



Universidad Autónoma del Estado de México
Facultad de Ciencias

Inmunoreactividad de c-Fos en el hipotálamo y el sistema de recompensa asociada a la novedad social en ratas jóvenes

TESIS

que para obtener el título de Biólogo presenta:

Yvette Magaly Gómez Gómez

Directores:

Dr. Arturo Venebra Muñoz

Dr. Pedro Sánchez Aparicio

Toluca, Estado de México, Enero 2017

Indicé

Resumen	1
Introducción	3
Antecedentes	5
1. Métodos para el estudio de la actividad cerebral	5
1.1. <i>c-fos: un gen de expresión temprana inmediata</i>	6
1.2. <i>Incremento de la expresión de c-fos como señal de actividad neuronal</i>	8
1.3. <i>Papel de c-Fos como proteína reguladora de la transcripción de genes</i>	9
2. El patrón de actividad cerebral depende los estímulos ambientales y del estado interno .	10
3. Componentes del circuito social	12
4. Hipotálamo	15
4.1. <i>PVN</i>	16
4.2. <i>SON</i>	18
4.3. <i>Síntesis y liberación de las hormonas pro sociales</i>	19
5. Sistema de recompensa	22
5.1 <i>Puntos hedónicos: Nacc Shell y Pálido ventral</i>	25
6. Etapas de la socialización: Reconocimiento, motivación y afiliación	28
6.1. <i>Reconocimiento social</i>	28
6.2. <i>Motivación y preferencias sociales</i>	31
6.3. <i>Afiliaciones sociales</i>	33
7. Importancia del contacto social en edades tempranas	35
8. Efectos de la novedad Social	36
Justificación	39
Hipótesis	40
Objetivos	41
<i>General</i>	41
<i>Específicos</i>	41
Método	42
1. Animales	42
1.1. <i>Alojamiento</i>	42
1.2. <i>Manipulación</i>	43

1.3. Grupos	43
2. Pruebas.....	44
2.1. Área de Prueba	44
2.2. Grupo sin estimulación (SE)	44
2.3. Grupo expuesto a estimulación ambiental novedosa (EAN)	45
2.3. Grupo expuesto a estimulación social familiar (ESF)	46
2.4. Grupo expuesto a estimulación social novedosa (ESN)	46
3. Preparación del tejido nervioso	47
3.1. Perfusiones	48
3.2. Crioprotección	48
3.3. Cortes	48
3.4. Inmunohistoquímica	49
3.5 Montaje	50
4. Análisis histológico	50
5.- Análisis estadístico	52
Resultados	53
1. Prueba de normalidad de datos.....	53
2. Inmunoreactividad de c-Fos en el Hipotálamo.....	53
2.1. PVN.....	53
2.2. SON.....	54
3. Inmunoreactividad de c-Fos en el Sistema de recompensa	55
3.1 Nacc Core	55
3.2 Nacc Shell.....	56
3.3 VP	57
Discusión	59
1. Inmunoreactividad en el Hipotálamo	59
2. Inmunoreactividad en el sistema de recompensa	60
3. Relevancia de la novedad social en los ambientes enriquecidos.....	61
Conclusiones	63
Referencias.....	64

Inmunoreactividad de c-Fos en el hipotálamo y el sistema de recompensa asociada a la novedad social en ratas jóvenes

El ambiente social, en un gran número de especies de mamíferos, incluyendo los humanos, es necesario para el bienestar y la supervivencia, especialmente durante periodos críticos del desarrollo, como la niñez y la juventud. Dentro del Circuito del Comportamiento Social, el área que ha causado mayor interés es el núcleo paraventricular (PVN) del hipotálamo, productor de las hormonas pro-sociales vasopresina y oxitocina. Sin embargo, otras áreas han quedado un poco olvidadas, como es el caso del núcleo supraóptico (SON) del hipotálamo, que también es productor de oxitocina y vasopresina, y las áreas del sistema de recompensa que participan en la asignación del valor hedónico de los estímulos, como es el caso del núcleo accumbens (Nacc) y del pálido ventral (VP).

Debido a que las interacciones sociales durante la juventud determinan en gran medida la calidad del desarrollo, la hipótesis de este trabajo plantea que, durante la juventud, la socialización representa un estímulo altamente recompensante, por lo que la novedad social podría poseer mayor valor hedónico que la familiaridad social y que la novedad ambiental. Para comprobarlo se expuso a ratas jóvenes a diferentes estímulos socioambientales y se comparó el número de neuronas inmunoreactivas a la proteína c-Fos (un marcador de actividad neuronal) en el PVN y SON del hipotálamo, en el Nacc (Shell y Core), y en el VP.

Los resultados arrojaron que en el PVN se presenta más producción de c-Fos ante estímulos sociales novedosos, mientras que en el SON no se encontraron diferencias en la producción de esta proteína ante estímulos novedosos, sociales o físicos, ni ante estímulos sociales familiares. En cuanto al sistema de recompensa se observó un mayor número de neuronas inmunoreactivas en el grupo expuesto a novedad social en Nacc Core, Nacc Shell y VP.

De acuerdo a los datos obtenidos, se puede concluir que la actividad del PVN, responde al carácter novedoso de las relaciones sociales, probablemente por el papel que juega la oxitocina en la formación de lazos afectivos. Por otra parte, el SON, a pesar de que produce las mismas hormonas que el PVN, no parece ser afectado especialmente por los estímulos

sociales. En cuanto al sistema de recompensa se observó mayor incremento de la producción de c-Fos en Nacc Core, Shell, y en VP ante la novedad social, posiblemente por la conexión que poseen estas áreas con el PVN, lo que sugiere que este circuito ayuda a que el sistema de recompensa le asigne un mayor valor hedónico a los estímulos sociales novedosos ya que son importantes y necesarios para el desarrollo y bienestar las especies sociales.

Introducción

Un gran número de mamíferos (incluyendo los humanos) son considerados animales sociales, ya que además del apareamiento, necesario para la reproducción, su estilo de vida requiere de la presencia de otros individuos de la misma especie. Algunos de estos comportamientos son, por ejemplo, el cuidado materno y/o paterno, el juego, y la formación de grupos. El ambiente social, especialmente durante periodos como la niñez y la juventud, es necesario para el desarrollo óptimo de conductas sociales que les permitan el bienestar y la supervivencia a estas especies (Bales *et al.*, 2011; Love, 2014). Responder el cómo y por qué se dan las interacciones sociales es un tema de interés científico que la neurobiología social ha tratado de resolver buscando los patrones de organización cerebral responsables de estas conductas por medio de estudios anatómicos, genéticos y fisiológicos (Insel, 2010).

Los estudios de la neurobiología social se han focalizado principalmente en la formación de lazos afectivos de pareja y en la conducta materna, utilizando como modelos animales a la especie *Microtus ochrogaster*, pequeños roedores llamados topillos de pradera que forman lazos de por vida con su pareja (Insel y Hulihan, 1995), y a la rata de laboratorio *Rattus norvegicus*, la cual no es una especie monógama, pero es el modelo más utilizado para estudiar el cuidado materno y el juego (Champagne *et al.*, 2003).

En varios estudios se ha reconocido que tanto la formación de parejas como la conducta materna son, en parte, reguladas por la oxitocina y la vasopresina, dos nonapéptidos liberados por los núcleos paraventricular (PVN) y supraóptico (SON) del hipotálamo (Gimpl y Fahrenholz, 2001; Love, 2014). Aunque se conocieron primero como hormonas, se ha demostrado que también son liberadas en el sistema nervioso central como neurotransmisores, y es precisamente esta característica la que les confiere la capacidad de regular la formación de lazos afectivos (Liu y Wang, 2003; Ross *et al.*, 2009).

Algunas de las estructuras cerebrales que forman parte del sistema de recompensa son sensibles a oxitocina y/o vasopresina. Entre ellas se encuentran el área tegmental ventral (VTA), el núcleo accumbens (Nacc), y el pálido ventral (VP), áreas importantes para el procesamiento de los estímulos hedónicos. También se ha reportado la expresión de

receptores de estas neurohormonas en áreas como hipocampo y amígdala, que son parte del sistema límbico (Pitkow *et al.*, 2001; Smith y Berridge, 2005; 2006; Tops *et al.*, 2014).

Las conexiones e interacciones que se dan entre el hipotálamo y el sistema de recompensa han demostrado que el apareamiento y el cuidado de las crías son conductas apetitivas, lo cual es algo natural si tomamos en cuenta que ambas son necesarias para el éxito reproductivo de la especie. No obstante, es interesante el hecho de que en las llamadas especies sociales, las interacciones entre individuos vayan más allá del éxito reproductivo. Las conductas sociales entre conspecíficos de la misma edad y sexo, que tienen que ver más con el compañerismo que con la dominancia, o el juego, han sido poco estudiadas, pero se ha demostrado que los roedores prefieren los ambientes sociales (en grupo) respecto a otro tipo de estímulos como el enriquecimiento ambiental o las drogas (Love, 2014).

En este sentido, se considera necesario realizar estudios que al igual que en la conducta materna y el apareamiento, demuestren la participación del sistema de recompensa y del hipotálamo en un contexto social diferente que tome en cuenta la preferencia por la novedad social durante la etapa juvenil, entre individuos de la misma edad y el mismo sexo. De esta manera se pretende analizar si la novedad social es capaz de influenciar los eventos fisiológicos en el sistema nervioso central de manera específica.

Antecedentes

1. Métodos para el estudio de la actividad cerebral

Las neuronas tienen un potencial eléctrico creado por la diferencia de carga entre los espacios extracelular e intracelular, generada principalmente por iones de sodio (Na^+), potasio (K^+) y cloro (Cl^-) (Llinas, 1998). Lo que las diferencia de otras células es que las neuronas son más sensibles a los cambios eléctricos, además de que cuentan con sistemas moleculares especializados para transformar esos cambios en señales de comunicación eléctricas y químicas que pueden ser excitatorias o inhibitorias. Para que se genere actividad neuronal, es necesario un estímulo con la intensidad suficiente para provocar la despolarización de la membrana y generar un potencial de acción (Alberts *et al.*, 2008). El potencial de acción sobrepasa un umbral eléctrico situado alrededor de los -55mV ; al alcanzar este umbral, se incrementa la entrada de Na^+ por los canales iónicos dependientes de voltaje, la señal se convierte en un estímulo eléctrico que recorre toda la neurona y viaja hasta las terminales presinápticas donde provoca la entrada de Ca^{2+} y la liberación de neurotransmisores (Llinas, 1998).

Para que una neurona se active necesita ser estimulada ya sea natural o artificialmente. Si se requiere conocer con exactitud qué áreas cerebrales resultan activadas ante un estímulo específico, se necesita diseñar una prueba que discrimine otros estímulos ambientales del estímulo de interés, ya que, siendo células especializadas en procesar la información ambiental, las neuronas son sumamente sensibles a cualquier cambio en el entorno del sujeto.

Existen diversos métodos basados en el potencial de acción para poder registrar la actividad neuronal, aunque algunos permiten hacer mediciones directas en cuanto al voltaje, la frecuencia, e incluso la cantidad y el tipo de neurotransmisores liberados, algunos otros, permiten hacerlo por medio de los cambios secundarios que se producen en las neuronas después de la despolarización, como la expresión de ciertos genes.

Las pruebas de imagenología, como la tomografía computarizada o la resonancia magnética, permiten observar imágenes detalladas del cerebro en tiempo real, que pueden ser estructurales o funcionales. Debido a que son pruebas no invasivas son muy utilizadas en

humanos, pero es poco común que sean utilizadas en animales de laboratorio ya que cuando se trata de áreas cerebrales muy pequeñas es difícil visualizarlas con estas técnicas.

Por otra parte, existen técnicas electrofisiológicas con las que también es posible medir la actividad *in vivo*, y que requieren de la colocación de electrodos fuera o dentro del cráneo (Carter y Shieh, 2010). Otras pruebas, visualizan la actividad química de las neuronas, por ejemplo, la microdiálisis, es una técnica basada en el principio de difusión que recolecta y analiza una muestra de fluido extracelular de una región específica en tiempo real, con la finalidad de saber qué neurotransmisores son liberados por las neuronas y en qué cantidad (Chefer *et al.*, 2009).

Aunque lo ideal es medir la actividad neuronal en el momento en que ocurre, no siempre es posible y en ocasiones no es lo más práctico. Las pruebas histológicas y moleculares pueden rellenar los huecos que otras técnicas dejan en blanco. En las pruebas histológicas es necesario marcar ciertos productos moleculares que se generan por la actividad neuronal. Se pueden hacer hibridaciones *in situ*, diseñadas para marcar RNA mensajero, o alguna técnica inmunohistoquímica, para marcar proteínas específicas con anticuerpos (Volpicelli-Daley y Levey, 2004; Carter y Shie, 2010).

Las pruebas inmunohistoquímicas para buscar actividad neuronal son bastante fiables ya que se conoce que la despolarización de la membrana conduce a la transcripción de un grupo de genes conocidos como “genes de expresión temprana o inmediata” los cuales codifican para diversos tipos de proteínas, incluyendo factores de transcripción como c-Fos y c-Jun, y factores de crecimiento como BDNF (Lanahan y Worley, 1998). La presencia y acumulación de cualquiera de estas proteínas es lo que indica la actividad neuronal reciente, aunque suele preferirse el marcaje de la proteína c-Fos ya que su patrón de expresión es el más estudiado.

1.1. *c-fos*: un gen de expresión temprana inmediata

Los neurotransmisores y la despolarización neuronal causan alteraciones en la fosforilación de las proteínas y la expresión de ciertos genes. Un grupo de genes regulados por esta despolarización son los genes de respuesta temprana inmediata, implicados en el control del crecimiento y diferenciación de las células. Se conoce que codifican para factores de transcripción que dirigen la respuesta genómica de la célula en respuesta a estímulos ambientales. En las células nerviosas actúan como reguladores de la transcripción de otros

genes, traduciendo las señales ambientales en cambios de largo plazo en la función cerebral. El mecanismo molecular por el cual estos genes de respuesta temprana inmediata se activan depende de la despolarización de la membrana, es decir, de la actividad neuronal. Entre ellos se encuentran *c-fos*, *c-jun*, *zif268*, *nur77*, entre otros (Sheng *et al.*, 1990).

c-Fos, el producto de la expresión de *c-fos*, fue la primera proteína caracterizada de la familia de proteínas Fos. Codifica para un péptido de 55 kDa que es modificado después de la traducción para dar como resultado una proteína de 62 kDa que tiene una cremallera de leucina que promueve la dimerización con los productos de otros genes, generalmente miembros de la familia Jun, para formar un complejo molecular de unión a DNA (Hoffman *et al.*, 1993).

Las cascadas bioquímicas que siguen las señales eléctricas o químicas originadas en la superficie neuronal se transmiten al núcleo para estimular la expresión de *c-fos* (Figura 1). Los principales mensajeros secundarios responsables de estas cascadas son el Ca^{2+} y el adenosín monofosfato cíclico (cAMP).

Por una parte, cuando ocurre la despolarización se provoca la apertura de los canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje y el Ca^{2+} se introduce en la célula. Estos iones se unen a la calmodulina (CaM) que a su vez fosforila a las cinasas dependientes de calmodulina (CaMK), cuyo papel es activar a la proteína de unión al elemento de respuesta a calcio (CREB), un factor de transcripción que tiene un sitio de unión en el promotor del gen *c-fos*, nombrado elemento de respuesta a calcio (CRE). CREB también puede ser activado por las cinasas dependientes de cAMP (PKA) en respuesta al cAMP producido por la acción de un neurotransmisor cuyo receptor este unido a proteínas G activadoras (Sheng *et al.*, 1990).

Otra de las vías por la cual puede activarse la expresión de *c-fos* es mediante el elemento de respuesta sérico (SRE) que se encuentra en el promotor del gen. El SRE se activa por la unión del factor de respuesta sérico (SRF) al DNA y la consecuente unión de un factor complejo ternario (TCF) como el factor de transcripción Elk1, que es fosforilado por las cinasas reguladas por señales extracelulares (ERK) miembros de la familia de MAP cinasas (cinasas activadas por mitógenos) (Xia *et al.*, 1996). Esta vía es principalmente activada por los receptores inotrópicos de glutamato NMDA, pero, las vías activadas por calcio y cAMP son las principales activadoras de la transcripción de *c-fos*.

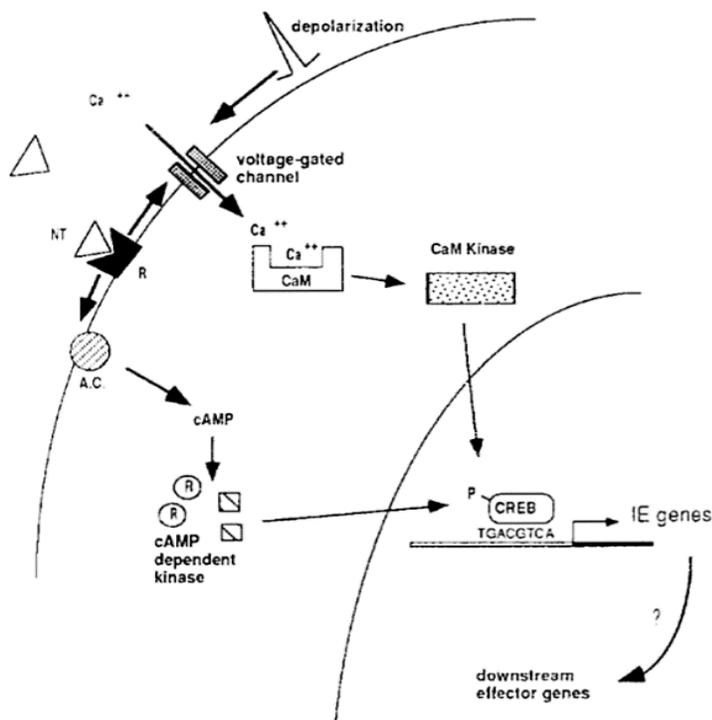


Figura 1: Vía convergente de la activación de CREB por influjo de calcio y producción de cAMP para activar la transcripción de genes de respuesta temprana inmediata como *c-fos*, a través de segundos mensajeros como CaM, CaMK, PKA y CREB. Tomada de Sheng *et al*, 1990.

1.2. Incremento de la expresión de *c-fos* como señal de actividad neuronal

En la mayoría de las células el nivel basal de expresión de *c-fos* es relativamente bajo, pero puede inducirse su transcripción rápidamente por medio de estímulos extracelulares. La despolarización neuronal es un requisito para que se comience a transcribir el gen, y sus patrones de expresión han sido descritos gracias a estudios donde se utilizan agentes convulsionantes, ya que estos provocan actividad neuronal intensa y facilitan el monitoreo del tiempo después de su administración (Sheng *et al.*, 1990).

Se conoce que después de la actividad neuronal, la acumulación de mRNA de c-Fos comienza a incrementar a los 15 minutos y alcanza su máximo a los 60 minutos (Figura 2A). La cantidad de mRNA se encuentra arriba de la basal durante 180 minutos y vuelve a alcanzar el valor basal hasta los 240 minutos. Entre los 120 y 240 minutos hay un periodo refractario en el que la transcripción de *c-fos* no puede ser inducida nuevamente por el estímulo, aunque exista actividad neuronal (Morgan *et al.*, 1987).

La acumulación de la proteína c-Fos, por otra parte, comienza a incrementar a partir de los 30 minutos después del estímulo y al igual que el mRNA alcanza su máximo entre los 60 y 90 minutos (Figura 2B). Esto se puede observar por medio de pruebas inmunohistoquímicas

observando el número de neuronas inmunoreactivas a c-Fos. La proteína c-Fos tiene una vida media más duradera que su mRNA. El hecho de que se exprese a los 30 minutos después del estímulo, ha hecho que la identificación de neuronas activas sea más sencilla, permitiendo que el investigador manipule al animal antes de sacrificarlo sin que esa manipulación resulte en marcaje de la activación de otras neuronas debido al estrés (Morgan *et al.*, 1987; Hoffman *et al.*, 1993).

