓN EXPERIMENTAL

Animales

Se ocuparon 28 ratas macho, de la cepa Wistar, entre los 25 y 30 días de edad, las cuales fueron divididas en 4 grupos. Los animales se obtuvieron mediante cruces controladas para tener conocimiento sobre la camada de procedencia de las crías.

Alojamiento

Los animales se mantuvieron en cajas de bioterio estándar, con agua y alimento *ad libitum* y con cama de viruta de madera. El ciclo luz-oscuridad fue de 12:12. La luz era encendida a la 01:00 am y se apagaban a las 01:00 pm. La temperatura se mantuvo entre 20° y 26° C y la humedad relativa sobre el 40% de acuerdo a los estándares de la NOM-062-z00-1999 (1999), y al Institute for Laboratory Animal Research (2011).

Manipulación

La limpieza de cajas y la manipulación de las ratas fueron realizadas por la misma persona desde el nacimiento de las ratas hasta el término del experimento. Fueron manipuladas a partir del día 10 de nacimiento para familiarizarlas con el experimentador (Bales et al., 2011). El día 21 post-nacimiento se separó a la madre, y entre los días 25-30 se realizaron los experimentos.

Pruebas y grupos experimentales

Todos los experimentos se realizaron dentro del bioterio durante las primeras 4 horas de la escotofase, con un foco de luz roja, así mismo, se llevo a cabo un registro de cada animal (Ver Anexo).

- **SE (Sin Estimulación):** El grupo consistió de 4 ratas macho, de entre 25 y 30 días de edad. Las ratas fueron aisladas durante 48 horas en cajas individuales de polipropileno y después de este periodo se anestesiaron para realizar las perfusiones.

- **EAN (Estimulación Ambiental Novedosa):** Se usaron 8 ratas macho de entre 25 y 30 días de edad y se aislaron por 48 horas antes del experimento el cual consistió en colocar individualmente a las ratas en el área de prueba junto con un objeto novedoso durante 30 minutos. Luego fueron aisladas 1 hora antes de la anestesia para la perfusión.
- **ESF (Estimulación Social Familiar):** Se utilizaron 8 ratas macho de entre 25 y 30 días de edad. Los experimentos se realizaron por parejas, formadas por hermanos. Se alojaron individualmente en cajas de polipropileno durante 48 horas antes del experimento. En este tiempo se habituarón a la caja de prueba durante una hora cada día. Luego de este periodo se realizó la prueba de exposición social en la cual se colocó a cada rata de un lado de la caja de prueba durante 15 minutos. Después fueron regresadas a sus cajas individuales durante 1 hora antes de ser anestesiadas para las perfusiones.
- **ESN (Estimulación Social Novedosa):** Se utilizaron 8 ratas macho de entre 25 y 30 días de edad. Los experimentos se realizaron en parejas formadas por ratas de diferentes camadas que no hubieran tenido contacto entre ellas anteriormente. Fueron alojadas individualmente en el mismo tipo de cajas durante 48 horas antes del experimento. En este tiempo se habituaron a la caja de prueba durante una hora cada día. Luego de este periodo se realizó la prueba de exposición social en la cual se colocó a cada rata de un lado de la caja de prueba durante 15 minutos. Después fueron regresadas a sus cajas individuales durante 1 hora antes de ser anestesiadas para las perfusiones.

Área de prueba

El área de prueba consistió de una caja de bioterio estándar, con una malla de metal de cuadros de 13 mm² colocada justo al centro de la caja. La malla represento el objeto novedoso en el grupo de novedad ambiental, mientras que en los grupos de familiaridad y novedad social impidió el contacto

cuerpo a cuerpo para evitar que se llevarán a cabo conductas de juego o de agresión.

Conducta

La cuantificación de la conducta se realizó por medio de un conteo donde se analizaron todos los movimientos del animal durante 15 minutos. Después se realizó una prueba chi cuadrada y t-student con una $p < 0.05$.

Histología

Preparación del tejido: Las ratas fueron anestesiadas con 40 mg/kg de pentobarbital sódico vía intraperitoneal. El cerebro se fijo por medio de una perfusión intracardiaca con un sistema de perfusión por gravedad; primero con solución salina NaCl al 0.9% y para fijar los tejidos paraformaldehído al 4% en buffer de fosfatos (solución PB 0.1M) y sacarosa. Finalmente se extrajeron los cerebros y se colocaron en la misma solución fijadora por 24 horas a 4 °C. Los cerebros fueron colocados en un tren de soluciones crio protectoras de sacarosa al 10%, 20% y 30%, a 4 °C, de 3 a 5 días en cada solución.

Cortes: Los cortes histológicos de cerebro se hicieron coronales, de 40 micras, y se obtuvieron mediante un criostato a -22 °C. Fueron colectados en multiplatos con PB 0.1 M. De acuerdo al atlas de Paxinos y Watson (2007), se obtuvieron diferentes niveles de Bregma: bregma -0.30 mm para núcleo cama de la estría terminal (BNST) y área preóptica media (mPA), bregma 1.60 mm para septum lateral (LS) (Ver Anexo 1).

Inmunohistoquímica: se realizó con el método por flotación, directamente en los multiplatos. Los cortes fueron tratados con anticuerpo primario policlonal para C-Fos preparado en conejo (sc-52, Santa Cruz Biotechnology) y anticuerpo secundario contra inmunoglobulina G de conejo, preparado en cabra y conjugado con Biotina (sc-2040, Santa Cruz Biotechnology).

Análisis

Las fotografías para el análisis de neuronas inmunoreactivas se obtuvieron con un microscopio óptico, con el objetivo de 40X y con las mismas condiciones de luz. Las áreas requeridas se enfocaron tomando como guía estructuras anatómicas específicas de acuerdo al atlas de Paxinos y Watson (2007). Por cada sujeto experimental se tomaron como muestra para el conteo de neuronas inmunoreactivas cuatro cortes representativos de cada área (BNST, mPA y LS). Por cada corte se tomaron dos fotografías, una correspondiente al hemisferio derecho y otra al izquierdo, obteniendo un total de 24 fotografías por cada cerebro de rata. El conteo de neuronas inmunoreactivas se realizó en el programa ImageJ.

Los análisis estadísticos se realizaron en el programa Statgraphics. Se realizó una prueba de ANOVA correspondiente a cada área estudiada (BNST, mPA y LS) para saber si hay diferencias en la cantidad de neuronas inmunoreactivas entre los grupos. Después se realizó una prueba post-hoc para analizar entre qué grupos se dieron las diferencias si es que las hubo.