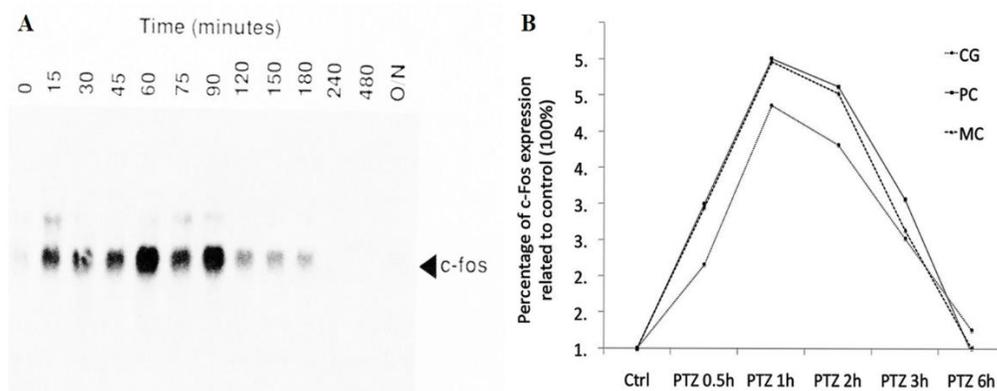


Figura 2: A) Electroforesis de mRNA de *c-fos* a diferentes tiempos después de la despolarización neuronal. La mayor cantidad de mRNA se encuentra entre los 60 y 90 minutos. Tomada de Morgan *et al.* 1987. B) Porcentaje de la expresión de la proteína c-Fos en diferentes tiempos en tres áreas diferentes (CG: giro cingulafo, PC: corteza piriforme, MC: corteza motora) después de la inyección con pentilenetetrazol, un agente convulsionante (el nivel basal representa el 100%). Tomada de Barros *et al* 2015.

La expresión de c-Fos en el sistema nervioso central varía entre regiones dependiendo del tipo de estímulo al que el animal sea expuesto y también puede diferir entre especies. Por ejemplo, los valores de mRNA y de proteína son mayores en primates (800% arriba del nivel basal) que en roedores (500% arriba del nivel basal) y se mantienen altos durante más tiempo (Barros *et al.*, 2015).

1.3. Papel de c-Fos como proteína reguladora de la transcripción de genes

La proteína c-Fos se localiza en el núcleo neuronal y su función es la de un factor de transcripción, o para ser más específicos, la de un transactivador, es decir, no opera uniéndose directamente al DNA, sino que interactúa con otros activadores transcripcionales como c-Jun, que sí cuenta con un dominio de unión al DNA y además con otro dominio de interacción con c-Fos (Figura 3). De esta manera, se asocian para formar un complejo que activa a la

maquinaria de la RNA polimerasa para comenzar la transcripción de genes (Chiu *et al.*, 1998).

Los complejos formados por estas proteínas se conocen como AP-1 (proteína activada-1) y pueden estar formados por diversas combinaciones diméricas de las proteínas de la familia Jun, Fos o ATF (factores de transcripción activados). Estos complejos promueven la transcripción genética uniéndose a un elemento del promotor que también es llamado AP-1. Este elemento lo presentan genes que tienen que ver con la proliferación, diferenciación celular y en el caso de las neuronas, con la cognición, el aprendizaje y la potenciación a largo plazo (Karin *et al.*, 1997).

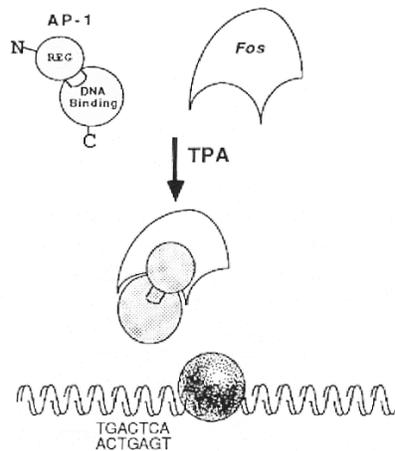


Figura 3: Interacción de la proteína c-Fos con la proteína c-Jun para unirse al elemento del promotor AP-1 y activar la transcripción genética. Tomada de Chiu *et al.*, 1998.

2. El patrón de actividad cerebral depende los estímulos ambientales y del estado interno

¿Cómo es que los millones de células nerviosas en el cerebro producen el comportamiento? y ¿cómo es que esas células son afectadas por el ambiente? El cerebro genera respuestas de tipo conductual hacia el ambiente en el que se encuentra un individuo, pero esas respuestas no dependen solo de los estímulos ambientales. Existe otro componente esencial para que se lleve a cabo una conducta, y tiene que ver con el estado interno del individuo, es decir, tiene que ver con su genética, su configuración cerebral, sus experiencias previas o memorias, y, además, con su estado homeostático con respecto al estímulo. De los genes depende la conformación molecular del cerebro, el tipo de proteínas como receptores y enzimas, que

afectan el funcionamiento de las neuronas, su comunicación y por consiguiente la conducta (Kandel *et al.*, 2013).

Un ejemplo simple de la influencia de los genes sobre el comportamiento es el caso del nematodo *Caenorhabditis elegans* (Figura 4). Su conducta social depende de dos mutaciones diferentes en un gen denominado *npr-1* que codifica para un receptor acoplado a proteínas G en las neuronas. Dependiendo de la mutación, los nematodos tienen una conducta solitaria o forman grupos, sobre todo cuando están alimentándose (Bonno y Bargmann, 1998). Por otra parte, el ambiente también modifica la expresión genética de manera directa o a largo plazo. Por ejemplo, los roedores que son criados en ambientes pobres, física y socialmente, muestran diferencias en los niveles de expresión de ciertos genes en contraste con roedores criados en ambientes enriquecidos (Buisman-Pijlman, 2014).

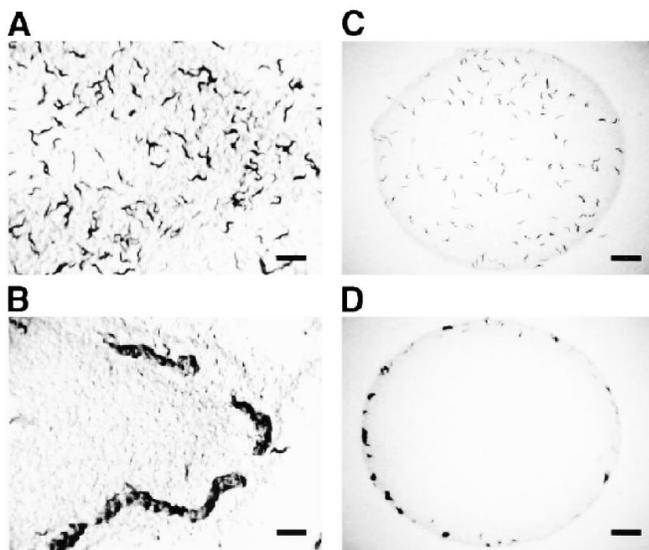


Figura 4: En las imágenes A y C se pueden observar que los nematodos se encuentran dispersados durante el forrajeo, mientras que en las imágenes B y D los nematodos se encuentran en grupos. Lo que les confiere esta diferencia conductual en cuanto al agrupamiento es una mutación en el gen *npr-1*. La barra de escala representa 1mm en A y B, y 2.5 mm en C y D. Tomado de Bonno y Bargmann, 1998.

La manera en que responde el cerebro ante los estímulos ambientales es importante para la supervivencia de los animales. Cuando se trata de procesar información, en conductas reflejas es tarea de las interneuronas enviar el estímulo desde las neuronas aferentes a la eferentes, ya sea inhibiéndolas o activándolas, pero, en conductas más complejas se requiere de la actividad de diversas áreas cerebrales, ya que representa el análisis de la información que conduce a la toma de decisiones para llevar a cabo un determinado comportamiento (Kandel *et al.*, 2013).

Un estímulo determinado puede ser procesado en diversas áreas cerebrales dependiendo de las necesidades del individuo o de su estado homeostático, por ejemplo, cuando se tiene una dieta balanceada, el sabor de la sal puede representar un estímulo aversivo o desagradable, pero ocurre lo contrario cuando se tiene una dieta depleta de sodio, el mismo sabor representa un estímulo agradable debido a que es un recurso necesario para el individuo (Tindell *et al.*, 2006).

El comportamiento de los animales es sumamente amplio ya que sirve para responder a toda la gama de estímulos ambientales, lo cual incluye factores bióticos y abióticos. Dentro de los factores bióticos, uno de los estímulos más constantes es la convivencia con otros animales, ya sean de la misma especie o no. La respuesta a la interacción que se pueda dar entre un individuo y otro depende tanto de su programación cerebral innata, como de su aprendizaje. Factores como la edad, el sexo, la familiaridad y el rango social, aparte de la naturaleza en que ocurren las interacciones, influyen los comportamientos sociales de los animales y su utilidad depende de su habilidad para exhibir los comportamientos apropiados en el contexto apropiado (Meaney y Stewart, 1981).

3. Componentes del circuito social

En general, se dice que una especie es social solo cuando tiende a formar grupos como manadas, rebaños, parvadas, enjambres, colonias, etc., (Slater, 2005; Manning y Dawkins, 2012), pero sin importar que una especie forme grupos o no, todas están expuestas a algún tipo de interacción social durante su vida. La mayoría de los animales exhiben una gran cantidad de comportamientos sociales que surgen como resultado de la interacción con otros individuos, principalmente de su propia especie. Estos comportamientos incluyen interacciones de tipo agonísticas, que generan dominancia y jerarquías; de tipo colaborativo, como reparto de los recursos, comida, territorios, calor y más; y de tipo transmisivo, como las señales y el aprendizaje.

De esta manera la adecuación de un individuo está intrínsecamente ligada a las características de su ambiente social, es decir, cada individuo influye la adecuación de los demás a través de sus interacciones (Hock *et al.*, 2010), además, la situación se vuelve más compleja debido a que no todos los individuos en un grupo tienen el mismo papel o la misma posición social, por lo que para comprender la socialización es importante centrarse en las respuestas

individuales, ¿Cómo afectan los diferentes estímulos sociales al cerebro?, ¿cómo decide un individuo cuándo, cómo y con quién interactuar?.

El comportamiento social exitoso requiere del reconocimiento de interacciones claves sociales en el contexto apropiado. Es probable que la socialización haya evolucionado gracias a mecanismos neuronales especializados para procesar información de tipo social y para generar respuestas conductuales específicas dependiendo del contexto.

Hasta el momento se sabe que la socialización está regulada por una red neuronal evolutivamente conservada que maneja la información social de una manera dinámica y que su configuración depende de la especie, y del estado reproductivo (Insel y Fernald, 2004), pero, aunque existe diversidad, es posible rastrear los principios de organización comunes en el sistema.

A medida que los animales se desplazan y crecen en sus ambientes son bombardeados por estímulos que activan de manera diferente estos circuitos neuronales, y que a su vez influyen las conductas apetitivas o evasivas (Winslow e Insel, 2004; Lee *et al.*, 2009; Goodson y Kabelik, 2009). Así, el procesamiento de la información social tiene varias etapas en las que participan diversas áreas cerebrales y diversos sistemas de neurotransmisores (*Figura 5*).

La mayoría de los estudios sobre las interacciones sociales se basan en conductas como la reproducción y el cuidado parental y han revelado la participación de áreas neuroanatómicas específicas (Insel, 1997). El denominado “circuito del comportamiento social” se divide en dos redes distintas: la primera de ellas únicamente incluye regiones necesarias para percibir, reconocer y distinguir los estímulos sociales; la segunda abarca el sistema de recompensa y por lo tanto la motivación asociada a la socialización, ambas están interconectadas por regiones comunes (*Figura 5*).

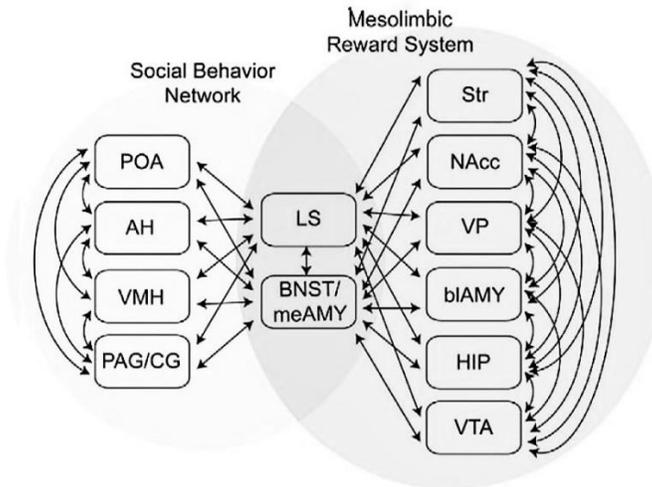


Figura 5: Regiones que componen el “código de conducta social”. A la derecha se muestran las regiones asociadas al reconocimiento social, a la izquierda las regiones asociadas a la motivación social y la toma de decisiones. En el centro se encuentran las áreas que sirven de puente y que juegan un papel tanto para el reconocimiento como para la motivación. Todo el circuito en conjunto promueve las afiliaciones sociales. POA: área preóptica, AH: hipotálamo anterior, VMH: hipotálamo ventromedial, PAG giro periacuaductal, CG giro central, LS septum lateral, BNST núcleo cama de la estría terminal, meAMY amígdala media, Str estriado, NAcc núcleo accumbens, VP pálido ventral, blAMY amígdala basolateral, HIP hipocampo, VTA área tegmental ventral. Tomada de O’Connell y Hofmann, 2011.

La red comienza en el sistema olfatorio accesorio (aunque pueden participar otros sistemas sensoriales) que se encarga de detectar las feromonas, partículas químicas que son liberadas por los animales y que llevan información sobre el sexo, el estado reproductivo, el estatus social e incluso el territorio. Las feromonas, una vez detectadas por el sistema olfatorio accesorio, son internalizadas hacia el órgano vomeronasal y sensadas por neuronas que proyectan al bulbo accesorio olfatorio (Dulac y Torello 2003).

La amígdala media (meAMY), que está involucrada en la integración sensorial recibe conexiones del sistema olfatorio y proyecta al hipotálamo, donde las regiones que se ven afectadas por esta actividad son el hipotálamo anterior y ventromedial (AH y VMH) y el área preóptica (POA), además del núcleo paraventricular (PVN) que es parte importante de las conductas sociales al conectarse con el sistema de recompensa a través de neurohormonas como la oxitocina y la vasopresina (Ferguson *et al.*, 2002; Lim *et al.*, 2004).

El sistema de recompensa, por otra parte, es el circuito neuronal donde la importancia de un estímulo, en torno a la necesidad, es evaluada, para posteriormente generar las decisiones de comportamiento adecuadas. Este circuito, de manera general, incluye el área tegmental ventral (VTA), el núcleo accumbens (Nacc), la amígdala, el pálido ventral (VP), el hipocampo, y en mamíferos, también se incluye la corteza prefrontal.

Entre las áreas de reconocimiento social y el sistema de recompensa existen dos puntos de intersección que forman parte de ambas redes por separado, pero que en conjunto funcionan como sitios de relevo mediando la información sobre la importancia social de los estímulos y la generación de conductas adaptativas. Estas regiones son el Septum lateral (LS) y el núcleo cama de la estría terminal (BNST) (O'Connell y Hofmann, 2011).

Conocer de qué manera interactúan estos sistemas, cómo se modifican entre sí, y cuáles son las consecuencias de estas modificaciones, son cuestiones importantes a abordar por la neurociencia social, pero debido a que no son sistemas cuya única finalidad sea el procesamiento de los estímulos sociales es necesario entender cada sistema por separado para poder hacer inferencias más acertadas. En este trabajo se analizarán las regiones del hipotálamo encargadas de la producción de oxitocina y vasopresina (PVN y SON) y las regiones del sistema de recompensa asociadas al placer (Nacc y VP).

4. Hipotálamo

El hipotálamo es una región del diencefalo que se encuentra por debajo del tálamo y está compuesto por varios núcleos (*Figura 6*), los cuales son sumamente importantes para la coordinación de conductas o respuestas fisiológicas esenciales para la supervivencia, como la regulación de la temperatura, la ingesta de alimentos y líquidos, el apareamiento, y las funciones viscerales.

Muchos comportamientos están influenciados por la actividad de los núcleos hipotalámicos debido a que, además de liberar sus productos en la hipófisis, comparten conexiones aferentes y eferentes prácticamente con todo el sistema nervioso central (Donaldson y Young 2008; Kandel *et al.*, 2013).

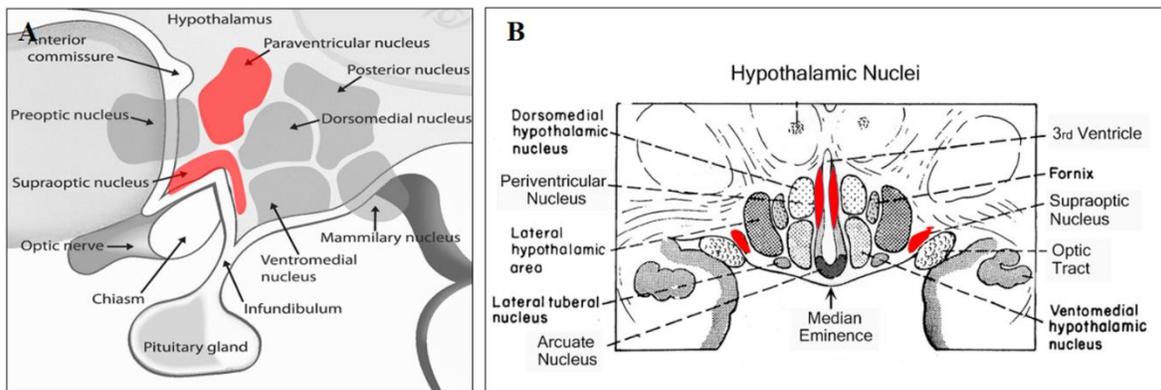


Figura 6: Representación esquemática de los núcleos del hipotálamo vistos en el plano sagital (A) y coronal (B). Se resaltan el PVN y el SON. Tomadas del dominio publico y modificadas.

Las neuronas de mayor tamaño del PVN y SON forman el componente magnocelular del sistema neuroendocrino, enviando sus axones hacia la hipófisis posterior (Swanson, 1986). Aproximadamente, en el sistema magnocelular, la mitad de las neuronas secretan oxitocina y la otra mitad vasopresina. En cuanto al sistema parvocelular, compuesto por las neuronas de menor tamaño que se encuentran a lo largo de la pared del tercer ventrículo, se sabe que liberan distintos tipos de hormonas, como hormona liberadora de corticotropina (CRH), hormona liberadora de tirotrópina (TRH), vasopresina, oxitocina, somatostatina, y hormona liberadora de gonadotropina (GRH) hacia la hipófisis anterior a través de la eminencia media, y hacia regiones del sistema nervioso central (Kandel *et al.*, 2013).

4.1. PVN

El PVN es el núcleo del hipotálamo que se encuentra adyacente a las paredes laterales del tercer ventrículo. Puede dividirse en dos tipos de neuronas por su tamaño: las magnocelulares, que son la principal fuente de oxitocina y vasopresina y las parvocelulares que además de producir oxitocina y vasopresina también producen somatostatina, CRH, TRH, entre otras (Swanson y Sawchenko, 1980; Sawchenko y Swanson, 1983). Algunas de estas hormonas son coexpresadas por ciertas neuronas, como en el caso de algunas neuronas parvocelulares que sintetizan oxitocina y vasopresina o CRH a la vez (Sawchenko *et al.*, 1984; Vervalis *et al.*, 1991; Kohno *et al.*, 2007). También puede dividirse en 3 grandes áreas de acuerdo a la dirección de sus proyecciones (Figura 7) que pueden ir hacia la hipófisis

anterior, hacia la hipófisis posterior directamente, o hacia el sistema nervioso central (Sofroniew, 1980; Swanson, 1986).

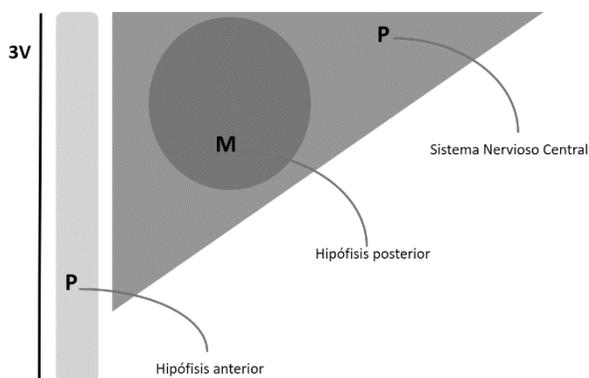


Figura 7: Localización del PVN cerca del tercer ventrículo (3V) y divisiones de acuerdo a la dirección de sus proyecciones. P: neuronas parvocelulares; M: neuronas magnocelulares. Modificada de Swanson, 1986.

El PVN de la rata contiene alrededor de 2000 células. La cantidad de neuronas que producen oxitocina y vasopresina en este núcleo va desde el 80 al 85 %, de esa proporción aproximadamente 70 a 75% son neuronas magnocelulares y el 10 a 15% restante son parvocelulares (Swaab *et al.*, 1975; Kikusui *et al.*, 1997).

Se han hecho mapeos en el PVN que muestran la distribución de las neuronas oxitocinérgicas y vasopresinérgicas desde la región anterior hasta la posterior. Aunque existen pequeñas diferencias entre especies, la distribución general de estas neuronas es similar en algunos modelos animales de mamíferos hasta ahora estudiados, como la rata, el ratón, el gato, algunos primates, y algunos ungulados.

En estos mamíferos se ha observado que la parte anterior y medial contiene mayoritariamente oxitocina y en la parte posterior y dorsal se sintetiza principalmente vasopresina (Sawchenko y Swanson, 1983; Kikusui *et al.*, 1997). En la rata, la región anterior del PVN contiene a la mayoría de las neuronas oxitocinérgicas, la región media contiene las mismas proporciones de neuronas oxitocinérgicas y vasopresinérgicas, y hacia la región posterior las neuronas oxitocinérgicas forman una concha alrededor de las vasopresinérgicas (Hou-Yu *et al.*, 1986).

Se ha demostrado la presencia de conexiones oxitocinérgicas y vasopresinérgicas provenientes del PVN en regiones autonómicas como el tallo encefálico y la medula espinal, en estructuras límbicas como el bulbo olfatorio, el hipocampo, la amígdala, el VTA y el Nacc, e incluso en algunas partes de los ganglios basales. (Sofroniew, 1980; Buijs *et al.*, 1985;

Caffé *et al.*, 1989). Por otra parte, las neuronas oxitocinérgicas y vasopresinérgicas son sensibles a varios neurotransmisores, como es el caso de la noradrenalina, dopamina, acetilcolina, angiotensina, serotonina, somatostatina y opioides (Sawchenko y Swanson, 1982; Morris, 1983; Buijs *et al.*, 1984).

4.2. SON

El SON está situado de ambos lados del quiasma óptico, en la base del cerebro. Está compuesto por neuronas magnocelulares que secretan vasopresina y oxitocina, que proyectan principalmente hacia la glándula posterior de la hipófisis (*Figura 8*). Los dos tipos de neuronas se distribuyen de manera similar en los mamíferos, aunque puede variar entre especies.

Se ha hecho un mapeo general desde la parte anterior a la posterior y de acuerdo a estudios inmunohistoquímicos, en la parte rostral del SON, las neuronas vasopresinérgicas se encuentran en la región dorsal y medial en referencia a las neuronas oxitocinérgicas. En la región media del núcleo, los dos tipos de células están mezcladas, pero hacia la región caudal hay una inversión, las vasopresinérgicas se encuentran en la parte media y ventral y las oxitocinérgicas en la parte dorsal y lateral (Hou-yu *et al.*, 1986).

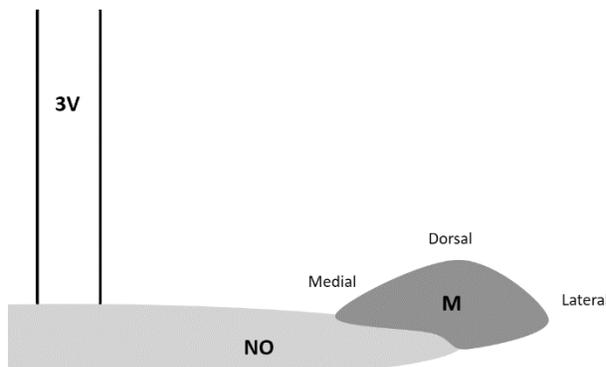


Figura 8: Ubicación y divisiones anatómicas del SON. Este núcleo se encuentra al lado de los nervios ópticos (NO) o quiasma óptico, paralelo al tercer ventrículo (3V). Modificada de Wuarin, 1997.

La rata posee un SON con alrededor de 6500 células. Al igual que en el PVN la cantidad de neuronas que producen oxitocina y vasopresina en el SON es de entre el 80 al 85 %, sin embargo, por su tamaño el SON contiene de dos a cinco veces más neuronas oxitocinérgicas que el PVN (Swaab *et al.*, 1975). Del porcentaje anterior, aproximadamente el 50% son neuronas vasopresinérgicas y el 30% restante son oxitocinérgicas. La distribución es similar en otros mamíferos como roedores, primates y ungulados (Kikusui *et al.*, 1997).

Además de mandar sus proyecciones celulares a la hipófisis, las neuronas del SON también envían cierta cantidad de axones hacia el sistema nervioso central (Buijs *et al.*, 1985). Por otra parte, está innervado por un gran número de neuronas GABAérgicas, dopaminérgicas y noradrenérgicas, provenientes de otros núcleos hipotalámicos y áreas extrahipotalámicas (Morris, 1983; Buijs *et al.*, 1984; Theodosis *et al.*, 1986).

4.3. Síntesis y liberación de las hormonas pro sociales

Todas las hormonas neurohipofisiarias son nonapéptidos con puentes disulfuro entre el primer y el sexto residuos de cisteína. La oxitocina y la vasopresina son hormonas que están muy relacionadas ya que sus genes están localizados en el mismo locus y se piensa que probablemente surgieron por un proceso de duplicación. Estos nonapéptidos aparecieron tempranamente en la evolución y se han rastreado con distintas formas en todas las familias animales incluyendo las lombrices y los anélidos.

La diferencia entre las dos hormonas se encuentra en el octavo residuo aminoácido, las hormonas que pertenecen a la familia de la vasopresina poseen aminoácidos básicos, como arginina y las que pertenecen a la familia de la oxitocina poseen aminoácidos neutros como la leucina (Acher *et al.*, 1994). En general la vasopresina controla funciones autónomas que tienen que ver con la homeostasis mientras que la oxitocina regula el control de los fluidos corporales, aunque también se ha comprobado que ambas influyen en la generación y mantenimiento de las conductas sociales (Gimpl y Fahrenholz, 2001).

La oxitocina y la vasopresina son sintetizadas, como ya se ha mencionado, en el PVN y el SON del hipotálamo de los vertebrados. Específicamente, el proceso de traducción se lleva a cabo en el soma de las neuronas, proceden de un precursor que contiene neurofisisina, una proteína transportadora, en la parte carboxilo terminal, y un glicopéptido en la parte amino terminal. Después de ser procesadas en el complejo de Golgi se empaquetan en vesículas y son transportadas hacia las terminales presinápticas que se dirigen ya sea a la hipófisis o a otras regiones del sistema nervioso (Stoop, 2012).

El hecho de que la oxitocina y la vasopresina estén presentes en las terminales presinápticas de algunas regiones cerebrales y que sus receptores estén presentes en las terminales postsinápticas en las mismas regiones, sugiere que actúan como neurotransmisores reales ya que además pueden ser liberadas de estas terminales por medio de la despolarización de las

neuronas (Buijs *et al.*, 1985). Los receptores a estas hormonas pertenecen a la familia de receptores acoplados a proteínas G, los cuales tienen siete dominios transmembranales, tres bucles extracelulares y tres intracelulares. Se han identificado tres tipos de receptores de vasopresina (V1aR V1bR y V2R) y uno solo de oxitocina (OTR). De los receptores a vasopresina el más abundante en el sistema nervioso es el V1aR (Stoop, 2012).

El receptor de oxitocina puede acoplarse con distintas proteínas G y puede generar diferentes efectos, entre ellos la movilización de calcio, como en el caso del músculo liso del útero, para provocar las contracciones. En las neuronas puede activar la adenil ciclasa e incrementar la producción de cAMP que conduce directamente, sin activar las PKA, a la activación o inhibición de canales iónicos específicos cuya finalidad es modular la excitabilidad de la célula.

Los receptores V1a de vasopresina también pueden generar señalizaciones independientes de PKA o de cambios en la concentración de calcio intracelular (Gravati *et al.*, 2010). Después de ser activados por la oxitocina y la vasopresina, los receptores son endocitados y luego degradados o reciclados, por lo que después de que se genera una activación constante durante al menos 10 minutos, más del 60% de los receptores son internalizados y ocurre una desensibilización de los mismos péptidos durante cierto periodo (Gimpl y Fahrenholz, 2001; Stoop, 2012).

La cantidad y distribución de receptores de vasopresina y oxitocina en el sistema nervioso central dependen de la especie, no obstante, existen algunos circuitos en común en los que estas dos neurohormonas juegan un papel importante (*Figura 9*). Estos circuitos tienen que ver con la integración de los procesos motivacionales al comportamiento. Por ejemplo, se puede identificar un circuito dentro del sistema límbico, que puede llegar a regular la conducta social, el estrés y la ansiedad y un circuito que comprende áreas como la corteza prefrontal y el hipocampo y que puede llegar a regular el aprendizaje y la memoria. Estos dos circuitos pueden o no considerarse aparte (Stoop, 2012).

Los sitios a los que se une la vasopresina y la oxitocina son parecidos en el tallo encefálico, pero difieren en el cerebro anterior (Loup *et al.*, 1991), especialmente en las regiones del sistema límbico. Las diferencias dependen de si la especie es altamente social o no. Como ejemplo se ha observado que los topillos de pradera, que son una especie monógama, tienen

mayor cantidad de receptores a oxitocina en el Nacc y corteza prefrontal, y mayor cantidad de receptores de vasopresina en VP, mientras que los topillos de montaña, que son promiscuos tienen menor cantidad de receptores de oxitocina en Nacc y corteza prefrontal, y menor cantidad de receptores de vasopresina en el VP, pero mayor cantidad en el LS (*Figura 10*) (Insel *et al.*, 1994; Young *et al.*, 2001).

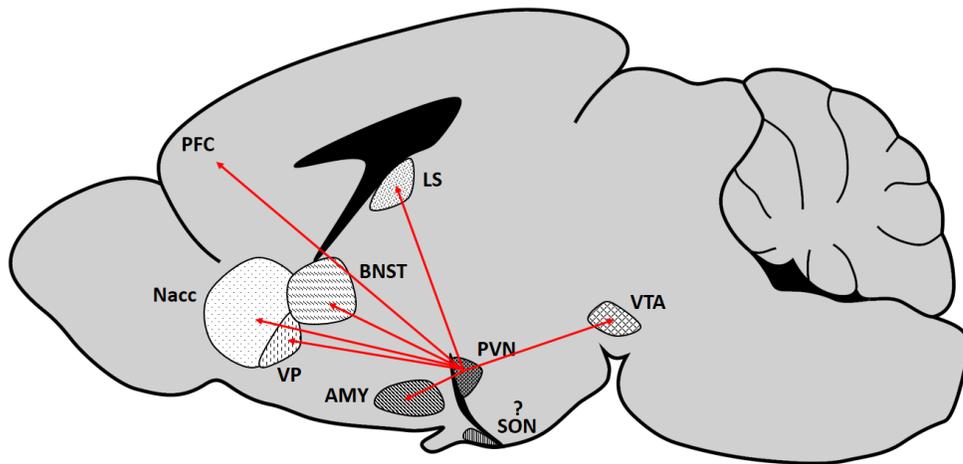


Figura 9: Esquema sagital del cerebro de rata donde se muestran las áreas que poseen receptores a oxitocina y a vasopresina. Amígdala (AMY), núcleo cama de la estría terminal (BNST), septum lateral (LS), núcleo accumbens (Nacc), amígdala, hipocampo, área tegmental ventral (VTA), tubérculo olfatorio, núcleo ventromedial del hipotálamo, putamen caudado, núcleo caudado, pálido ventral (VP), y corteza prefrontal (PFC). La mayoría de la oxitocina provienen de las neuronas parvocelulares del PVN, no se conoce con exactitud si el SON envía oxitocina hacia el sistema nervioso central. Con referencia en los trabajos de Loup *et al.*, 1991; Lim *et al.*, 2004 y Gordon *et al.*, 2011.

La oxitocina y la vasopresina también se consideran hormonas importantes para el desarrollo ya que su síntesis y liberación central comienza desde muy temprana edad. La síntesis de vasopresina comienza a partir del día 16 a 18 en el útero y la de oxitocina después del nacimiento (Lipari *et al.*, 2001).

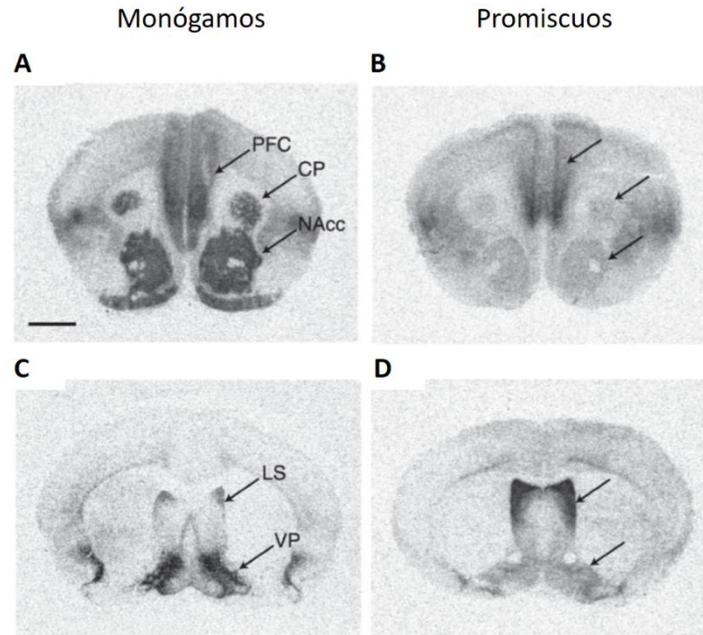


Figura 10: Autoradiografía que muestra las diferencias en la densidad de los receptores de oxitocina y vasopresina en el sistema de recompensa de roedores y monógamos (A y C) y promiscuos (B y D). PFC: corteza prefrontal (PFC), putamen caudado (CP), núcleo accumbens (NAcc), septum lateral (LS), pálido ventral (VP). Tomada de Young y Wang 2004.

5. Sistema de recompensa

El principal objetivo del estudio de la conducta animal es comprender cómo es que el cerebro procesa los estímulos ambientales y transforma esa información en acciones. El sistema de recompensa tiene gran parte de la responsabilidad en cuanto a la toma de decisiones, ya que se encarga de mediar percepciones como el placer, el dolor, el miedo y otras reacciones afectivas mediante la evaluación los estímulos ambientales. Estas evaluaciones son necesarias para la supervivencia e involucran la participación de procesos motivacionales que empujan a un organismo a reconocer e involucrarse con los estímulos relevantes.

Gracias al sistema de recompensa se pueden tomar decisiones para realizar comportamientos futuros; una de sus características es que está basado en procesos similares a los homeostáticos, y utiliza un punto de partida para darle valor a los estímulos, por ejemplo, la comida sabe mejor cuando estamos hambrientos, y el agua cuando estamos sedientos (Berridge, 2004).

El valor que el cerebro le da al estímulo es lo que determina la motivación para conseguirlo, de manera que las “recompensas” son cualquier cosa por la que un animal se esfuerce para obtener; son el componente principal para guiar el aprendizaje y el comportamiento. Cuando se habla de una recompensa natural significa que los estímulos que se obtienen por medio de conductas específicas producen la activación de diversas áreas del sistema límbico, en especial áreas que tienen que ver con percepciones de satisfacción y bienestar.

Las recompensas naturales pueden surgir a partir de conductas de todo tipo, por ejemplo, la alimentación, el descanso, la reproducción, el cuidado materno, el juego etc., ya que son necesarias para la supervivencia y la adquisición de habilidades sociales y cognitivas, aunque también existen las recompensas no naturales que se dan, por ejemplo, ante el consumo de drogas de abuso, las cuales generan un desbalance en los procesos motivacionales (Love, 2014).

El sistema de recompensa funciona principalmente por medio de dos factores: El “Liking” y el “Wanting”. El primero es esencialmente impacto hedónico al momento de recibir un estímulo, mientras que el segundo es la motivación para conseguirlo, pero no es placer sensorial. Ambos procesos tienen diferente significado y diferentes mecanismos cerebrales que en conjunto regulan el aprendizaje (Berridge, 2004).

Tanto en “Liking” como el “Wanting” pueden ser producidos el uno sin el otro, sobre todo en experimentos de laboratorio, pero naturalmente, las conductas motivacionales o apetitivas no pueden ocurrir sin un estímulo atractivo que prediga la obtención de una recompensa, ya que el querer algo implica que ese algo nos guste. Aunque el “Wanting” se genera gracias a estímulos valorados a través de experiencias previas y aprendizaje, el “Liking” tiene un componente innato, y responde a las necesidades inmediatas del sujeto (Trezza *et al.*, 2011).

Las neurociencias afectivas nos han revelado que estos procesos fisiológicos están mapeados en distintos sistemas neuroanatómicos y neuroquímicos y su estudio nos puede conducir a un mejor entendimiento de las conductas motivacionales y las disfunciones de las mismas (Berridge *et al.*, 2009).

La primera demostración de que existía un circuito de recompensa anatómicamente identificable fue el trabajo de Olds y Milner en la década de los cincuenta, quienes

descubrieron que las ratas se esfuerzan más de lo normal para conseguir estimulación eléctrica al colocarles electrodos en áreas cerebrales específicas. Estos experimentos abrieron el camino a un gran número de estudios farmacológicos, fisiológicos y conductuales que han demostrado la relevancia que tienen algunas áreas en la generación de los procesos motivacionales, especialmente áreas del estriado ventral, el cerebro medio, y la corteza cerebral, además de otras estructuras que son parte del sistema límbico como la amígdala y el hipocampo (Haber y Knutson, 2010).

Anatómicamente el circuito de recompensa se distribuye a lo largo de todo el cerebro (*Figura 11*). Se ha sugerido que la base del todo el circuito es el sistema dopaminérgico, que comienza con la señalización de los eventos motivacionales a través de la liberación de dopamina desde el VTA, hacia el Nacc, que se encuentra dividido molecular y funcionalmente en un núcleo “Core” y una concha “Shell” (Kelley y Berridge, 2002; O’Connell y Hofmann, 2011).