Resultados

BSNT

Se realizó una prueba de ANOVA para comparar los efectos de los diferentes estímulos socio-ambientales (ambiental novedoso, social familiar y social novedoso). Hubo un efecto importante en la inmunoreactividad de la proteína c-Fos entre los 4 grupos, siendo diferente el ESF y ESN de los controles $F(3^{\circ})=3.65$, $p=0.0266$ con un nivel del 95.0% de confianza (Figura 1). Se realizó una prueba de rangos múltiples o post-hoc para distinguir las diferencias (HSD) de Tukey.

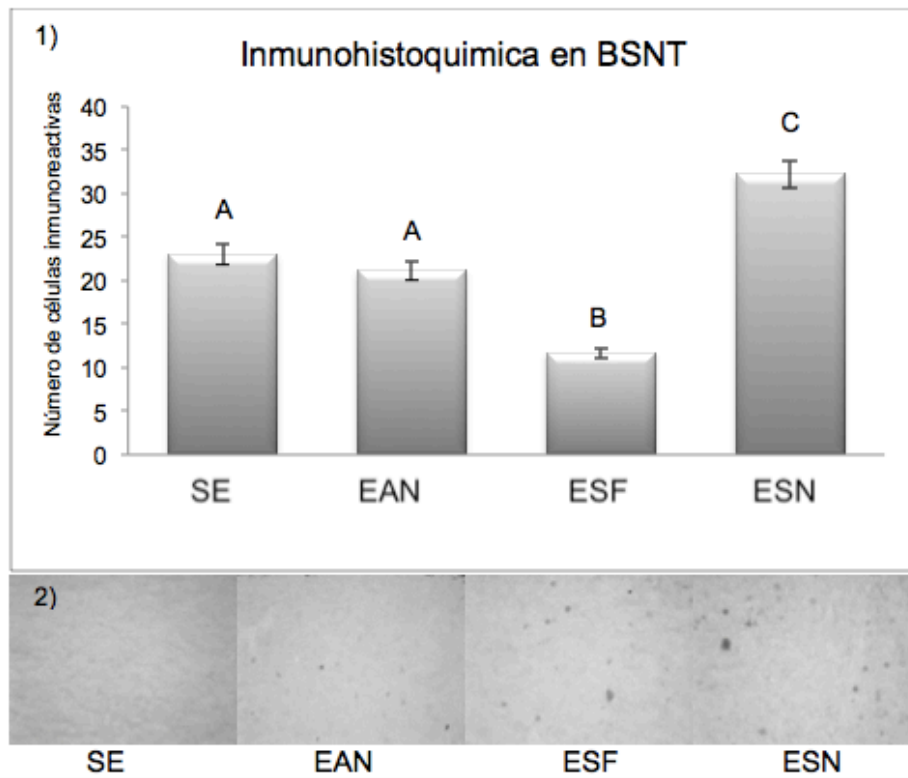
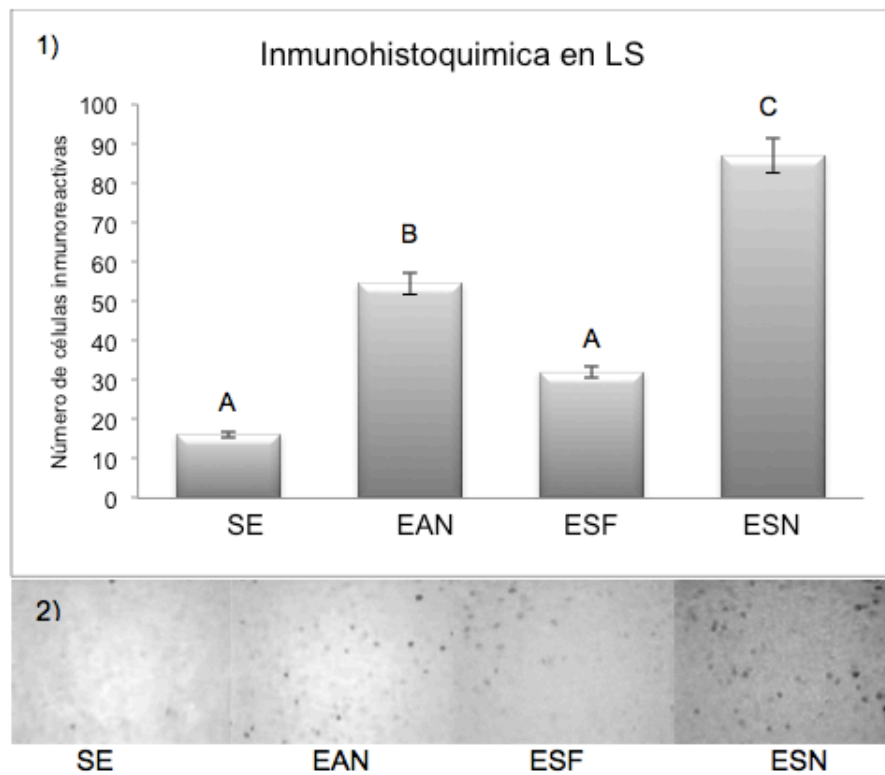


Figura 1. En el apartado 1) se muestra la grafica de medias de la inmunoreactividad de c-Fos en el BSNT, mostrando diferencias significativas en los grupos ESF y ESN. En el apartado 2) se muestran las fotografías de la inmunoreactividad de c-Fos tomadas con el microscopio a 40x

LS

Se realizó una prueba de ANOVA para comparar los efectos de los diferentes estímulos socio-ambientales (ambiental novedoso, social familiar y social novedoso). Hubo un efecto importante en la inmunoreactividad de la proteína c-Fos entre los 4 grupos, siendo diferente el EAN y ESN de los controles $F(3^{\circ})=25.99$, $p=0.0000$ con un nivel del 95.0 % de confianza. Se realizó una prueba de rangos múltiples o post-hoc para distinguir las diferencias (HSD) de Tukey.



mPA

Se realizó una prueba de ANOVA para comparar los efectos de los diferentes estímulos socio-ambientales (ambiental novedoso, social familiar y social novedoso). Hubo un efecto importante en la inmunoreactividad de la proteína c-Fos entre los 4 grupos, siendo diferente el ESF y ESN de los controles $F(3^{\circ})=3.97$, $p=0.0197$ con un nivel del 95.0 % de confianza. Se realizó una prueba de rangos múltiples o post-hoc para distinguir las diferencias (HSD) de Tukey.