Se ha demostrado que la dopamina afecta las conductas apetitivas en mayor medida que las consumatorias y que esto tiene que ver con la actividad del Nacc, aunque la dopamina no es el único neurotransmisor que regula sus funciones (Robbins y Everitt, 1976). El VTA también posee proyecciones dopaminérgicas hacia la corteza prefrontal la cual se encarga de la toma de decisiones, incide principalmente en dos áreas que son la corteza orbitofrontal y la cíngulada anterior, involucradas en la asignación de valor a las recompensas y su asociación a acciones concretas, respectivamente (Haber y Knutson, 2010).

Tanto el Nacc como la corteza prefrontal envían proyecciones glutamatérgicas hacia el VTA, y además, también las envían al VP, que representa la conexión entre el estriado ventral y el dorsal, o en otras palabras, la conexión entre la motivación y la acción. El VP, el Nacc y la corteza prefrontal también reciben información sensorial de la amígdala e información espacio-temporal del hipocampo (Love, 2014). Otras áreas relevantes en el sistema de recompensa que ayudan a procesar y a equilibrar las respuestas afectivas incluyen al LS, POA y BNST además de algunas regiones del tallo encefálico (O’conell y Hofmann, 2011).

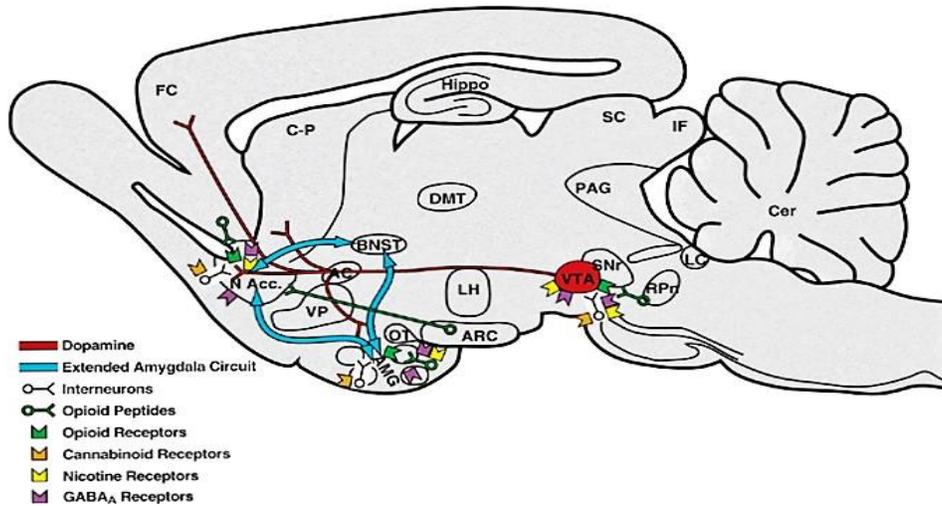


Figura 11: Vista sagital del esquema de un cerebro de rata donde se muestran de manera general las estructuras cerebrales que forman parte del sistema de recompensa, así como sus principales conexiones y sistemas de neurotransmisores. Corteza frontal (FC), hipocampo (Hippo), núcleo cama de la estría terminal (BNST), núcleo accumbens (N Acc.), pálido ventral (VP), amígdala (AMY), área tegmental ventral (VTA). Tomada de Koob, 2013.

Además de la dopamina el sistema de recompensa se ve influido por otros tipos de neurotransmisores, especialmente GABA y glutamato, ya que la mayoría de las regiones que lo conforman poseen mecanismos de retroalimentación inhibitoria o excitatoria que ayudan a modular las respuestas afectivas y a equilibrar la actividad del sistema. Se conoce también la participación del sistema opioide y cannabinoide (Robbins y Everitt, 1976), y como se mencionó en el capítulo anterior las neurohormonas hipofisarias también pueden afectar de manera importante los procesos motivacionales.

5.1 Puntos hedónicos: Nacc Shell y Pálido ventral

Se ha sugerido que los sitios cerebrales responsables del procesamiento del “Liking” son anatómicamente separables de los que influyen el “Wanting”. De estos dos componentes motivacionales, el estudio del “Liking” ha presentado más dificultades debido a que su observación objetiva es complicada, sin embargo, se han podido correlacionar algunos comportamientos y respuestas fisiológicas neuronales al carácter subjetivo del placer (Berridge *et al.*, 2009).

Se mencionó anteriormente que las recompensas naturales activan ciertas estructuras cerebrales, como la corteza prefrontal, el Nacc, el VP, el VTA, la amígdala y otras estructuras

subcorticales, dentro de estas áreas algunas se relacionan directamente con el placer producido por la obtención de una recompensa y algunas otras, tienen la función de dispersar las señales en el circuito o mediar funciones cognitivas, motivacionales y motoras relacionadas a la recompensa.

El método que se ha utilizado para saber qué clase de actividad cerebral es responsable de la mediación de los procesos hedónicos en modelos animales, es la manipulación de áreas particulares del cerebro y de sistemas de neurotransmisores específicos que demuestren si su modificación genera cambios específicos en el procesamiento del placer.

La mayoría de los estudios relacionan el placer subjetivo a las reacciones motoras faciales que se producen ante el consumo de sustancias dulces, en estos experimentos se ha observado la participación de varios sistemas de neurotransmisores aparte del dopaminérgico, como el opioide y el endocannabinoide (Mahler *et al.*, 2007; Smith y Berridge, 2007). Por otra parte, las regiones que, al ser manipuladas física o químicamente, producen un incremento o disminución de las reacciones hedónicas motoras y por ende del placer, se han nombrado como “puntos hedónicos” (*Figura 12*), entre ellos se encuentra la parte media del Nacc Shell, y la parte posterior del VP (Smith y Berridge, 2005).

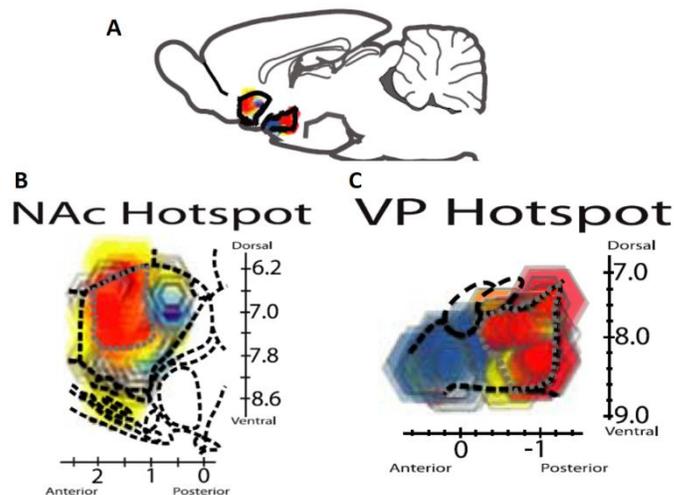


Figura 12: A) Representación de los puntos hedónicos (color rojo) en el Nacc Shell y en el VP, vistos en un corte sagital de cerebro de rata. B) El punto hedónico en el Shell se encuentra marcado en rojo en la parte medial dorsal. C) El punto hedónico en el VP se encuentra marcado en rojo en la parte posterior. Estas áreas se mapearon por medio de la inmunoreactividad de c-Fos después de la estimulación con agonistas opioides. Tomada de Smith y Berridge, 2007.

El Nacc es reconocido por ser un área de integración de la información sensorial que facilita una salida conductual favorable ya sea de acercamiento o evasión a un estímulo. En

mamíferos se presentan dos regiones, el “Core” y el “Shell” que se distinguen por hodología y perfiles neuroquímicos. El Core tiene mayor inmunoreactividad a calvidina y al neuropéptido Y, mientras que el Shell tiene mayor reactividad a la sustancia P (Zahm y Brog, 1992; Heimer *et al.*, 1997). Todo el Nacc se compone principalmente de neuronas medianas espinales GABAérgicas, y la mayor parte de sus axones son enviados al VP (Papp *et al.*, 2012; Gangarossa *et al.*, 2013). El Core del Nacc se conecta mayoritariamente con la parte caudolateral del VP, mientras que el Shell lo hace mayoritariamente con la parte rostromedial (Leung y Balleine, 2013).

El VP, que comprende la parte más rostral y ventral del globo pálido, está formado por neuronas pálidas que se caracterizan por altos niveles de sustancia p y encefalina. Este núcleo no solo regula la salida motora de los comportamientos motivacionales, también juega un papel importante en el procesamiento de las recompensas, presenta conexiones eferentes hacia el Nacc, lo que convierte a estas áreas en un sistema recíproco, que tiene como función modular el valor hedónico de los estímulos recompensantes (Groenewegen y Russchen, 1984; Zahm y Brog, 1992). Cuando se estimula con agonistas a opioides cualquiera de los dos puntos hedónicos, se incrementa la producción de c-Fos hasta 350% mayor al nivel basal, mientras que cuando se estimulan con antagonistas opioides la cantidad de c-Fos disminuye hasta 30% menor al nivel basal (Smith and Berridge, 2007).

Al parecer, la reacción hedónica depende de la activación simultánea de ambas áreas; si se bloquean los receptores opioides en el Nacc Shell las reacciones hedónicas disminuyen, aunque los mismos receptores sean estimulados en el VP, y lo mismo ocurre de manera inversa (Smith and Berridge, 2005; Smith *et al.*, 2009). Naturalmente a mayor actividad del Nacc hay mayor motivación para conseguir una recompensa, sin embargo, se conoce que la sobre estimulación GABAérgica en el VP puede producir anhedonia. Este efecto puede verse contrarrestado debido a actividad dopaminérgica o de otros neurotransmisores que también estimulan directamente el VP, lo que bloquea el efecto inhibitorio de GABA proveniente del Nacc, de tal manera que puede ocurrir simultáneamente el incremento del “Wanting” y del “Liking” (Smith and Berridge, 2007).

La activación de los receptores de opioides y de cannabinoides en el Nacc Shell, en especial en la parte medial y caudal, incrementa las reacciones afectivas positivas, y el consumo de la

recompensa (comida, agua con azúcar, sexo, drogas, etc.). El mismo efecto se consigue activando las neuronas con receptores a opioides, cannabinoides, y GABA en la parte posterior del VP, pero, al contrario, la estimulación en el Nacc Core incrementa la búsqueda de la recompensa, más no su consumo.

El Nacc Shell y el VP son áreas cuya activación es suficiente para incrementar el “Liking” ante una recompensa, no obstante, el VP es la única estructura necesaria para el placer, ya que, si se destruye o lesiona, desaparecen por completo las reacciones afectivas placenteras, provocando anhedonia, incluso, aunque el Nacc Shell sea estimulado (Chiara y Bassareo, 2007; Smith y Berridge, 2007).

La actividad del Nacc y del VP también se ha vinculado al sexo y a las afiliaciones sociales, como la formación de parejas. Este circuito de recompensa, cuya estimulación es suficiente para incrementar el placer y necesaria para provocarlo, está estrechamente relacionado a la liberación de las hormonas oxitocina y vasopresina, sintetizadas por el hipotálamo ante la estimulación social (Lim y Young, 2004).

6. Etapas de la socialización: Reconocimiento, motivación y afiliación

Debido a que la conducta social va cambiando a medida que los animales se familiarizan entre sí, la neurociencia social se ha dado a la tarea de examinar cuáles son las bases de esos cambios en la socialización, sus causas, sus consecuencias, y qué diferencias se presentan a nivel especie y a nivel individuo. Existen varias estructuras encargadas de procesar los estímulos sociales, algunas solamente juegan un papel durante las primeras etapas de la socialización mientras que se requiere de otras áreas para poder mantener las relaciones sociales.

No todos los estímulos sociales provocan la misma respuesta en el cerebro, existen estímulos que pueden ser aversivos, estímulos que pueden ser recompensantes y estímulos que pueden ser neutros; en este punto se darán a conocer las distintas etapas que se dan en la conducta cuando los estímulos sociales son recompensantes, es decir cuando es probable que entre dos individuos se genere un lazo afectivo.

6.1. Reconocimiento social

El desarrollo de la familiaridad social es quizá el primer paso para generar relaciones sociales a largo plazo, pero antes de dar inicio a la formación de estas relaciones afectivas, los

animales deben ser capaces de reconocerse entre sí, y de deducir qué papel social juega cada uno de los individuos en su ambiente.

Tal parece que los animales cuentan con un sistema innato para reconocer la identidad social de otros individuos; esta habilidad les permite distinguir si se trata de su misma especie, si son de sexo masculino o femenino, quiénes son nuevos y quiénes son familiares, además de quiénes representan peligro, y quiénes no (Lee *et al.*, 2009). Al distinguir la identidad social de los individuos que los rodean los animales pueden desplegar comportamientos acertados, que son generalmente de carácter afiliativo o agresivo y que les permiten adecuarse y sobrevivir.

El reconocimiento social se ha definido como la habilidad de reconocer a un conespecífico después de haber convivido con él durante un periodo corto (Bielsky y Young, 2004). Para los infantes de muchas especies el reconocimiento de conespecíficos, especialmente de padres, se da a través de procesos de aprendizaje especializados, como la impronta, que tiene un periodo sensitivo obligatorio (los primeros días después del nacimiento) y es irreversible en situaciones naturales. Más adelante existe otra ventana en el desarrollo que predispone a las crías a acercarse a objetos de tipo social que se presentan en su entorno, de manera que se estimula el aprendizaje en cuanto a los individuos de su grupo. Esta predisposición es modificada después por las experiencias del sujeto, las cuales determinan su rol social en la etapa adulta (Winslow e Insel, 2004).

En roedores adultos, el reconocimiento social se ha estudiado gracias a la observación de que tanto en laboratorio como en la vida silvestre presentan un ritual de reconocimiento cuando son expuestos a un individuo, que consiste en el olfateo de la zona anogenital y de la cabeza, así como también el seguimiento cercano a otro individuo. Después del reconocimiento, independientemente de si el estímulo es conocido o desconocido, se desarrolla una conducta apropiada ante el contexto, por ejemplo, cuando un macho es expuesto a otro macho en su territorio o a una hembra receptiva, el olfateo evoluciona ya sea en una conducta agresiva o en una conducta de cortejo (Winslow e Insel, 2004; Insel y Fernald, 2004).

Existen dos pruebas para estudiar el reconocimiento social, la prueba de habituación-deshabituación y la prueba de discriminación social. En el primero, un macho adulto es expuesto a un individuo desconocido, que generalmente es un macho juvenil (para evitar

agresiones) o a una hembra ovariectomizada (para evitar cortejo). La exploración del individuo desconocido tiene una duración aproximada de dos minutos antes de que el sujeto de prueba muestre desinterés. Después de la primera exposición los sujetos son separados durante 30 minutos y luego de este tiempo se repite la prueba; el tiempo de exploración durante el segundo encuentro disminuye en un 50%, lo que significa que se ha reconocido el estímulo como familiar (Bielsky y Young 2004; Lee *et al.*, 2009).

En la segunda prueba, después de que se ha comprobado el reconocimiento de un individuo, se vuelve a exponer al sujeto ese mismo individuo y a un individuo desconocido al mismo tiempo, de manera que el sujeto pasa más tiempo explorando al individuo nuevo y no al conocido (*Figura 13*) (Bielsky y Young 2004; Lee *et al.*, 2009). Las dos pruebas en conjunto, nos indican que los animales tienen memoria social, y que son capaces de familiarizarse con otros y de distinguir de manera muy eficiente lo familiar de lo novedoso en el contexto social.

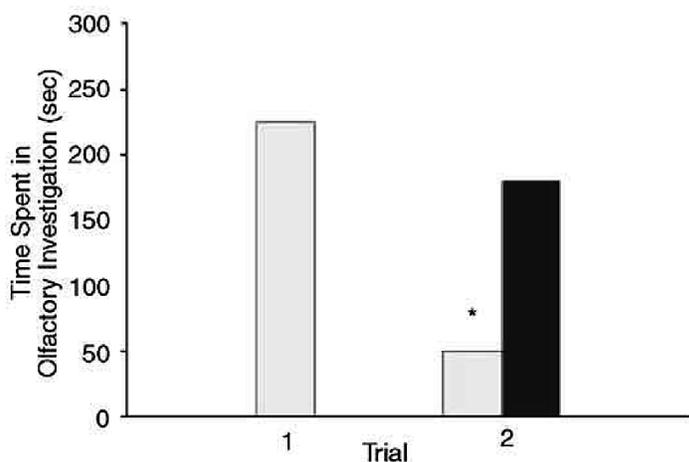


Figura 13: Cuando una rata es expuesta al mismo tiempo a un individuo familiar y a uno desconocido, pasará la mayor parte de su tiempo investigando al individuo desconocido. Tomada de Bielsky y Young 2004.

En cuanto a los neurotransmisores que están involucrados en los procesos de cognición social, se ha reconocido ampliamente la participación de la oxitocina y la vasopresina; su papel se ha investigado a través del uso de agentes farmacológicos, transgénicos y vectores virales, combinados con pruebas conductuales como las de reconocimiento social.

En roedores knockout, modificados para no producir cualquiera de estos péptidos o sus receptores, se ha visto que no es posible la generación de memorias de tipo social, pero sí de tipo no social, en cambio, si se les administra oxitocina o vasopresina antes del encuentro, o se estimulan áreas donde normalmente se distribuyen sus receptores, se restablece

completamente el reconocimiento social (Moal *et al.*, 1987; Ferguson *et al.*, 2000; Bielsky *et al.*, 2004).

La diferencia entre los roedores knockout y los wild type también radica en que después de un encuentro social los patrones de expresión de c-Fos son diferentes en diversas regiones cerebrales, como el LS, el POA, el BNST, el bulbo olfatorio accesorio, la amígdala y parte de la corteza (Ferguson *et al.*, 2001). También, en los roedores wild type, la administración de agonistas de vasopresina u oxitocina facilitan la memoria social, mientras que los antagonistas la disminuyen. De la misma manera, la sobre expresión de receptores en algunas áreas facilitan el reconocimiento social y prolongan la retención de la memoria (Engelmann *et al.*, 1998; Bielsky *et al.*, 2004).

Aun no se reconocen del todo los mecanismos por los cuales la vasopresina y la oxitocina facilitan el reconocimiento de otro individuo, pero parece que la oxitocina es más importante para la adquisición de las memorias y la vasopresina para el mantenimiento o consolidación de las mismas (Wislow e Insel, 2004).

6.2. Motivación y preferencias sociales

La motivación es un estado mental que incrementa la posibilidad de que un organismo regule la presencia, proximidad y disponibilidad de un estímulo, en otras palabras, es la cantidad de esfuerzo que un animal está dispuesto a realizar para conseguir la recompensa. El reforzamiento, por otro lado, es la transformación de la motivación en acción, y se lleva a cabo mediante la interacción entre el estriado ventral y el estriado dorsal, que actúan para señalar la significancia del estímulo, asignarle un valor motivacional y seleccionar una respuesta apropiada (Robbins y Everitt, 1996; Salomon y Correa, 2012; Love, 2014).

Dentro de los comportamientos motivacionales están incluidas las interacciones sociales apetitivas, como el cuidado de las crías y el apareamiento. En el contexto social, las decisiones que pueda llegar a tomar un individuo dependen del reconocimiento del otro, de manera que se pueda asignar un valor motivacional, positivo o negativo, determinar si es conveniente involucrarse o no, y de qué manera (Love, 2014).

Un ejemplo de conducta motivacional social es la iniciación y el mantenimiento de la conducta materna en roedores. La conducta materna es una interacción compleja entre el estatus endocrino de la madre antes y después del parto y la estimulación continua de sus

crías hasta el periodo de destete. Analizando la actividad en el sistema de recompensa, se comprobó que cuando las madres amamantan a sus crías se genera mayor actividad que cuando se les administra cocaína, de hecho, la actividad al lactar es similar a la que presentan ratas vírgenes con cocaína administrada (*Figura 14*) (Ferris *et al.*, 2005). Este experimento y otros tantos (Shahrokh, 2010; Trezza 2011), sugieren que durante la maternidad la motivación por las crías incrementa de tal manera que su valor recompensante es incluso mayor que el de las drogas de abuso, quizá, para que la madre evite estímulos que puedan distraerla del cuidado de sus crías.