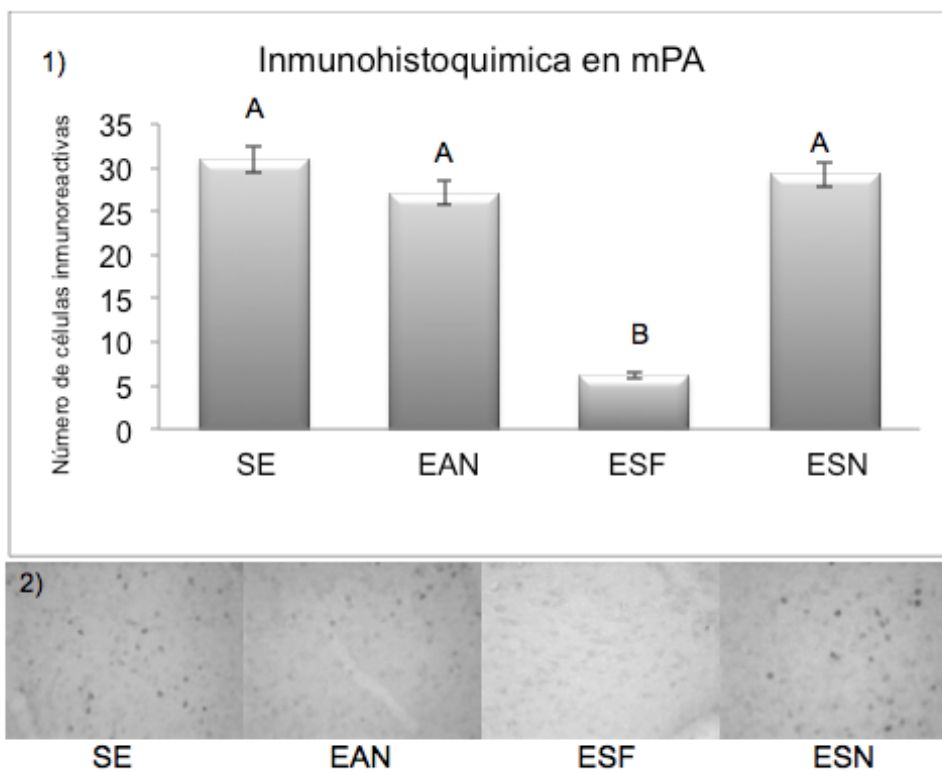


Figura 3. En el apartado 1) se muestra la grafica de medias de la inmunoreactividad de c-Fos en el BSNT, mostrando diferencias significativas en el grupo ESF. En el apartado 2) se muestran las fotografías de la inmunoreactividad de c-Fos tomadas con el microscopio a 40x

Conducta

Se realizó una prueba t-student para comparar la conducta de los animales, es decir, se analizó el tiempo en el que los individuos están en contacto uno con el otro; En la Figura 4 se muestra el tiempo por acercamiento, existe una diferencia estadísticamente significativa entre el ESF y ESN con una $t = -3.86075$ y un valor $-P = 0.000183074$ con un nivel de confianza el 95%. En la Figura 5 se encuentra el tiempo total de acercamiento existiendo una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos con una $t = -3.17377$ y un valor $-P = 0.00192267$ con un nivel de confianza el 95%.

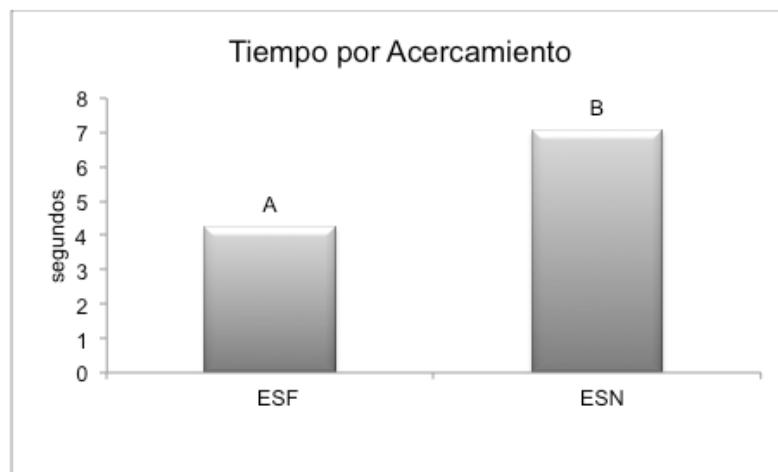


Figura 4. Se muestra la grafica de medias del tiempo por acercamiento en segundos por 5 min.

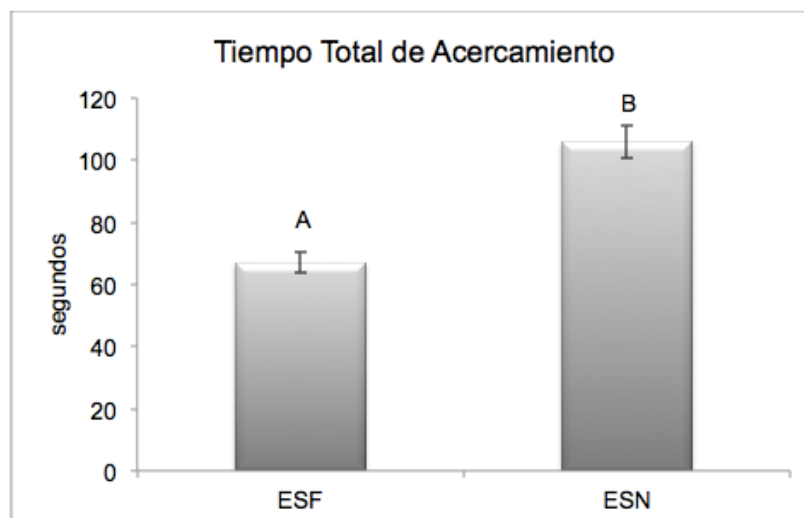


Figura 5 . Se muestra el tiempo total de acercamientos en los dos grupos en segundos

CAPITULO 4. SECCIÓN FINAL

Discusión

La visualización inmunocitoquímica de los productos de proteínas nucleares de diferentes genes inmediatos tempranos, tales como c-Fos, han proporcionado información útil sobre las vías neuronales que se activan en respuesta a una variedad de estímulos homeostáticos periféricos, sensoriales, así como internos. En el presente trabajo se determinó la expresión temprana de c-Fos para revelar los sistemas neuronales que están comprometidos en un entorno de comportamiento social, es decir, durante la interacción de dos individuos.