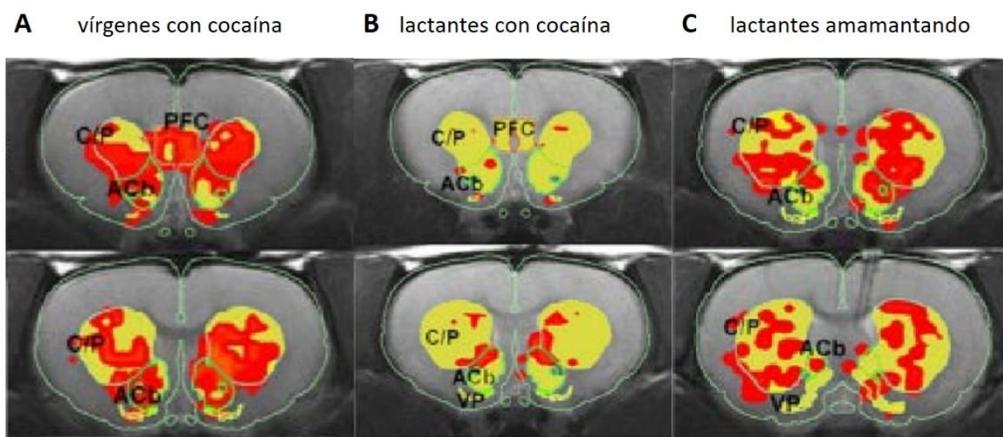


Figura 14: Comparación de la actividad cerebral en corteza prefrontal, Nacc y VP, por medio de resonancia magnética en tres grupos de ratas. A) Actividad en el sistema de recompensa de ratas vírgenes administradas con cocaína; B) Actividad en el sistema de recompensa de ratas lactantes administradas con cocaína; C) Actividad en el sistema de recompensa de ratas lactantes alimentando a sus crías. Tomado de Ferris *et al.*, 2005.

Otra conducta motivacional muy desarrollada en los mamíferos es el juego, definido como cualquier actividad locomotora que “aparentemente” no tiene beneficios inmediatos obvios para el individuo, y que refleja, de una manera desordenada y exagerada, los movimientos usados por los adultos en contextos funcionales (Varlinskaya *et al.*, 1999).

El valor recompensante que se le da al juego permite que los animales puedan aprender varias tareas para ganar la oportunidad de jugar, además, se ha observado, que los roedores prefieren compañeros con los que pueden jugar a compañeros a los que se les ha inhibido el movimiento por medio de drogas. Posiblemente la importancia que tiene el juego para

facilitar el desarrollo motor y social es lo que le confiere su alto valor motivacional (Vanderschuren *et al.*, 1997).

Las interacciones altamente significativas como el cuidado materno y el juego no son las únicas que tienen valor motivacional. Los roedores, en general, son especies sociales y estar en presencia de conspecíficos, aunque no haya contacto directo, es preferible que permanecer en aislamiento (Van Loo, *et al.*, 2004). Por medio de la prueba de preferencia de lugar se ha reconocido que las ratas permanecen más tiempo en lugares en los que han estado en contacto con otras ratas; prefieren ambientes sociales, aunque no puedan tener contacto directo con otras ratas (Figura 15), e incluso pueden aprender a cruzar laberintos para ganar acceso a otro individuo (Humphreys y Einon 1981; Calcagnetti y Schechter, 1992; Peartree, *et al.*, 2012).

La preferencia por la novedad social también es marcada en muchas especies de roedores. Suelen pasar más tiempo en una cámara con un compañero desconocido que en una cámara con un compañero familiar, aunque esto se ha reportado mayoritariamente en especímenes jóvenes (Moy *et al.*, 2004).

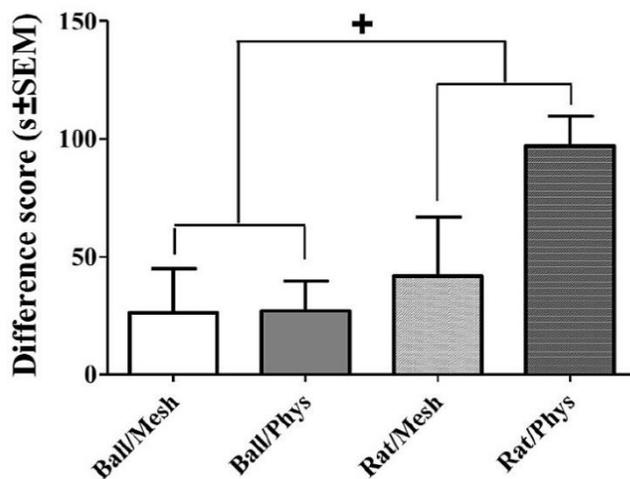


Figura 15: Tiempo promedio que las ratas pasan explorando diferentes estímulos. De izquierda a derecha: Una pelota a través de una malla (Ball/Mesh); una pelota en contacto directo (Ball/Phys); una rata a través de una malla (Rat/Mesh) y una rata en contacto directo (Rat/Phys). Se observa preferencia por los estímulos sociales y una mayor preferencia por la socialización con contacto corporal. Tomado de Peartree, *et al.*, 2012.

6.3. Afiliaciones sociales

Uno de los aspectos más básicos de la cognición social es la habilidad de forjar relaciones cercanas y duraderas, lo que puede describirse como la transición del gusto por la novedad a la apreciación de la familiaridad. En términos conductuales, el cambio de la novedad a la familiaridad se puede distinguir por la interacción selectiva con otros, como los hijos, la

pareja, o los amigos. Los estudios de las bases biológicas de las relaciones sociales complejas, como es el caso de las afiliaciones sociales, son limitados debido a las características conductuales de los modelos animales comunes del laboratorio, sin embargo, desde hace tiempo se usa al topillo de pradera (*Microtus ochrogaster*) como modelo para este tipo de estudios porque, a diferencia de muchos mamíferos, los topillos de pradera son una especie altamente afiliativa, que forma lazos sociales duraderos con su pareja y que además presenta cuidado biparental.

La distribución y cantidad de los receptores a oxitocina y vasopresina han demostrado ser la base de las diferencias en la conducta sexual a nivel de individuo y a nivel de especie (*Figura 10*) (Ross *et al.*, 2009; Ophir *et al.*, 2012; Tops *et al.*, 2014). En estudios sobre conducta materna se ha observado que un incremento en la cantidad de receptores a oxitocina en el sistema de recompensa durante el embarazo, es necesario para la transición del rechazo de las crías por parte de hembras no preñadas, a la aceptación y el cuidado de las crías por parte de hembras preñadas y lactantes (Insel y Fernald, 2004).

La cantidad de receptores a oxitocina también controla el nivel de atención hacia las crías, ya que las hembras más maternas tienen mayor cantidad de receptores a oxitocina en el Nacc que las madres que suelen ignorar más a sus crías (McGraw y Young, 2010). En cuanto a la formación de lazos afectivos entre parejas, no solo la oxitocina juega un papel importante, también la vasopresina y la dopamina actúan en áreas específicas del cerebro para facilitar las afiliaciones.

En los topillos de pradera el sistema funciona de una manera género-específica. En las hembras se activan los receptores de oxitocina en el Nacc y la corteza prefrontal durante el apareamiento, y en los machos es más marcada la activación de los receptores a vasopresina en el VP y el LS (Lim y Young, 2004). La administración de estas hormonas o el incremento de sus receptores en las áreas blanco facilita la formación de parejas y la vuelve más rápida, mientras que el bloqueo de los receptores inhibe la conducta afiliativa (Pitkow *et al.*, 2001; Insel y Fernald 2004).

Gracias a estas y otras observaciones, se sabe que la oxitocina y la vasopresina están involucradas en el cambio del balance entre el “Wanting” y el “Liking”, actuando directamente, o a través de otros sistemas para facilitar la consolidación de la información

social desde el estriado ventral, que modula las emociones, hasta el estriado dorsal, que selecciona las acciones futuras adecuadas.

7. Importancia del contacto social en edades tempranas

Los eventos en el desarrollo temprano pueden producir cambios duraderos en el comportamiento y los sistemas neuroendocrinos que los regulan; muchos de estos eventos tempranos están relacionados al desarrollo del comportamiento social y de ellos depende la adecuación social de los individuos en etapas adultas.

En particular, las especies que suelen vivir en grupos, presentan efectos negativos cuando se les aísla socialmente en edades tempranas. En roedores, el aislamiento desde la etapa de destete hasta la maduración sexual, incrementa la ansiedad y la agresividad, además causa un comportamiento sexual anormal e incrementa el apetito por la socialización (Varlinskaya *et al.*, 1999; Cruz Becerra, 2003). Las ratas que han crecido en ambientes aislados se encuentran en desventaja al competir por la atención de sus congéneres ya que son rechazadas (probablemente por su conducta anormal) por las ratas que han crecido en ambientes sociales (Douglas *et al.*, 2004). De la misma manera, la privación del juego, sin privación del contacto social, tiene los mismos efectos en cuanto al desarrollo de la conducta sexual, el apetito social, y la preferencia por parte de sus congéneres (Peartree, *et al.*, 2012).

En el laboratorio, la manipulación que requiere separar repetidamente a las crías de sus madres, modifica su comportamiento ante situaciones sociales durante la vida adulta, como reducción de la investigación social e incremento en la agresividad. La manipulación temprana también se asocia a un reducido número de neuronas parvocelulares oxitocinérgicas y vasopresinérgicas en el PVN en hembras y machos, y un incremento de las neuronas magnocelulares vasopresinérgicas en el PVN en machos (Todeschin, *et al.*, 2009).

Otro factor que influye en el desarrollo social de las ratas es el cuidado materno recibido durante la lactancia. Particularmente, la frecuencia y el tiempo que la madre pasa atendiendo y acicalando a sus crías, puede modificar las respuestas endocrinas emocionales y cognitivas ante el estrés. Las diferencias en el cuidado materno no dependen del tamaño de la camada, del peso de las crías ni de su sexo, además de que se ha observado que las hembras heredan estos comportamientos de la madre, por lo que se ha concluido que sus efectos pueden ser epigenéticos (Meaney *et al.* 1996; Champagne *et al.*, 2003).

8. Efectos de la novedad Social

Durante la adolescencia, los humanos, los roedores y otras especies sociales, son más propensos a la búsqueda de la novedad, y a la toma de riesgos; este tipo de comportamiento facilita la independencia de los individuos y ayuda a desarrollar las habilidades sociales lejos del hogar o del nido. Dentro del ámbito social, los cambios en el comportamiento durante la adolescencia tienen que ver con el incremento de la conducta de juego y con una mayor cantidad de tiempo gastado en interacciones sociales; los adolescentes reportan pasar al menos la tercera parte de su tiempo hablando con otros compañeros y menos del 10% hablando con adultos, además reportan ser más felices hablando con amigos, por lo que se concluye que las interacciones sociales entre compañeros de edad similar son una fuente de experiencias positivas para los adolescentes (Spear *et al.*, 2000).

Ya se ha demostrado en algunos trabajos, que varias cepas de roedores tienen preferencia por la novedad social, ya que pasan más tiempo explorando ambientes donde se les presentan compañeros desconocidos a ambientes donde se les presentan compañeros familiares (*Figura 16*) (Moy *et al* 2004). Cuando se trata de un compañero familiar, el contacto directo, o cuerpo a cuerpo, es preferible al contacto a través de una barrera, no obstante, si el individuo detrás de la barrera es desconocido es preferible interactuar con este, que con el compañero familiar en contacto directo, y es todavía más preferible estar en contacto directo con un compañero desconocido (Pertree *et al.*, 2011).

Parte de los efectos de la estimulación novedosa, ya sea social o simplemente ambiental, se pueden observar en partes del sistema límbico que son críticas para atribuir un valor motivacional a los estímulos (Spear *et al.*, 2000). Por ejemplo, los sabores dulces, provocan, la primera vez que son administrados por vía oral, la liberación de dopamina sobre la corteza prefrontal, el Nacc Shell y el Nacc Core, mientras que la segunda vez que son administrados se libera más dopamina sobre el Nacc Shell (Tidey y Miczek, 1996).

Este mismo efecto se puede observar cuando se trata de estímulos sociales apetitivos como la presentación de dos machos jóvenes por primera vez y dos machos jóvenes que ya se han presentado anteriormente. En contraste los estímulos aversivos como el sabor de la sal, el olor de la orina de depredador, o un macho intruso en el territorio de un macho residente provocan la liberación de dopamina únicamente sobre la corteza prefrontal y el Nacc Core

independientemente de si el estímulo es novedoso o familiar (Bassareo *et al.*, 2002; De Leonibus *et al.*, 2006).

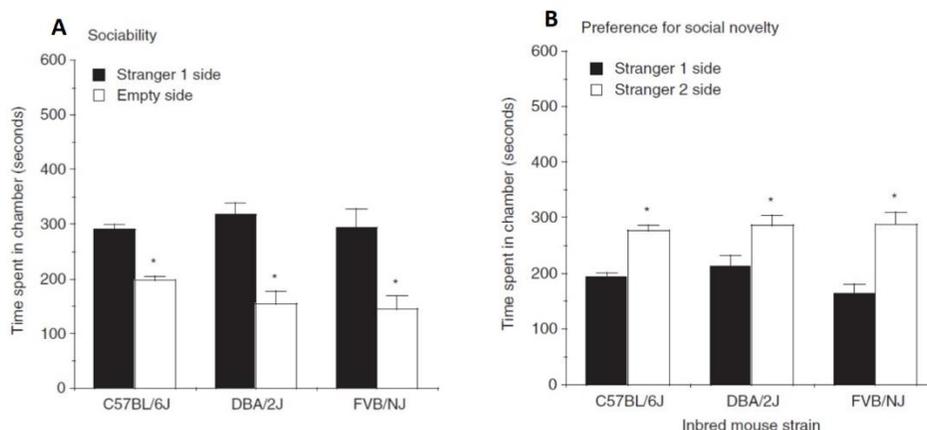


Figura 16. Tiempo que pasan 3 cepas diferentes de ratones en cámaras donde se les presentan varios estímulos. A) Las barras blancas representan el tiempo de exploración en una cámara vacía (Empty side) y las barras negras el tiempo de exploración en una cámara habitada por un compañero desconocido (Stranger 1 side). B) Las barras negras representan el tiempo de exploración en un segundo encuentro con el compañero desconocido, ahora familiar (Stranger 1 side) y las barras blancas representan el tiempo de exploración una cámara con un segundo compañero desconocido (Stranger 2 side). Tomado de Moy *et al.*, 2004.

Los experimentos anteriores muestran que la actividad o el incremento de dopamina en el Nacc Shell responde a la novedad y al balance de la motivación, únicamente cuando el estímulo es placentero, mientras que en Nacc Core y corteza prefrontal, la actividad está relacionada a cualquier estímulo motivacional, ya sea placentero o aversivo, novedoso o familiar. Por otra parte, también se ha reportado que los encuentros sociales novedosos provocan estrés, ya que no siempre son de carácter apetitivo, además de que el estrés social está relacionado con la liberación de Vasopresina y Oxitocina (Wotjak *et al.*, 1996; Wu *et al.*, 1999).

Sobre la oxitocina se conoce que provoca el incremento de la confianza y disminuye la ansiedad; en un estudio con humanos se demostró que durante un encuentro novedoso los niveles de oxitocina en sangre y en saliva incrementaban al igual que la puntuación en confianza hacia la otra persona, pero, en un segundo encuentro, aunque la puntuación en la confianza fuera mayor, menor o se mantuviera igual, los niveles de oxitocina se veían disminuidos (Figura 17). Estos datos evidenciaron que la oxitocina, liberada en situaciones

sociales que pueden provocar estrés y ansiedad, reduce el miedo e induce estados de calma y confianza además de que la liberación de esta hormona se produce siempre y cuando no exista habituación o familiaridad entre dos individuos (Tops *et al.*, 2013).

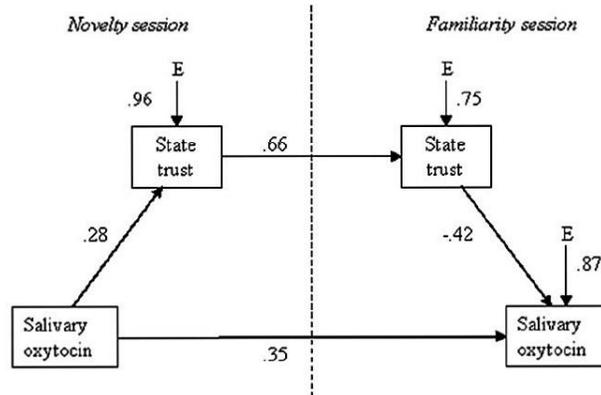


Figura 17: Esquema que representa los cambios en el estado de confianza (State trust), entre 0 y 1, y la liberación de oxitocina en saliva (Salivary oxytocin), entre 0 y 1, durante un encuentro novedoso entre dos personas (Novelty session) y un encuentro familiar (Familiarity session). Tomado de Tops *et al.*, 2013.

Justificación

Este trabajo está pensado para examinar cómo impacta la novedad social durante la juventud en el cerebro, tomando en cuenta el funcionamiento de algunos núcleos hipotalámicos, que ayudan a promover las afiliaciones sociales, y su relación con el sistema de recompensa. Además, el trabajo pretende examinar las interacciones entre compañeros de la misma edad y el mismo sexo, ya que la mayoría de las investigaciones en la neurociencia social se han centrado en el cuidado materno, la formación de parejas y las preferencias sociales en adultos, a pesar de que se conoce que la socialización en edades tempranas es necesaria para el desarrollo de una conducta normal.

Se espera que la información recopilada ayude a desarrollar y a ampliar los métodos usados para estudiar los ambientes enriquecidos, como generadores de plasticidad cerebral y como amortiguadores ante el desarrollo de adicciones y otras enfermedades.

Hipótesis

Debido a que las interacciones sociales durante la juventud son necesarias para el desarrollo óptimo de la conducta social adulta, se espera que al exponer a ratas jóvenes a estímulos sociales novedosos, haya un mayor número de neuronas inmunoreactivas a c-Fos (proteína cuya presencia es señal de actividad neuronal) en áreas cerebrales asociadas a la producción de hormonas pro-sociales, como el PVN y el SON, y en áreas asociadas a la motivación, como el Nacc Core, el Nacc Shell, y el VP, en comparación con ratas jóvenes expuestas a familiaridad social y novedad ambiental.

Objetivos

General

Analizar la expresión de c-Fos en áreas del hipotálamo y el sistema de recompensa de ratas jóvenes expuestas a novedad social para obtener información sobre cómo estos estímulos pueden impactar en conductas asociadas a la motivación y a las adicciones.

Específicos

- Exponer a ratas macho jóvenes a diferentes estímulos socio-ambientales (Ambiental novedoso, social familiar y social novedoso).
- Hacer un conteo de la cantidad de neuronas que hayan expresado la proteína c-Fos después de la estimulación.
- Comparar el número de neuronas inmunoreactivas a la proteína c-Fos en el PVN y el SON del hipotálamo, el Nacc Core, el Nacc Shell, y el VP, en las ratas expuestas a los diferentes contextos socio-ambientales.

Método

1. Animales

Se utilizaron 28 ratas macho (*Rattus norvegicus*) de la sepa Wistar, de entre 26 y 30 días de edad. Los ejemplares se obtuvieron por medio de cruzas controladas para tener conocimiento sobre su camada de procedencia.

1.1. Alojamiento

Todos los animales estuvieron alojados en el cuarto de manejo experimental, o bioterio, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México (UAEMéx). El protocolo y el uso de animales para experimentación fue sometido al Comité de Observación y Bienestar Animal (COBYBA) de la misma facultad. El manejo de los animales y las condiciones internas del bioterio se adecuaron a los estándares de la NOM-062 (1999) y de la “Guide for the care and use of laboratory animals” (2011).

Dentro del bioterio se mantuvo un ciclo luz-oscuridad modificado de 12:12. La luz se encendía a la 24:00 horas y se apagaba a las 12:00 horas. Para la iluminación se utilizó una lámpara con un foco de 60 Watts (si se requería iluminación durante la escotofase se utilizaba un foco de luz roja de 60 Watts). La temperatura se mantuvo entre 20° y 26° C y la humedad entre el 40% y el 50%. A los animales se les proporcionó agua potable y pellets de Rodent Chow de la marca Purina *ad libitum*, y se alojaron en cajas de policarbonato (45 cm de largo, 25 cm de ancho y 20 cm de alto) con tapa de acero inoxidable y viruta de madera de pino como material de cama. La limpieza se realizaba tres veces a la semana, lavando las cajas, los bebederos y los comederos con agua y jabón neutro, además de colocar viruta de madera limpia, y agua y alimento frescos.

Para realizar las cruzas las ratas se alojaron durante dos semanas en sistemas de harem (dos o tres hembras más un macho), durante 15 días. Luego de las cruzas, las hembras fueron alojadas individualmente hasta el parto, colocándoles material especial para la fabricación de su nido. Las camadas permanecieron en la misma caja que las madres hasta el día 21 post nacimiento.

1.2. Manipulación

La limpieza de las cajas y la manipulación de las ratas fueron realizadas por la misma persona desde las cruces hasta el término del experimento. Se evitó en lo posible la manipulación de las crías y de la madre durante los primeros 10 días postparto, ya que si se realiza un manejo excesivo durante estos días la hembra puede matar a la camada, o los sistemas neuroendocrinos de las crías se pueden ver afectados (Bales *et al*, 2011). A los 11 días post-nacimiento se les asignó un grupo a las crías de sexo masculino y se marcaron sobre la cola con plumones indelebles no tóxicos. Además de tomar el peso cada tercer día, las crías eran manipuladas gentilmente durante 2 minutos cada una para habituarlas al experimentador. El día del destete (día 21) se separaba a las crías macho, y a partir del día 24 comenzó la manipulación necesaria para el experimento.

1.3. Grupos

Se ocupó un número total de 28 ratas, que fue dividido en cuatro grupos experimentales.

Cuatro ratas fueron usadas para el primer grupo control, nombrado SE (Sin Estimulación) que consistió en mantener a las ratas sin ningún tipo de estimulación física o social. Para el segundo grupo control, nombrado EAN (Estimulación Ambiental Novedosa) se ocuparon ocho ratas, las cuales fueron expuestas a un objeto novedoso. Para el tercer grupo control, nombrado ESF (Estimulación Social Familiar) se ocuparon ocho ratas, las cuales fueron expuestas a otra rata ya conocida. Por último, se ocuparon ocho ratas para el grupo experimental, nombrado ESN (Estimulación Social Novedosa) que consistió en exponer a los sujetos a una rata no conocida (*Figura 18*).

Grupo	Sin estimulación (SE)	Estimulación ambiental novedosa (EAN)	Estimulación social familiar (ESF)	Estimulación social novedosa (ESN)
Número de sujetos	4	8	8	8
Tipo de estimulación	Ninguna	Objeto novedoso	Rata conocida (hermano)	Rata desconocida

Figura 18: Grupos que componen el experimento y tipo de estimulación a la que fueron sometidos.

2. Pruebas

Las pruebas de estimulación se realizaron dentro del cuarto de manejo experimental de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UAEMéx. Todas las pruebas fueron llevadas a cabo durante las primeras cuatro horas de la escotofase, con iluminación roja. La edad mínima para su realización fue de 26 días y la máxima de 30 días.

2.1. Área de Prueba

Se tenían cuatro áreas de prueba que consistían en cajas de policarbonato (45 cm de largo, 25 cm de ancho y 20 cm de alto), a las cuales se les colocó, de manera transversal, una malla o rejilla de metal con celdas de 1.3 cm^2 , que estaba unida a una tapadera, también fabricada de malla de metal, con celdas de $.5 \text{ cm}^2$ (Figura 19). Con referencia en los trabajos de Moy *et al.*, 2004 y de Peartree *et al.*, 2011, la malla tenía la función de representar un objeto novedoso para las ratas del grupo EAN, mientras que para las ratas de los grupos ESF y ESN tenía la función de evitar el contacto cuerpo a cuerpo (como el juego y la agresividad), sin impedir el olfateo y el contacto leve entre ellas.

Después de cada prueba se lavaban y desinfectaban las cajas y las mallas con jabón neutro, cloro al 5% y alcohol al 70%, y se colocaba viruta de madera limpia para evitar olores extraños o familiares en las siguientes pruebas.

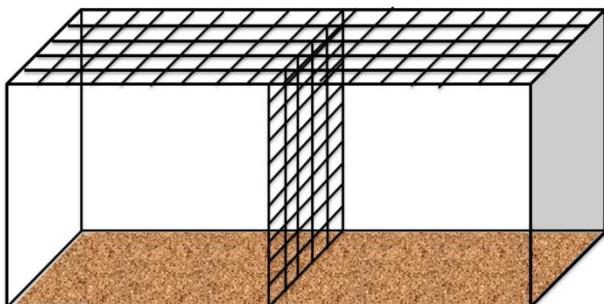


Figura 19. Esquema del área de prueba para la exposición a estímulos socio-ambientales.

2.2. Grupo sin estimulación (SE)

Aproximadamente a los 24 días de edad se aisló individualmente a las ratas en cajas de bioherio estándar, con agua y alimento *ad libitum*, durante dos días. Luego de ese periodo, se les colocó una dosis de pentobarbital sódico (40mg/kg) para comenzar la fijación del tejido. (Figura 20).

Procedimiento para SE

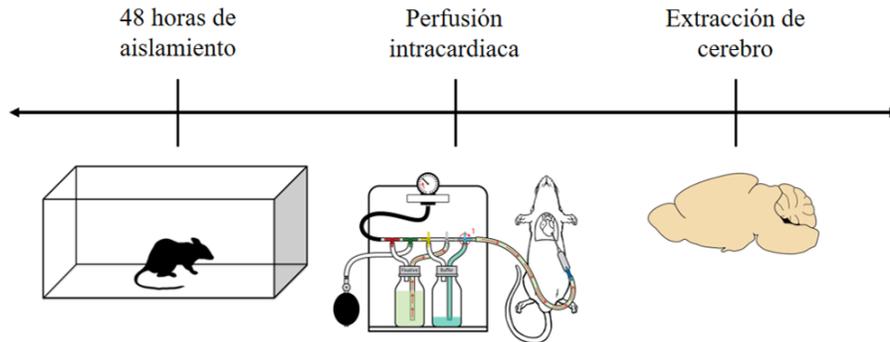


Figura 20. Esquema del procedimiento que se llevó a cabo con las ratas del grupo SE. La imagen que muestra la perfusión pertenece a Gage *et al.*, 2012.

2.3. Grupo expuesto a estimulación ambiental novedosa (EAN)

Aproximadamente a los 24 días de edad se aisló individualmente a las ratas en cajas de bioferio estándar, con agua y alimento *ad libitum*, durante dos días. Luego de este periodo se sometieron a las pruebas de estimulación. Para este grupo, cada rata fue colocada por separado en un área de prueba durante 30 minutos. La malla de metal colocada en medio de la caja representaba un objeto novedoso en su ambiente, con el cual podían interactuar. Luego de los 30 minutos de prueba se volvieron a aislar en las cajas estándar durante una hora. Finalmente, se colocó la anestesia para proceder con la fijación del tejido (Figura 21).

Procedimiento para EAN

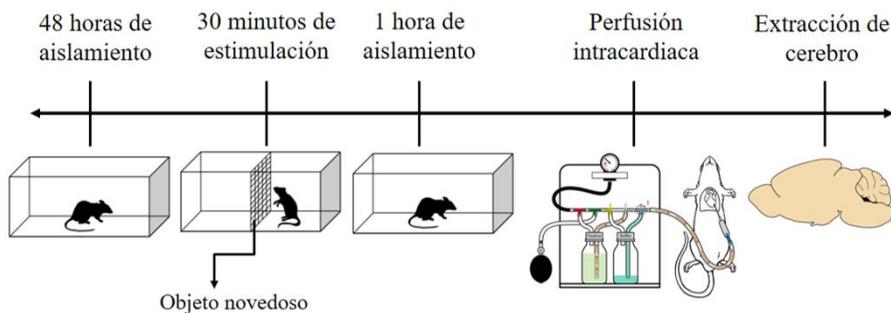


Figura 21. Esquema del procedimiento que se llevó a cabo con las ratas del grupo EAN para aplicar las pruebas de estimulación. La imagen que muestra la perfusión pertenece a Gage *et al.*, 2012.

2.3. Grupo expuesto a estimulación social familiar (ESF)

Aproximadamente a los 24 días de edad se aisló individualmente a las ratas en cajas de bioferio estándar, con agua y alimento *ad libitum*, durante dos días, en los cuales se realizaron dos sesiones de habituación, colocando individualmente a cada rata durante una hora en el área de prueba para que se familiarizaran con la malla de metal. Luego de este periodo se sometieron a las pruebas de estimulación. Para este grupo se formaron cuatro parejas con la condición de que, en cada pareja, ambas ratas se hubieran criado en la misma camada. Se colocó a cada rata de un lado de la malla en el área de prueba y se les permitió interactuar durante 30 minutos. Después de ese tiempo se volvieron a aislar individualmente durante una hora y finalmente se colocó la anestesia para proceder con la fijación del tejido (Figura 22).

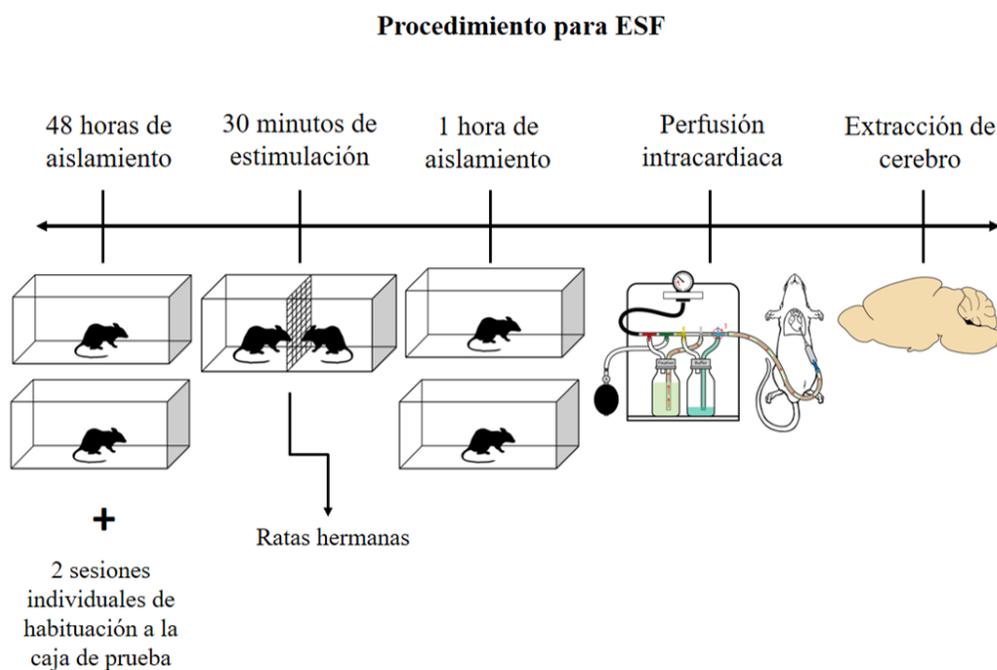


Figura 22. Esquema del procedimiento que se llevó a cabo con las ratas del grupo ESF para aplicar las pruebas de estimulación. La imagen que muestra la perfusión pertenece a Gage *et al.*, 2012.

2.4. Grupo expuesto a estimulación social novedosa (ESN)

Aproximadamente a los 24 días de edad se aisló individualmente a las ratas en cajas de bioferio estándar, con agua y alimento *ad libitum*, durante dos días, en los cuales se realizaron dos sesiones de habituación, colocando individualmente a cada rata durante una hora en el

área de prueba para que se familiarizaran con la malla de metal. Luego de este periodo se sometieron a las pruebas de estimulación.

Para este grupo se formaron cuatro parejas con la condición de que, en cada pareja, ambas ratas se hubieran criado en diferentes camadas, de manera que no hayan tenido contacto entre ellas anteriormente. Se colocó a cada rata de un lado de la malla en el área de prueba y se les permitió interactuar durante 30 minutos. Después de ese tiempo se volvieron a aislar individualmente durante una hora y finalmente se colocó la anestesia para proceder con la fijación del tejido (*Figura 23*).

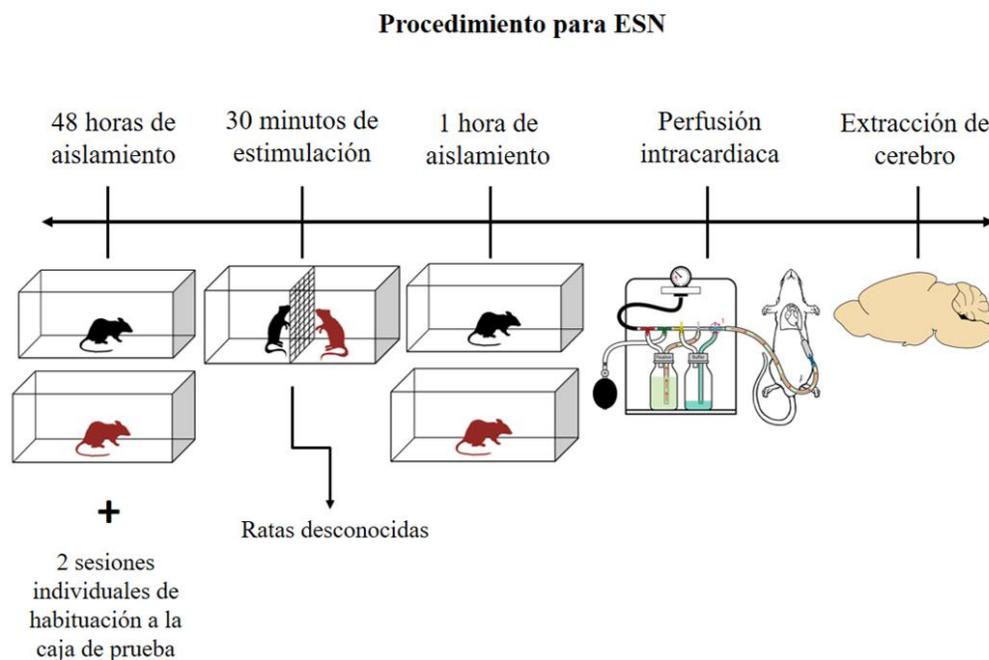


Figura 23. Esquema del procedimiento que se llevó a cabo con las ratas del grupo ESN para aplicar las pruebas de estimulación. La imagen que muestra la perfusión pertenece a Gage *et al.*, 2012.

3. Preparación del tejido nervioso

Para poder realizar el marcaje de la proteína c-Fos, se procesó el tejido por medio de protocolos estandarizados para su fijación y preservación. En este trabajo, se utilizó la técnica de perfusión intracardiaca para poder extraer los cerebros fijados y libres de sangre. Después se realizó la crioprotección del tejido y se obtuvieron cortes histológicos con ayuda de un criostato. Finalmente, los cortes el tejido fue procesado por medio de la técnica inmunohistoquímica.

3.1. Perfusiones

Después de las pruebas de estimulación, las ratas fueron anestesiadas con una dosis de pentobarbital sódico (40mg/kg) por vía intraperitoneal. La perfusión se comenzó al comprobar que el individuo hubiera alcanzado la inconciencia y no respondiera a la presión en la base de la cola o en las patas posteriores, lo que ocurría aproximadamente 10 minutos después de la inyección.

El procedimiento se llevó a cabo con un sistema de perfusión por gravedad. Se exponía el corazón del animal y se abría el ventrículo izquierdo, por donde se insertaba la cánula del sistema, introduciéndola hasta la aorta. Una vez que la cánula estaba bien colocada se realizaba una incisión en la aurícula derecha para que drenara la sangre y las soluciones de la perfusión. Primero se administraba solución limpiadora (NaCl al 0.9%) y después solución fijadora de paraformaldehído al 4% en buffer de fosfatos (PB) 0.1 M. y sacarosa. La solución salina se dejaba fluir hasta que el hígado, los ojos y las patas se blanqueaban (10 a 15 minutos), y la solución fijadora se dejaba fluir hasta que la columna vertebral se endurecía (10 a 15 minutos).

Inmediatamente después de la perfusión los cerebros fueron extraídos y colocados en la misma solución fijadora, durante 24 horas a 4°C.

3.2. Crioprotección

Pasadas las 24 horas en solución fijadora, los cerebros se colocaron en un tren de soluciones crioprotectoras de PB 0.1 M con sacarosa al 10%, 20% y 30%. Los cerebros permanecieron entre tres y cinco días en cada solución y se mantuvieron en refrigeración a 4°C.

3.3. Cortes

Los cortes histológicos se obtuvieron con ayuda de un criostato a -30°C. Los niveles de bregma se localizaron con la ayuda del atlas de Paxinos y Watson (1998). Los cortes se realizaron a un grosor de 40 micras y fueron colectados en multiplatos con PB 0.1 M y refrigerados a 4°C hasta el momento de la inmunohistoquímica.

Se obtuvieron cortes a diferentes niveles de Bregma. De acuerdo al atlas de Paxinos y Watson (1998): Bregma 1.60mm a 1.20mm, para observar el Shell y el Core del Nacc (*Figura 24A*); Bregma -0.26mm a -0.40mm, para observar el VP (*Figura 24B*); y Bregma -1.30mm a -1.60mm, para observar el PVN y el SON (*Figura 24C*).

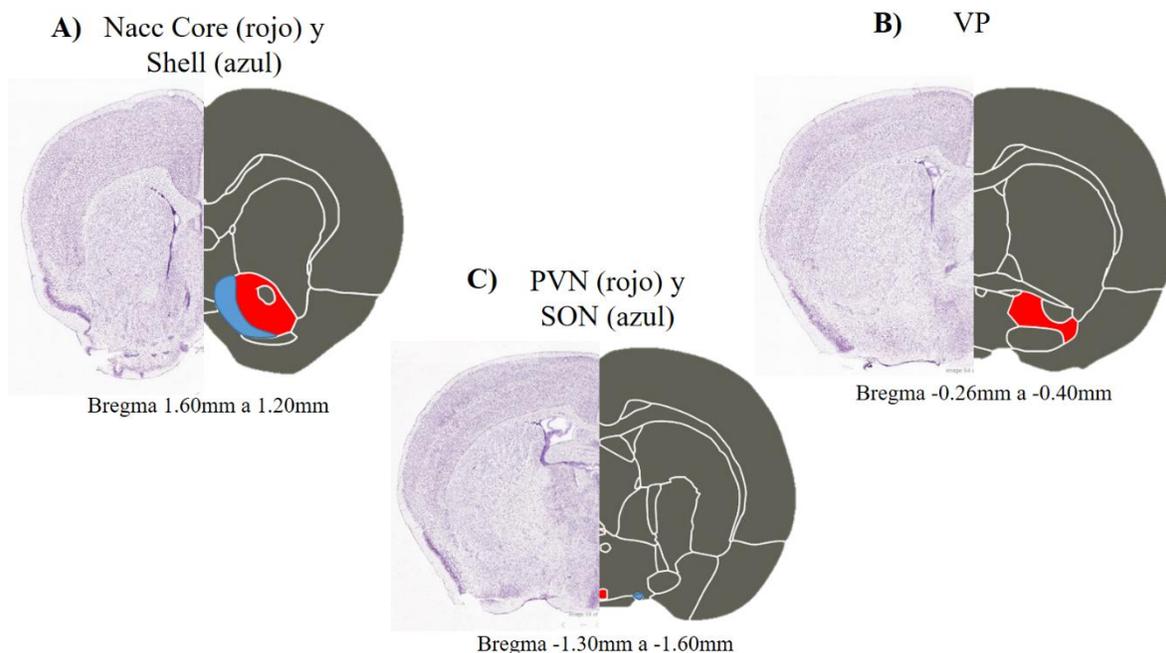


Figura 24. Imágenes de cortes cerebrales de rata que representan los niveles de Bregma utilizados en este trabajo. Los esquemas son tomados del “Scalable Brain Atlas” de Bakker *et al*, 2015. Las fotografías son cortes teñidos con el método de Nissl. A) Nacc Core y Nacc Shell marcados en rojo y azul respectivamente. B) VP marcado en rojo. C) PVN y SON marcados en rojo y azul respectivamente.