El reconocimiento social permite a los animales distinguir a un amigo de un enemigo y un miembro de la familia de un extraño. El reconocimiento social a corto plazo es una forma de diferenciar entre individuos previamente encontrados (Ferguson et al., 2002). En ratas machos, la memoria social de un familiar conespecífico parece mantenerse durante al menos 30-60 min (Thor y Holloway, 1982) después de un encuentro inicial.

Los roedores pre-adolescentes son hiperactivos y particularmente involucrado en comportamientos afiliativos y lúdicos, que son importante para el establecimiento de relaciones sociales. El juego es el comportamiento social más característico de una interacción entre los mamíferos adolescentes. En roedores, el juego social se caracteriza por comportamientos tales como morder, husmear o tocarse (Pellis y Pasztor, 1999). El juego social es el comportamiento más característico observado en ratas jóvenes. Eso emerge durante los días posnatales (17-19), antes del destete, y aumenta en las siguientes 2 semanas. Después de 40 días posnatales, cuando los animales se vuelven sexualmente maduros (Meaney y Stewart, 1981), el juego social disminuye pero no desaparece completamente durante la edad adulta; en cambio, se exhibe con menos frecuencia e intensidad (Graham y Burghardt, 2010). La estructura del comportamiento de juego social en ratas se ha descrito en profundidad

(Trezza et al., 2010), y los comportamientos más característicos de juego social en ratas jóvenes son conocidos por ser abalanzarse y clavarse. El juego social comienza con el comportamiento de ataque, cuando el animal intenta frotar el nuca del cuello mientras que clavarse es una respuesta de ataque, el animal puede responder en diferentes maneras, evadiendo con una postura defensiva permanente o boxeo, que consiste en empujar, patear y agarrar al otro (Trezza, 2014).

Áreas Cerebrales

Empezaremos con el núcleo cama de la estría terminal (BSNT) es un grupo de alrededor de 12 núcleos que rodean la parte caudal de la comisura anterior, en el fondo de los hemisferios cerebrales. El BSNT se llama así porque está ubicado en un extremo de la estría terminal, un conjunto de axones que lo conecta con los núcleos amígdaloides. Aunque todavía se necesita trabajo para comprender completamente la función de la BSNT, estudios anatómicos extensos de su conectividad sugieren que es un centro de relevo dentro de los neurocircuitos que coordina la actividad de los sistemas motores autónomos, neuroendocrinos y somáticos en funciones fisiológicas completamente organizadas y comportamientos (Dong y Swanson, 2006). En conjunto, el BST parece ser un centro de coordinación y relevo donde la información cortical descendente se encuentra con información interoceptiva ascendente y exteroceptiva con respecto a los estados homeostáticos o cambios potenciales en la homeostasis. Es probable que la información fluya hacia la BSNT desde fuentes exteroceptivas (principales y accesorias olfativas, táctiles, nociceptivas y gustativas) o interoceptivas (niveles de energía y líquidos, daño tisular, niveles de hormonas sexuales) a través de todos los niveles del sistema nervioso central (desde cortical hasta tronco encefálico y médula espinal). El BSNT tiene entonces proyecciones descendentes generalizadas a las regiones motoras del cerebro posterior que pueden desencadenar o contribuir a la elaboración de respuestas fisiológicas y conductuales coordinadas necesarias para una homeostasis bien equilibrada.

EL BSNT puede dividirse aproximadamente en subdivisiones anterior y posterior, cada una con varios núcleos, que se pueden identificar en función de su patrón de proyección y su identidad neuroquímica (Larriva-Sahd, 2006). El grupo anterior (BSNTant) parece especializarse en el balance de energía mientras que el grupo posterior (BSNTpost) puede contribuir más a la reproducción y defensa (Dumont, 2014). Sin embargo, la BSNT anterior y posterior están altamente interconectadas. Aunque la BSNT es una estructura del cerebro relativamente descuidada con respecto a los estudios fisiológicos y conductuales. En nuestros resultados podemos observar que en el BSNT existen más neuronas inmunoreactivas en los animales a los que se les presentó un individuo desconocido, como hemos visto este núcleo es una de los principales relevos en la vía olfatoria, en los roedores el sentido del olfato es muy importante en el reconocimiento de ambientes e individuos, de esta manera los resultados sugieren que este núcleo se activó debido a la estimulación provocada ante el reconocimiento del individuo presentado.

Por otra parte, muchas funciones automáticas son manejadas por el hipotálamo. Dentro de esta región, hay un grupo de forma ovalada de células llamadas el área preóptica. Principalmente, esta área es responsable de la termorregulación, el proceso por el cual el cuerpo mantiene una temperatura constante al ganar o perder calor. Ciertos componentes de esta zona sirven para otras funciones, como la generación de la sed, inducir el sueño, y la regulación de la conducta sexual masculina (Sano, 2013).

Mantener la temperatura corporal constante es un importante proceso inconsciente para los animales de sangre caliente. Células sensoriales especiales conocidos como termorreceptores localizados en la piel y ciertas membranas detectan los cambios de temperatura, y transmiten esta información al área preóptica (Popik et al., 1991). Después de recibir esta información, esta región envía mensajes a las partes apropiadas del hipotálamo responsable de las respuestas de temperatura. A su vez, estas regiones generan respuestas automáticas a calor o frío, dependiendo de la salida del área preóptica.

Esta área del hipotálamo en realidad contiene varios núcleos más pequeños, o grupos de neuronas, cada uno con sus propias funciones. Situado en el centro de esta zona, el núcleo preóptico medial ayuda a regular la sed. Las células sensoriales que detectan la falta de agua debido a la pérdida de su propio volumen envían señales al núcleo preóptico medial. El núcleo libera norepinefrina creando la sensación consciente de sed. La producción de norepinefrina se detiene después de que el individuo consume agua.

Además de la regulación homeostática el área preóptica también se le ha relacionado con conductas como la sexual y la conducta agresiva, algunos reportes relacionan la actividad de esta región con la actividad del receptor a estrógeno y la conducta agresiva (Sano, 2013). En nuestros resultados podemos observar que esta región también se encuentra más activa cuando a los animales se les presenta un individuo desconocido, en conjunto con los resultados obtenidos para el BSNT se puede pensar que ambos núcleos estén funcionando en conjunto para regular conductas tan complejas como la interacción social, no podríamos decir que se desencadenó una conducta como la de agresión debido a que en la prueba conductual los animales estuvieron separados por una malla, sin posibilidad de interactuar, de esta manera también se evitaron conductas de agresión.