3.4. Inmunohistoquímica

La inmunohistoquímica se realizó en multiplatos, mediante el método para tejido cortado en congelación. Se escogieron los mejores cortes para el procedimiento.

Para comenzar el procedimiento, los cortes fueron tratados durante 10 minutos con solución de peróxido de hidrogeno al 3% diluido en PB 0.1M para inhibir las enzimas peroxidasa endógenas. Posteriormente se incubó durante 1 hora en solución de PB 0.1 M, Tris (0.3%) y suero de cabra (3%), para romper la membrana celular y bloquear reacciones no específicas. Después se incubó con la misma solución, mas anticuerpo primario policlonal para c-Fos, preparado en conejo (sc-52, Santacruz Biotechnology), a una concentración de (1:250), durante dos días.

Para la segunda parte se incubó el tejido en solución de PB 0.1M con Tris (0.3%) y anticuerpo secundario contra inmunoglobulina G de conejo, preparado en cabra y conjugado con biotina (sc-2040, Santa Cruz Biotechnology), a una concentración de (1:250), durante una hora. Después de la incubación con el anticuerpo secundario, se colocó la solución del complejo

Avidina-Biotina (avidina mas enzima peroxidasa conjugada con biotina) (PK-6100, Vectastain ABC kit, Vector Laboratories) de acuerdo a las instrucciones del fabricante y se dejó reposar durante una hora.

Para revelar el inmunomarcaje se colocó solución de 3, 3'-diaminobenzidina (0.06%), como cromógeno, en presencia de níquel (1%) y cobalto (1%), diluida en PB 0.1M, y se le agregó peróxido de hidrogeno (3%) como sustrato de la peroxidasa, durante 10 minutos.

Entre cada paso de incubación en reactivos se realizó una serie de lavados con PB 0.1 M.

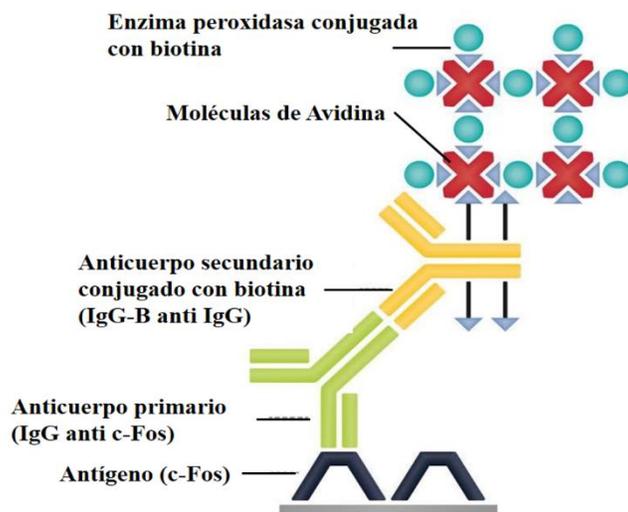


Figura 25. Interacciones moleculares durante la prueba inmunohistoquímica. Tomada de Taylor y Rudbeck, 2013.

3.5 Montaje

Los cortes se extendieron en portaobjetos gelatinizados y se dejaron secar durante 3 días. Después de secarlos, las muestras fueron tratadas en un tren de alcoholes a diferentes concentraciones (70%, 96% y 100%), para deshidratar y en xilol al 100% para aclarar el tejido. Finalmente se colocó la resina y el cubreobjetos para su montaje permanente.

4. Análisis histológico

Las áreas a analizar se observaron mediante un microscopio óptico; para ubicarlas se tomaron distintos tipos de referencias. La parte anterior de la comisura anterior (aca) y el ventrículo lateral (LV) fueron las referencias anatómicas para ubicar el NaccCore y en NaccShell en la cámara. Para contar las neuronas inmunoreactivas del Nacc Core se enfocó la parte superior del aca en las esquinas inferiores del campo visual (dependiendo del hemisferio) (Figura

26A), mientras que para el Nacc Shell se enfocó el punto más bajo de los ventrículos laterales en la parte superior del campo visual como referencia (*Figura 26B*).

La referencia anatómica para la ubicación del pálido ventral fue la parte posterior de la comisura anterior (acp) que se enfocó en las esquinas superiores del campo visual (dependiendo del hemisferio) (*Figura 26C*). Por ultimo para ubicar el PVN se enfocó como referencia la parte superior del tercer ventrículo (3V) en los laterales del campo visual (*Figura 26D*), y para ubicar el SON se enfocó en las esquinas inferiores el extremo del quiasma óptico (ox) (*Figura 26E*).

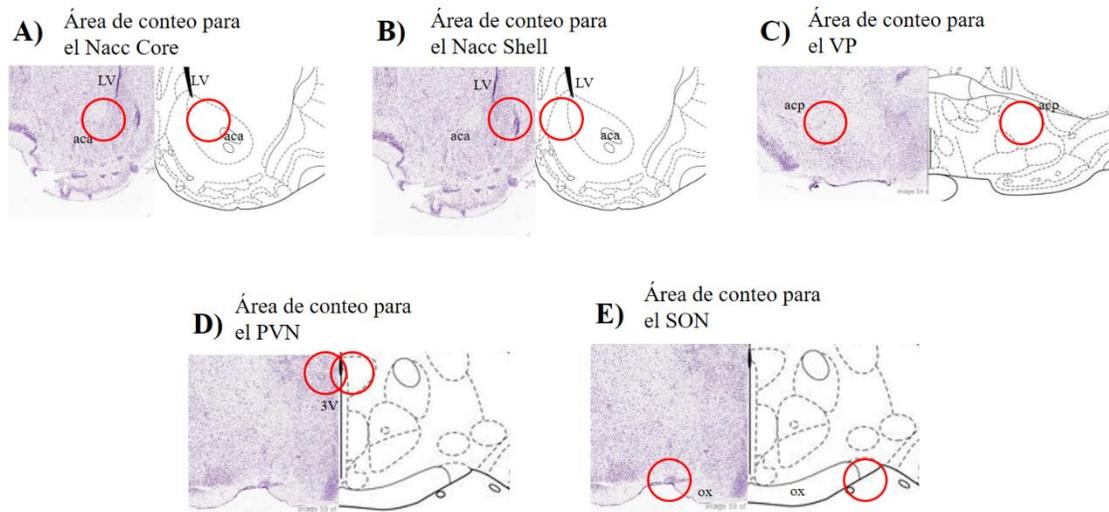


Figura 26. Referencias anatómicas que se usaron para la ubicación del área donde se contaron las neuronas inmunoreactivas del Nacc Core (A) y Nacc Shell (B); del VP (C); del PVN (D) y del SON (E). Parte anterior de la comisura anterior (aca), parte posterior de la comisura anterior (acp), ventrículo lateral (LV), tercer ventrículo (3V), quiasma óptico (ox). Esquemas tomados de Paxinos y Watson (1998).

Para el conteo se realizaron esquemas de cuadrículas con referencia al campo visual del objetivo de 40X donde se dibujaron las neuronas vistas después de ubicar el área (*Figura 27*). Luego de esquematizar el marcaje se hizo el conteo por cada corte en ambos hemisferios y se realizó la base de datos.

Método usado para el conteo de neuronas inmunoreactivas

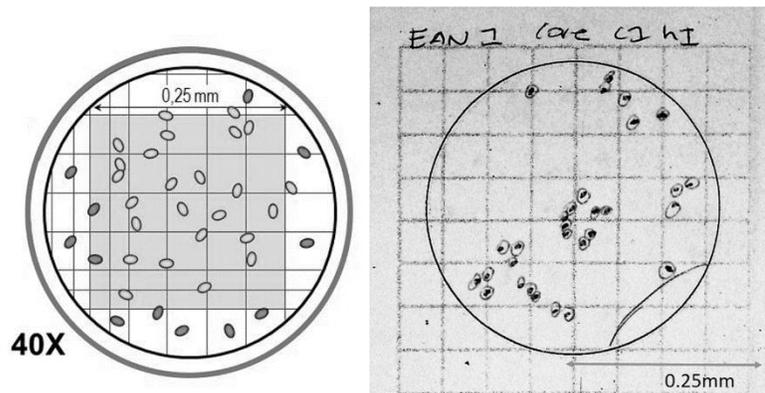


Figura 27: Esquema del campo visual del objetivo 40X que se utilizó para dibujar y contar las neuronas inmunoreactivas a c-Fos. A la izquierda se muestra un esquema de la cámara de Neubauer a la derecha, en una escala similar un ejemplo de los dibujos que se realizaron.

5.- Análisis estadístico

Por medio del análisis estadístico se buscaron diferencias significativas en el número de neuronas inmunoreactivas a c-Fos comparando cada área cerebral antes mencionada, entre los cuatro grupos experimentales. Los paquetes que se usaron fueron Statgraphics Centurion XVII, y Excel de Microsoft Office

Mediante Statgraphics se realizó la transformación de los datos por el método Box-Cox y la prueba de Shapiro-Wilk (α 0.05) para corroborar la distribución paramétrica de los mismos. A continuación, se realizó, por cada área analizada, una prueba de ANOVA de una vía con valor de α de 0.05 y una prueba post hoc de Tukey con valor de α de 0.05.

Resultados

1. Prueba de normalidad de datos

Después de transformar los datos por el método Box-Cox, se aplicó la prueba de normalidad de datos de Shapiro-Wilk para las muestras de cada área (PVN, SON, Nacc Core y Nacc Shell), y se comprobó que tuvieran una distribución paramétrica con un valor de α de 0.05.

2. Inmunoreactividad de c-Fos en el Hipotálamo

2.1. PVN

La prueba de ANOVA arrojó un valor de p de 0, por lo cual se puede aceptar, que las diferencias significativas en el número de neuronas inmunoreactivas a c-Fos en al menos uno de los cuatro grupos estudiados. Con ayuda de la prueba de Tukey, se corroboró que el grupo ESN presenta diferencias significativas en comparación con los tres grupos restantes (SE, EAN y ESF). Los grupos EAN y ESF no presentan diferencias entre sí ni en comparación con el grupo control SE (Figuras 28-29).

Dados estos resultados podemos asumir que, en el PVN, aumenta la producción de c-Fos únicamente durante la exposición a estímulos sociales de carácter novedoso.

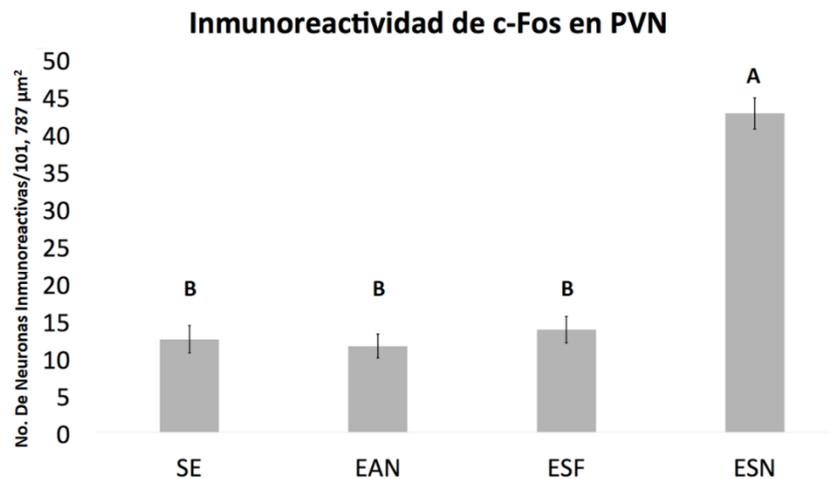


Figura 28: Gráfica de medias +/- el error estandar del número de neuronas inmunoreactivas a c-Fos en el PVN. En el eje de las X se muestran los cuatro tipos de estimulación a los que fueron expuestas las ratas, y en el eje de las Y el promedio de número de neuronas inmunoreactivas por área

(101, 787 μm^2). Se encontraron diferencias significativas en el grupo expuesto a novedad social ESN (A), en comparación con los tres grupos restantes, EAN, ESF y SE, entre los cuales no se encontraron diferencias (B).

Inmunoreactividad de c-Fos en PVN

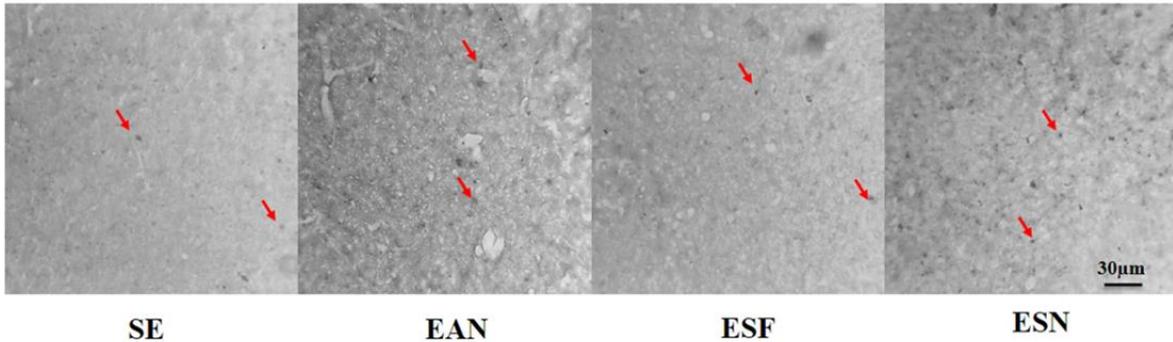


Figura 29: Fotografías representativas de la inmunoreactividad a c-Fos observada en el PVN en cada grupo. En el grupo ESN se pueden observar un mayor número de marcas. La barra representa 30µm para todas las imágenes. Las flechas rojas indican algunas marcas inmunoreactivas.

2.2. SON

El valor de p para la prueba de ANOVA en el análisis del SON fue de 0.0008. Los grupos EAN, ESF y ESN tuvieron un número de neuronas inmunoreactivas significativamente mayor al grupo control SE. Sin embargo, ninguno de estos tres grupos presentó diferencias significativas entre sí (Figura 30-31). Estos datos sugieren que, en el SON, el incremento en la expresión de c-Fos se observa ante estímulos sociales tanto novedosos como familiares y además también ante la novedad social, sugiriendo que su actividad no depende específicamente de la socialización.

Inmunoreactividad de c-Fos en SON

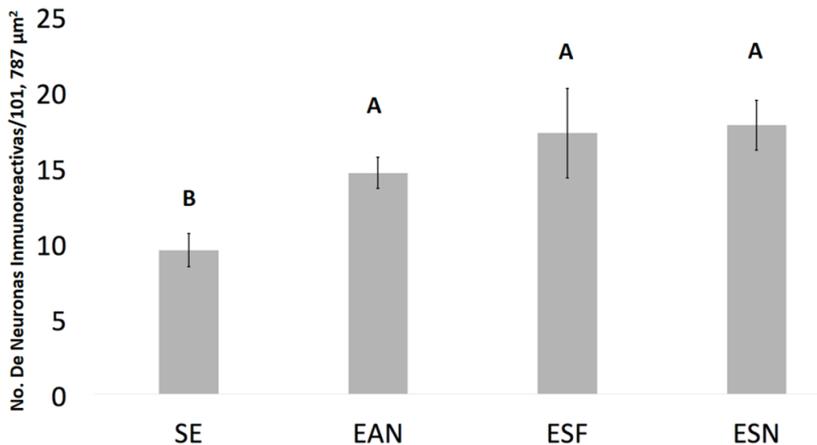


Figura 30: Gráfica de medias +/- el error estándar en el número de neuronas inmunoreactivas a c-Fos en el SON. En el eje de las X se muestran los cuatro tipos de estimulación a los que fueron expuestas las ratas y en el eje de las Y el promedio de número de neuronas inmunoreactivas por área (101,787 µm²). Se

encontraron diferencias significativas en los grupos EAN, ESF y ESN (A), en comparación con el grupo control SE (B).

Inmunoreactividad de c-Fos en SON

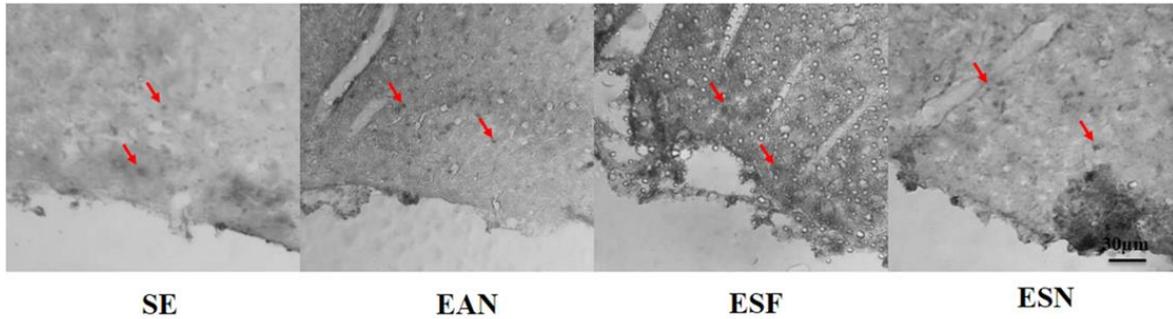


Figura 31: Fotografías representativas de la inmunoreactividad a c-Fos observada en el SON de cada grupo. Se puede observar un mayor marcaje en los grupos EAN, ESF y ESN en comparación con el grupo SE. La barra representa 30µm para todas las imágenes. Las flechas rojas indican algunas marcas inmunoreactivas.

3. Inmunoreactividad de c-Fos en el Sistema de recompensa

3.1 Nacc Core

En el análisis del Nacc Core, la prueba de ANOVA arrojó un valor de p de 0, por lo cual se asume que las diferencias observadas son 100% confiables. Se encontró que los tres grupos con estimulación, ESF, EAN y ESN, tuvieron diferencias significativas en comparación al grupo SE. Sin embargo, el grupo ESN fue en el que se encontró el mayor número de neuronas inmunoreactivas (Figura 32-33).