El núcleo del septum es una estructura subcortical y pertenece a la formación límbica (Khakpai et al., 2012b). La región septal se compone de dos áreas principales: lateral y medial teniendo cada una poblaciones de neuronas diferentes (Lecourtier et al., 2010). Estas subregiones han revelado sus inervaciones aferentes y eferentes, su conectividad intrínseca y su funcionalidad (Khakpai et al., 2012b). La subdivisión medial del septum envía mayor entradas colinérgicas y GABAérgicas a el hipocampo, mientras que la subdivisión lateral recibe una fuerte entrada glutamatérgica del hipocampo. Los núcleos del septum se consideran como sitios de retransmisión sensorial que conecta el cerebro medio y las estructuras del tallo cerebral, por ejemplo, área tegmental ventral e hipotálamo enlazando a las estructuras límbicas incluyendo el hipocampo y la corteza prefrontal. En nuestros resultados podemos observar que la región septal se encuentra

más activa cuando el individuo está expuesto a un objeto extraño, ambiental y social. El septum es reconocido como sitio importante en el procesamiento de la información sensorial, memoria, aprendizaje, consolidación, miedo, ansiedad, estrés, emociones, agresión, excitación, motivación (De Paula et al., 2012). Por lo que podemos sugerir que al exponer al individuo ante un objeto extraño se desencadenaron estas reacciones, activando al núcleo.

Todo este procesamiento conductual y sensorial se lleva a cabo por medio del olfato. El olfato hace posible el registro de la información a larga y corta distancia, inicia cuando las moléculas olorosas transportadas por el aire son inhaladas y se disuelven en la mucosidad de la cavidad nasal. Una vez que ha sucedido esto los receptores situados en los polos apicales de las neuronas olfativas detectan los odorantes (Hu et al., 2007).

Cuando los cilios del receptor, de tipo metabotrópico, captan y retienen una molécula olorosa, se activa un sistema de segundos mensajeros que despolariza la neurona. Esto hace que se disparen potenciales de acción desde el cuerpo celular que serán transmitidos a través del axón. Los axones de las neuronas olfativas hacen sinapsis con las dendritas de neuronas situadas en el bulbo olfatorio (Margrie et al., 2001). Esto permite la conexión indirecta entre el epitelio olfativo y la corteza cerebral.

Las neuronas receptoras de odorantes establecen conexiones con tres tipos distintos de neuronas del bulbo: las células mitrales y en ovillo, que proyectan señales olfativas hacia regiones superiores del cerebro, y las interneuronas inhibitorias periglomerulares, que modulan la función de los otros dos tipos

El sistema olfativo

Existe una división anatómica y funcional entre el sistema olfativo principal y el accesorio, también conocido como vomeronasal. Tal y como su nombre indica, el sistema olfativo principal resulta más relevante para la percepción de olores que el vomeronasal, si bien éste cumple roles característicos.

El sistema principal se inicia en células mitrales y en ovillo del bulbo olfatorio que envían proyecciones al rinencéfalo, término utilizado para denominar las regiones del cerebro relacionadas con el olfato (Kay LM, 1999). La corteza piriforme, que se localiza en la parte medial del lóbulo temporal, es especialmente importante en este sentido. Desde estas áreas la información olfativa es transmitida al núcleo dorsomedial del tálamo, desde donde llegarán a la corteza prefrontal orbitofrontal. En esta región, encargada de la toma de decisiones y del procesamiento emocional, tiene lugar la percepción y la discriminación de los olores.

El córtex orbitofrontal recibe también estimulación de tipo gustativo; junto con el olfato, esto permite la percepción de sabores. En ocasiones se habla de “sistema quimiosensorial” para hacer referencia conjuntamente a los sentidos del olfato y del gusto, muy cercanos desde un punto de vista neurofuncional.

El sistema olfativo o vómeronasal

A diferencia del sistema olfativo principal, el vomeronasal contiene sólo células mitrales. Éstas se localizan en una región diferenciada del bulbo olfatorio: el órgano vomeronasal, que también es denominado “bulbo olfativo accesorio” y se encuentra en la base del etmoides (Allison y Warwick, 1949).

Estas neuronas no proyectan señales al neocórtex, sino a la amígdala y al núcleo cama de la estría terminal que a su vez envían impulsos al área preoptica media y al núcleo del hipotálamico ventromedial, por lo que sugiere que el órgano vómeronasal y el bulbo olfativo accesorio constituyen un sistema que posiblemente ejerce influencia sobre los mecanismos neuroendocrinos que regulan la conducta de apareamiento y las funciones reproductivas. Al hablar del sistema olfativo accesorio cabe destacar el papel de las feromonas, compuestos químicos secretados por los seres vivos que sólo son captados por animales de la misma especie y se perciben a través del órgano vomeronasal.

Conclusión y perspectivas

En este estudio, identificamos tres núcleos (BSNT, LS y mPA) que nos permiten discriminar retroactivamente el comportamiento social basándose únicamente en el patrón de expresión c-Fos. La delimitación neuroanatómica de los núcleos fue indispensable para localizar con precisión los núcleos activados por cada situación social. Entre ellos, la activación de BSNT y LS está sólidamente correlacionada con una estimulación social novedosa, que lo podemos comprobar con el estudio de conducta.

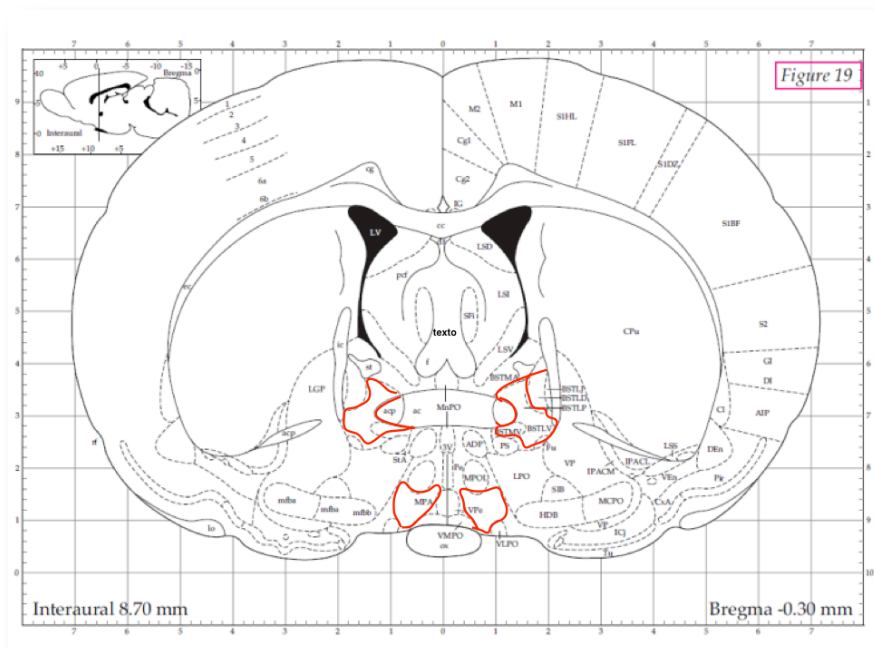
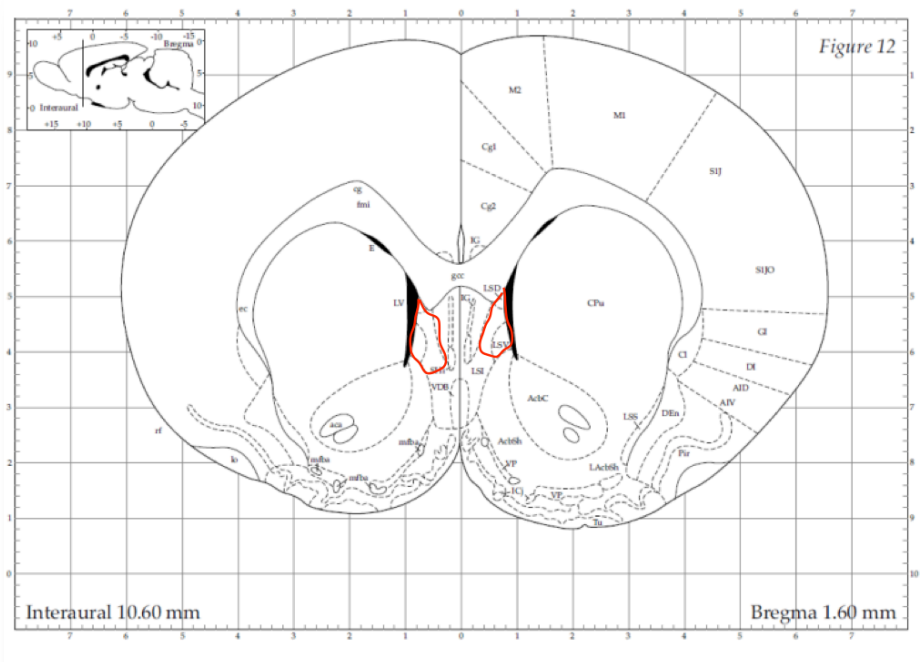
El comportamiento de juego social es altamente gratificante y necesario para el desarrollo social y cognitivo. Con nuestros resultados demostramos la relevancia que tiene la novedad social en la activación de algunas regiones cerebrales y la importancia que tiene un ambiente enriquecido socio-ambiental.

Por otro lado podemos sugerir otro experimento donde demos que privar a los adolescentes del juego social y aislándolos provocaría varios impedimentos sociales durante la edad adulta relacionado con el comportamiento exploratorio, la cognición y la recompensa sensibilidad. De igual manera podríamos demostrar como las drogas como el etanol (EtOH), cocaína, anfetamina, morfina, cannabis y (MDMA) puede inducir cambios de comportamiento en el juego social en adolescentes ratas.

Otro punto importante es que el sistema vomeronasal se relaciona con conductas y respuestas fisiológicas que se producen a causa de la interacción con miembros de la misma especie, el cual tiene un papel fundamental en la reproducción, en la agresividad y en la conducta social de muchos animales, pero no está claro que siga siendo funcional en los seres humanos.

Anexos

1. Atlas de Paxinos



Bibliografía

1. Albert, D.J., Walsh, M.L., (1982). The inhibitory modulation of agonistic behavior in the rat brain: a review. *Neurosci. Biobehav*, Vol 6: 125–143.
2. Allison, A.C. y Warwick, R.T.T.(1949). Quantitative observations on the olfactory system in the rabbit. *Brain*, vol 72:186-197
3. Bales KL; Boone E; Epperson P; Hoffman G; Sue Carter C. (2011). Are behavioral effects of early experience mediated by oxytocin?. *Frontiers in Psychiatry*. Vol. 2: 1-12.
4. Bekoff, M. (1976). The social deprivation paradigm: who's being deprived of what? *Dev. Psychobiol.*, vol 9, 499-500.
5. Campeau, S., y Davis, M. (1995). Involvement of the central nucleus and basolateral complex of the amygdala in fear conditioning measured with fear-potentiated startle in rats trained concurrently with auditory and visual conditioned stimuli. *Journal of Neuroscience*, vol 15, 2301–2311.
6. Champagne FA; Francis DD; Mar A; Meaney MJ. (2003). Variations in maternal care in the rat as a mediating influence for the effects of environment on development. *Physiology and Behaviour*. Vol. 79: 359-371.
7. Cooper, R. M. y Zubek, J. P (1958). Effects of enriched and restricted early environments on learning ability of bright and dull rats. *Can. J. Psychol.* Vol 12, 159-164.
8. Darwin, C. R. (1868). "The Variation of Plants and Animals under Domestication, John Murray, Londres. Vol.1 y 2
9. Davis M, Walker DL, Miles L, Grillon C (2010). Phasic vs sustained fear in rats and humans: role of the extended amygdala in fear vs anxiety. *Neuropsychopharmacology*, Vol 35:105-135.
10. De Paula DC, Torricelli AS, Lopreato MR, Nascimento JO, Viana MB. (2012), 5HT(2A) receptor activation in the dorsolateral septum facilitates inhibitory avoidance in the elevated T-maze. *Behav Brain Res*; Vol 226: 50-5.
11. Denenberg, V. H. y Whimbey, A. E. (1968). Experimental programming of life histories: Towards an experimental science of individual differences. *Dev Psychobiol.* vol1, 55-59.
12. Desjardins, J.K., Becker, L., R. D. Fernald (2015). The effect of observers on behavior and the brain during aggressive encounters. *Behav Brain Res*. Vol 292:174-183.
13. Dong HW, Swanson LW. (2006) Projections from bed nuclei of the stria terminalis, anteromedial area: cerebral hemisphere integration of neuroendocrine, autonomic, and behavioral aspects of energy balance. *J Comp Neurol.* Vol 494:142–78.

14. Éric C. Dumont. (2014) Department of Anesthesiology and Center for Neuroscience Studies, Queen's University, 99 University Avenue, Kingston, Ontario, Canada K7L 3N6,
15. F.A.G. Mourao, A.L.V. Lockmann, G.P. Castro, D. de Castro Medeiros, M.P. Reis, G.S. Pereira, A.R. Massensini, M.F.D. Moraes. (2015). Triggering Different Brain States Using Asynchronous Serial Communication to the Rat Amygdala., *Cereb. Cortex.* doi:10.1093/cercor/bhu313.
16. Fox, A. S., Oler, J. A., Tromp, D. P., Fudge, J. L., & Kalin, N. H. (2015). Extending the amygdala in theories of threat processing. *Trends in Neurosciences.* Vol 38, 319–329.
17. Fuller, J. L. y Thompson, W. R. (1978). "Foundations of Behavior Genetics:" Mosby, St. Louis, Missouri.
18. Goodson JL. (2005). The vertebrate social behavior network: Evolutionary themes and variations. *Horm Behav.*
19. Gray, J. A.; McNaughton, N. (1983). Comparison between the behavioral effects of septal and hippocampal lesions: A review. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 7:117-188;
20. Greenough, W. T. y Juraska, J. M. (1979). Experience induced changes in fine brain structure: Their behavioral implications. En: "Development and Evolution of Brain Size: Behavioral Implications" (M. E. Hahn, C. Jensen y B. C. Dudek, comps.) pp. 295-320. Academic Press. Nueva York.
21. H.S. Knobloch, A. Charlet, L. Hoffmann, M. Eliava, S. Khrulev, A. Cetin, P. Osten, M. Schwarz, P. Seeburg, R. Stoop, V. Grinevich, Evoked axonal oxytocin release in the central amygdala attenuates fear response, *Neuron.* 73 (2012) 553–566. doi:10.1016/j.neuron.2011.11.030.
22. Hart, B.L. and Leedy, M.G. (1985) Neurological bases of male sexual behavior. A comparative analysis. In: N. Adler, D. Pfaff and R.W. Coy (Eds.), *Handbook of Behavioral Neurobiology.* Vol 7. Reproduction, pp. 373-422, Plenum Press, New York.
23. Hennessy, M. G. y Levine, S. (1978). Sensitive pituitary adrenal responsiveness to varying intensities of psychological stimulation. *Physiol. Behav.* 21, 295-297.
24. Herman, J.P., Figueiredo, H., Mueller, N.K., Ulrich-Lai, Y., Ostrander, M.M., Choi, D.C., Cullinan, W.E., 2003. Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo-pituitary-adrenocortical responsiveness. *Front. Neuroendocrinol.* 24, 151–180.
25. Herrick, F. H. (1908). The relation of instinct to intelligence in birds. *Science.* 27, 847-850.
26. Hu J, Zhong C, Ding C, Chi Q, Walz A, Mombaerts P, Matsunami H, Luo M (2007) Detection of near-atmospheric concentrations of CO2 by an olfactory subsystem in the mouse. *Science* 317:953-957.
27. Hubel, D. H. y Wiesel, T. N. (1970). *J. Physiol. (Londres)* 206, 419.
28. Huot, R. L., Plotsky, P. M., Lenox, R. H., McNamara, R. K. (2002). Neonatal maternal separation reduces hippocampal mossy fiber density in adult Long Evans rats. *Brain Research,* 950, 52–63.
29. Huot, R. L., Thirvikraman K. V., Meaney M. J., Plotsky P. M. (2001). Development of adult ethanol preference and anxiety as a

- consequence of neonatal maternal separation in Long Evans rats and reversal with antidepressant treatment. *Psychopharmacology (Berl.)*, 158, 366–373.
30. Huxley, T. H. (1874). On the hypothesis that animals are automata y its history. En: "Collected Essays, Vol.1. Methods and Results: Essays," p. 218. (Publicado en 1901 por Macmillan, Londres)
 31. Insel TR; Hulihan TJ. (1995). A gender-specific mechanism for pair bonding: oxytocin and partner preference formation in monogamous voles. *Behavioral Neuroscience*. Vol. 109 (4): 782-789.
 32. Insel TR. (2010). The challenge of translation in social neuroscience: a review of oxytocin vasopressin, and affiliative behavior. *Neuron*. Vol. 65: 768-779.
 33. Institute for Laboratory Animal Research. (2011). Guide for the care and use of laboratory animals. The National Academic Press. 8° ed. Washington D.C.
 34. Kay LM, Laurent G (1999) Odor- and context-dependent modulation of mitral cell activity in behaving rats. *Nat Neurosci* 2:1003-1009.
 35. Kepecs A, Uchida N, Mainen ZF (2007) Rapid and precise control of sniffing during olfactory discrimination in rats. *J Neurophysiol* 98:205-213.
 36. Khakpai F, Nasehi M, Haeri-Rohani A, Eidi A, Zarrindast MR. Septo-hippocampo- septal loop and memory formation. *Basic Clin Neurosci* 2012b;3(5):1-4.
 37. Krushinski, L. V (1960). En: "Animal Behavior. Its Normal and Abnormal Development" (J. Wortis, comp.). International Behavioural Sciences Service, Consultants Bureau, New York. (Versión original en ruso publicada por la Editorial de la Universidad de Moscú).
 38. Ladd, C. O., Huot, R. L., Thivikraman, K. V., Nemeroff, C. B., Meaney, M. J., Plotsky, P. M. (2000). Long-term behavioral and neuroendocrine adaptations to adverse early experience. *Progress in Brain Research*, 122, 81–103.
 39. Larriva-Sahd J. Histological and cytological study of the bed nuclei of the stria terminalis in adult rat. II. Oval nucleus: extrinsic inputs, cell types, neuropil, and neuronal modules. *J Comp Neurol*. 2006; 497:772–807.
 40. Larriva-Sahd J. Juxtacapsular nucleus of the stria terminalis of the adult rat: extrinsic inputs, cell types, and neuronal modules: a combined Golgi and electron microscopic study. *J Comp Neurol*. 2004; 475:220–37. [PubMed: 15211463]
 41. Lecourtier L, de V asconcelos AP , Cosquer B, Cassel JC. Combined lesions of GA- BAergic and cholinergic septal neurons in- crease locomotor activity and potentiate the locomotor response to amphetamine. *Behav Brain Res* 2010;213:175-82.
 42. Love TM. (2014). Oxytocin, motivation and the role of dopamine. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. Vol. 119: 49-60.
 43. Margrie TW, Sakmann B, Urban NN (2001) Action potential propagation in mitral cell lateral dendrites is decremental and controls recurrent and lateral inhibition in the mammalian olfactory bulb. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:319-324.

44. Meaney MJ; Stewart, J. (1981). A descriptive study of social development in the rat (*Rattus norvegicus*). *Animal behaviour*. °
45. MEaney, M.J & Stewart, J. 1979. Environmental factors influencing the affiliative behavior of male and female rats (*rattus norvegicus*). *Anim. Learn. Behav.*, 7, 397-405.
46. Melzack, R. y Burns, S. K. (1965). Neurophysiological effects of early sensory restriction. *Exp. Neurol.* 13, 163-175.
47. Morgan, J.I., and T. Curran (1986) Role of ion flux in the control of c-fos expression. *Nature* 322:552-555.
48. Mugnaini, E., AS. Berrehi, J.I. Morgan, and T. Curran (1989) Fos-like immunoreactivity induced by seizure in mice is specifically associated with euchromatin in neurons. *Eur. J. Neurosci.* 1:46-52.
49. Neville-Andrew Niessen, Jacques Balthazart, Gregory F. Ball, and Thierry D. Charlier. doi:10.1111/ejn.12321 C-fos down-regulation inhibits testosterone-dependent male sexual behavior and the associated learning ¹University Eur J Neurosci. 2013 November ; 38(9) .
50. NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO. (1999). Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio.
51. Oler JA, Tromp DP, Fox AS, Kovner R, Davidson RJ, Alexander AL, McFarlin DR, Birn RM, B EB, deCampo DM, Kalin NH, Fudge JL (2016) Connectivity between the central nucleus of the amygdala and the bed nucleus of the stria terminalis in the non-human primate: neuronal tract tracing and developmental neuroimaging studies. *Brain Struct Funct.*
52. P. a Brennan, K.M. Kendrick, Mammalian social odours: attraction and individual recognition., *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 361 (2006) 2061–78. doi:10.1098/rstb.2006.1931.
53. P. Overath, T. Sturm, H.-G. Rammensee, Of volatiles and peptides: in search for MHC-dependent olfactory signals in social communication., *Cell. Mol. Life Sci.* 71 (2014) 2429–42. doi:10.1007/s00018-014-1559-6.
54. P.Y. Risold, L.W. Swanson, Connections of the rat lateral septal complex, *Brain Res. Rev.* 24 (1997) 115–195. doi:10.1016/S0165-0173(97)00009-X.
55. Paxinos G, Watson C (2007) *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, 6th Edition. Elsevier Inc.
56. Popik, P. and Vetulani, J. (1991) Opposite action of oxytocin and its peptide antagonists on social memory in rats. *Neuropeptides* 18, 23--27.
57. Powers JB, Winans SS. Vomeronasal organ - critical role in mediating sexual behavior of male hamster. *Science* 1975;187:961–963. [PubMed: 1145182]
58. R.M. Bluthé, R. Dantzer, Role of the vomeronasal system in vasopressinergic modulation of social recognition in rats., *Brain Res.* 604 (1993) 205–10. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8457849>.
59. Radley JJ, Sawchenko PE (2011) A common substrate for prefrontal and hippocampal inhibition of the neuroendocrine stress response. *J Neurosci* 31:9683-9695.

60. Raine, A., Lee, L., Yang, Y., Colletti, P., 2010. Neurodevelopmental marker for limbic maldevelopment in antisocial personality disorder and psychopathy. *Br. J. Psychiatry* 197, 186–192.
61. Rich ME; Caldwell HK. (2015). A role for oxytocin in the etiology and treatment of schizophrenia. *Frontiers in Endocrinology*. VOL Y PAG
62. Schroeder, C. (1914). Thinking animals. *Nature (Londres)* 94, 426-427.
63. Schultz, D. (1965). "Sensory Restriction." Academic Press, Nueva York.
64. Shapiro, L. E. & Insel, T. R. (1990) *Dev. Psychobiol.* 23, 375-394.
65. Simons, D. y Land, P. (1987). Early experience of tactile stimulation influences organization of somatic sensory cortex. *Nature (Londres)* 326, 694-697.
66. Singer W, Gray CM (1995) Visual feature integration and the temporal correlation hypothesis. *Annu Rev Neurosci* 18:555-586.
67. Stamatakis AM, Sparta DR, Jennings JH, McElligott ZA, Decot H, Stuber GD (2014) Amygdala and bed nucleus of the stria terminalis circuitry: Implications for addiction-related behaviors. *Neuropharmacology* 76 Pt B:320-328.
68. Thomas, E. Forebrain mechanisms in the relief of fear: The role of the lateral septum. *Psychobiology* 16:36-44; 1988.
69. Tovote, P., Fadok, J. P., & Luthi, A. (2015). Neuronal circuits for fear and anxiety. *Nature Reviews Neuroscience*, 16, 317–331.
70. Van Loo PLP; Van de Weerd HA; Van Zutphen LFM; Baumans V. (2004). Preference for social contact versus environmental enrichment in male laboratory males. *Laboratory Animals*. Vol. 38: 178-188.
71. Veenema, A.H., Neumann, I.D., 2007. Neurobiological mechanisms of aggression and stress coping: a comparative study in mouse and rat selection lines. *Brain Behav. Evol.* 70, 274–285.
72. Wagman, R. Septal area modulation of conditioned emotional states in cats. Bryn Mawr College; 1972. Master's thesis.
73. Weisman, R. G.; Litner, J. S. The role of Pavlovian events in avoidance learning. In: Boakes, R. A.; Halliday, M. S., eds, *Inhibition and learning*. London: Academic Press; 1972:253-270.
74. Y. Kim, K.U. Venkataraju, K. Pradhan, C. Mende, J. Taranda, S.C. Turaga, I. Arganda-Carreras, L. Ng, M.J. Hawrylycz, K.S. Rockland, H.S. Seung, P. Osten, Mapping social behavior-induced brain activation at cellular resolution in the mouse, *Cell Rep.* 10 (2015) 292–305. doi:10.1016/j.celrep.2014.12.014.
75. Yeakel, E. H. y Rhoades, R. P. (1941). A comparison of the body and endocrine gland (adrenal, thyroid and pituitary) weights of emotional and nonemotional rats. *Endocrinology (Baltimore)*. 28, 357-340.