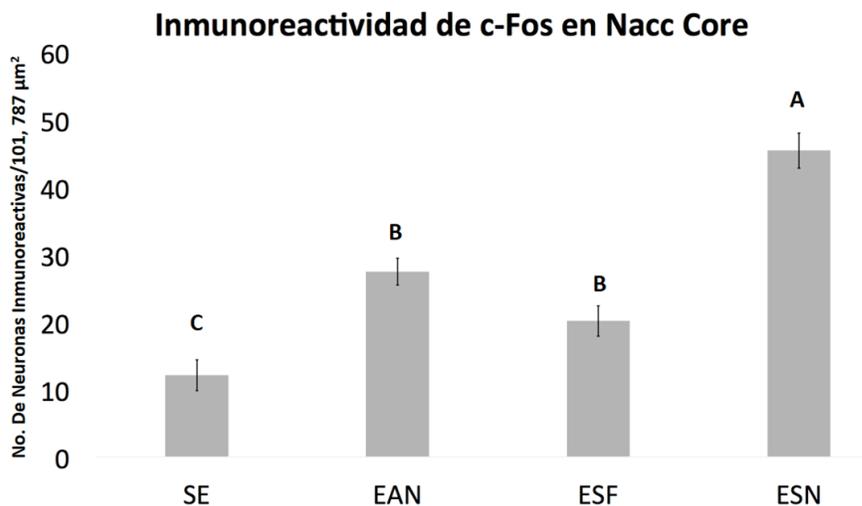


Figura 32: Gráfica de medias +/- el error estandar en el número de neuronas inmunoreactivas a c-Fos en el Nacc Core. En el eje de las X se muestran los cuatro tipos de estimulación a los que fueron expuestas las ratas y en el eje de las Y el promedio de número de neuronas inmunoreactivas por área (101,787 µm²).

Los grupos EAN, ESF y ESN (A y B) son significativamente diferentes al grupo control SE (C), sin embargo, el grupo ESN (A) también presenta diferencias en comparación a los grupos EAN y ESF (B).

Inmunoreactividad de c-Fos en Nacc Core

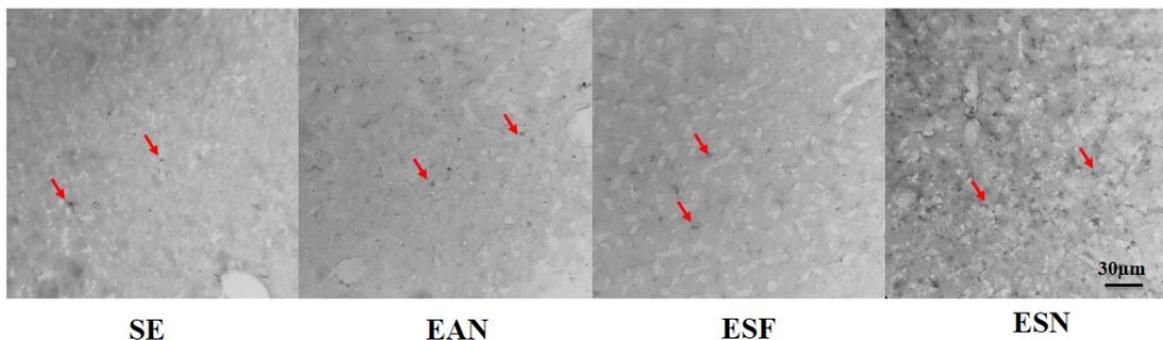


Figura 33: Fotografías representativas de la inmunoreactividad a c-Fos observada en el Nacc Core de cada grupo. Todos los grupos presentaron mayor número de neuronas inmunoreactivas en comparación con el grupo SE, pero el mayor número de neuronas se observa en el grupo ESN. La barra representa 30µm para todas las imágenes. Las flechas rojas indican algunas marcas inmunoreactivas.

3.2 Nacc Shell

En cuando al Nacc Shell los resultados fueron similares a los observados en Nacc Core. El valor de p en la prueba de ANOVA fue de 0. Se observaron diferencias significativas entre EAN, ESF y ESN en comparación con SE, y entre ESN en comparación con EAN y ESF. Entre el grupo EAN y el grupo ESF no se encontraron diferencias significativas (Figuras 34-35).

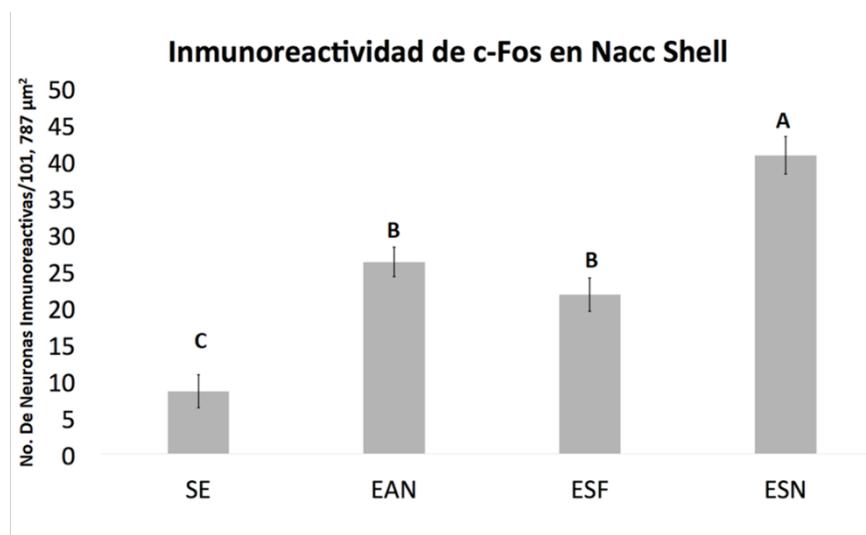


Figura 34: Gráfica de medias +/- el error estandar en el número de neuronas inmunoreactivas a c-Fos en el Nacc Shell. En el eje de las X se muestran los cuatro tipos de estimulación a los que fueron expuestas las ratas y en el eje de las Y el promedio de número de neuronas inmunoreactivas

por área (101, 787 µm²). Los grupos EAN, ESF y ESN (A y B) son significativamente diferentes al grupo control SE (C), sin embargo, el grupo ESN (A) también presenta diferencias en comparación a los grupos EAN y ESF (B).

Inmunoreactividad de c-Fos en Nacc Shell

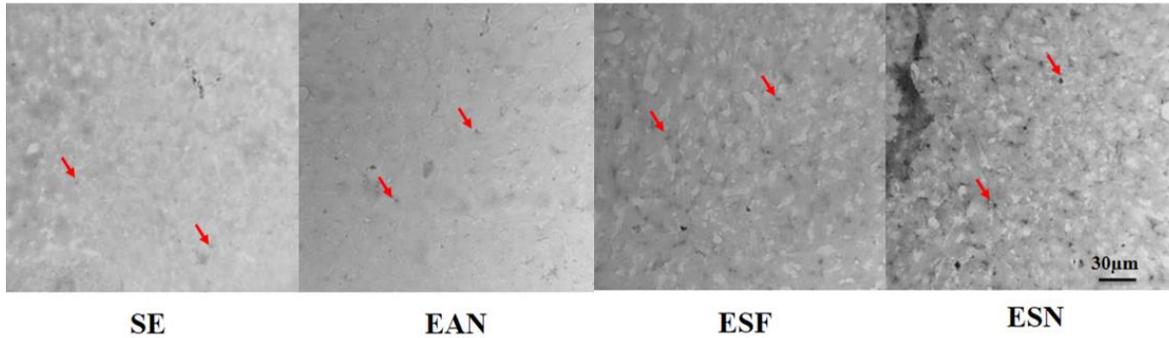


Figura 35: Fotografías representativas de la inmunoreactividad a c-Fos observada en el Nacc Shell de cada grupo. Los grupos EAN, ESF y ESN presentaron mayor número de neuronas inmunoreactivas en comparación con el grupo SE. El mayor número de neuronas se observa en el grupo ESN. La barra representa 30µm para todas las imágenes. Las flechas rojas indican algunas marcas inmunoreactivas.

3.3 VP

El valor de p para la prueba de ANOVA en el análisis del VP fue de 0, por lo cual las diferencias encontradas son 100% confiables. Con la prueba de Tukey, únicamente se encontraron diferencias significativas en el grupo ESN en comparación a los demás (Figura 36-37).

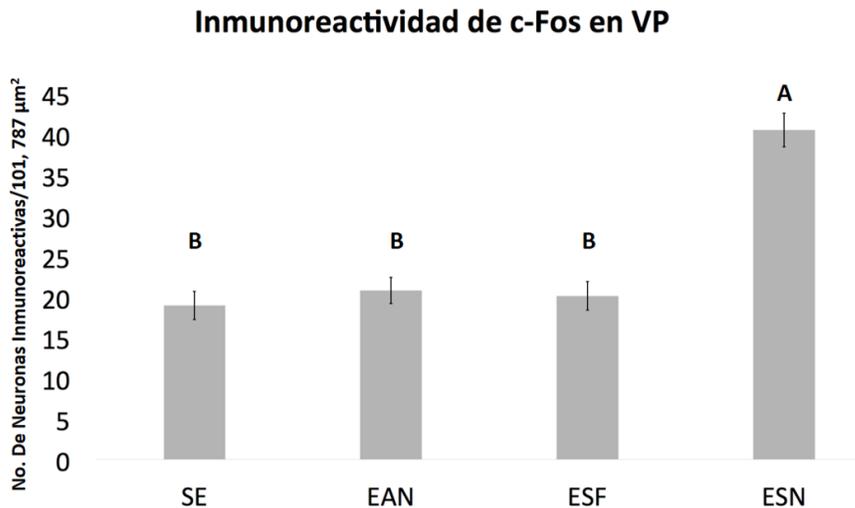


Figura 36: Gráfica de medias +/- el error estándar en el número de neuronas inmunoreactivas a c-Fos en el VP. En el eje de las X se muestran los cuatro tipos de estimulación a los que fueron expuestas las ratas y en el eje de las Y el promedio de número de neuronas inmunoreactivas por área (101,787 µm²).

El grupo ESN (A) fue el único en el que se observaron diferencias significativas en comparación con los demás grupos (B).

Inmunoreactividad de c-Fos en VP

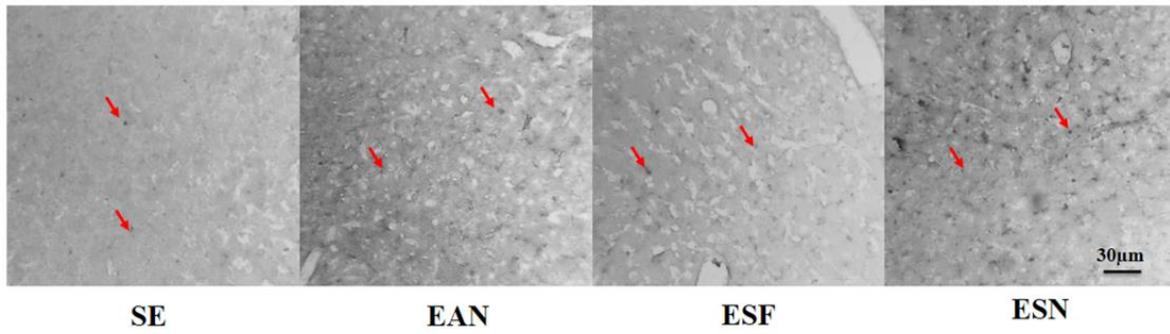


Figura 37: Fotografías representativas de la inmunoreactividad a c-Fos observada en el VP de cada grupo. El mayor número de neuronas se observa en el grupo ESN. La barra representa 30µm para todas las imágenes. Las flechas rojas indican algunas marcas inmunoreactivas.

1. Inmunoreactividad en el Hipotálamo

Las diferencias que se observaron en la inmunoreactividad de los núcleos del hipotálamo productores de oxitocina y vasopresina, sugieren que los estímulos sociales novedosos tienen un componente que afecta de manera específica al PVN, que, al parecer, únicamente incrementó su actividad, o producción de c-Fos, ante la exposición a estímulos sociales de carácter novedoso (*Figura 28*). Ya se ha reportado en varios trabajos que el PVN presenta actividad oxitocinérgica durante encuentros sociales novedosos y que la administración de oxitocina y vasopresina facilita la formación de memoria social, mientras que su inhibición la entorpece; además, en encuentros con sujetos familiares no se ha reportado incremento significativo de oxitocina, vasopresina o incluso dopamina (Goodson and Kabelik, 2009; Tops *et al.*, 2013).

Si la memoria es el componente clave que diferencia un estímulo social novedoso de uno familiar, es probable que en cuanto se produzca el reconocimiento de un sujeto familiar se inhiba la producción de vasopresina y oxitocina ya que no son necesarias para lidiar con un estímulo al cual ya se está acostumbrado. Otro mecanismo podría ser que el estrés provocado por la novedad social sea el desencadenante de la liberación de oxitocina y vasopresina lo que concuerda con los estudios que demuestran que el PVN y el SON tienen receptores adrenérgicos y que la oxitocina funciona como ansiolítico en situaciones sociales estresantes (Sawchenko y Swanson, 1982; Wotjak *et al.*, 1996).

Aunque el PVN demostró ser selectivo ante la novedad social, en el SON también se observó un incremento significativo de la inmunoreactividad ante la novedad ambiental (*Figura 30*), quizás la novedad ambiental también provoca la liberación de hormonas del estrés que activan este núcleo, sin embargo, se debe analizar el por qué este efecto no se observa también en el PVN. A diferencia del SON, cuyas conexiones hacia el sistema nervioso central son escasas y no están bien caracterizadas (Swanson y Sawchenko, 1980), el PVN es ampliamente estudiado por el papel que juega dentro del circuito social, y porque envía y recibe amplias conexiones de diversas partes del cerebro (Sofroniew, 1980), incluyendo áreas que ayudan a procesar los estímulos sociales y áreas del sistema de recompensa.

2. Inmunoreactividad en el sistema de recompensa

El patrón de expresión de c-Fos ante los diferentes contextos socio-ambientales fueron similares en el Nacc Core y en el Nacc Shell. Tanto en el Core como en el Shell la mayor inmunoreactividad se presentó después de la exposición a novedad social, aunque la exposición a familiaridad social y a novedad ambiental también provocaron un incremento de la producción de c-Fos en comparación al grupo que no fue expuesto a ningún tipo de estímulo (*Figuras 32 y 34*). Dado que este núcleo está asociado al procesamiento de las recompensas, y en especial la actividad del Nacc Shell se asocia al incremento de las respuestas afectivas positivas o del “liking” (Berridge *et al.*, 2009), los resultados sugieren que existe un valor recompensante en los tres tipos de estímulos a los que fueron expuestas las ratas, pero, al parecer, el estímulo al que se le asigna el mayor valor recompensante, es la novedad social, sugerencia que concuerda con diversos estudios que demuestran la preferencia por la novedad social por medio de las prueba de preferencia de lugar condicionada (Moy *et al.*, 2004; Peartree *et al.*, 2012).

Generalmente cuando se habla de actividad en el Nacc se relaciona con la dopamina, ya que la mayoría de conexiones que recibe provienen del VTA. La liberación de dopamina en el Nacc Core y Shell depende de las características recompensantes de los estímulos; en el Nacc Core se ha observado incremento de la dopamina extracelular cuando las ratas son expuestas a estímulos novedosos o familiares y cuando son expuestas a estímulos apetitivos y aversivos, mientras que en el Nacc Shell solamente se ha observado el incremento de dopamina cuando los estímulos son apetitivos y novedosos (Bassareo *et al.*, 2002; De Leonibus *et al.*, 2006). De acuerdo a esta información si la producción de c-Fos observada fue debida únicamente a actividad dopaminérgica hubiéramos esperado la misma inmunoreactividad ante la novedad social que ante la novedad ambiental en el Shell, mientras que en el Core se hubiera esperado la misma inmunoreactividad en los tres tipos de estímulos, ya que es un núcleo cuya actividad no discierne entre lo novedoso y lo familiar. No obstante, los resultados demostraron que la novedad social provoca mayor producción de c-Fos que los demás estímulos.

En otros estudios se ha demostrado el incremento de la producción de c-Fos ante estímulos apetitivos (agua azucarada, chocolate, o agua salada cuando se tiene una dieta depleta en sodio) provocada por la liberación de opioides y endocannabinoides en el Nacc y en el VP, además se ha visto que el incremento de la producción de c-Fos es directamente proporcional

a la intensidad de las reacciones afectivas faciales. Pero, ¿Qué puede estar ocurriendo con la novedad social, que vuelve más sensible al Nacc? El PVN envía axones a varias áreas en el sistema de recompensa, entre ellas, el VTA y el Nacc, los cuales tienen receptores a oxitocina (Love, 2014). No se puede asegurar, con los resultados de este experimento que el PVN haya liberado oxitocina y vasopresina, en lugar de otras hormonas, pero se puede sugerir de acuerdo a la información recolectada que es posible que el incremento de c-Fos ante la novedad social, en Nacc, se deba a una mayor actividad dopaminérgica provocada en el VTA por la oxitocina liberada por el PVN, o también a la liberación de oxitocina directamente sobre el Nacc.

Por otra parte, el VP es un área que al igual que el Nacc está relacionada con el valor hedónico de los estímulos, y se ha comprobado que el incremento en la producción de c-Fos corresponde al incremento del valor hedónico (Smith *et al.*, 2009), sin embargo, en esta área, en contraste con el Nacc, no se observaron incrementos en la inmunoreactividad en los grupos expuestos a familiaridad social y a novedad ambiental (*Figur 36*), aunque se reconoce que estos dos estímulos sí son recompensantes para los roedores. La explicación podría recaer en el hecho de que cuando el Nacc es estimulado por dopamina, libera GABA sobre el VTA y el VP (Love, 2014), de manera que posiblemente la exposición a novedad ambiental y a familiaridad social, a la vez que provocan la liberación de dopamina por parte del VTA también provocan la liberación de GABA sobre el VP.

Se conoce que el VP es un área rica en receptores a vasopresina y en menor medida a oxitocina (Loup *et al.*, 1991; Lim *et al.*, 2004), por lo que se sugiere que la observación del incremento de la expresión de c-Fos en el VP, después de la exposición a novedad social, puede haber tenido un efecto similar al que se sugiere que ocurrió en el Nacc, es decir, la liberación directa de vasopresina y quizá oxitocina sobre el VP debieron ser la causa del incremento en la expresión de c-Fos. De esta manera, la oxitocina y la vasopresina, al igual que los opioides, los cannabinoides y la dopamina, podrían jugar un papel importante en el procesamiento de estímulos con valor hedónico, en específico, los estímulos sociales.

3. Relevancia de la novedad social en los ambientes enriquecidos

Se sabe que los ambientes enriquecidos físicamente, y no socialmente tienen un efecto sobre la ganancia de peso en ratas macho en desarrollo ya que en ambientes con muchos objetos

incrementan su motricidad y les es más difícil ganar peso (Zaias *et al.*, 2008), por otra parte, se ha demostrado que el enriquecimiento social mejora el aprendizaje en mayor medida que el enriquecimiento físico, y en los dos casos los efectos son más intensos en machos que en hembras (Elliott y Grumberg, 2005), sin embargo, hasta ahora no se han hecho trabajos que muestren las diferencias que los dos tipos de ambiente causan a nivel químico y molecular en el cerebro, sobre todo en el sistema de recompensa, un circuito que es fácilmente estimulado por los cambios en el ambiente.

Los cambios cerebrales provocados por los ambientes enriquecidos se han relacionado a la protección ante el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas y adicciones (Laviola, *et al.*, 2008; Solinas *et al.*, 2009; Venebra-Muñoz *et al.*, 2011; Renoir *et al.*, 2013). En lo que respecta a la socialización se ha observado que los estímulos sociales apetitivos (no sexuales) pueden cambiar las preferencias de las ratas por las drogas de abuso y las actividades relacionadas a su consumo, y que estos cambios están relacionados a la actividad de la corteza prefrontal y el núcleo accumbens (Rawas *et al.*, 2012; Zernig *et al.*, 2013). En una revisión más reciente (Tops *et al.*, 2013) se habla de cómo los procesos cerebrales que se dan durante las afiliaciones sociales (la transición de la novedad a la familiaridad social), incrementan la habilidad de controlar el comportamiento y las emociones, y generan una mayor resistencia ante el estrés y las adicciones.

Los resultados obtenidos pueden aportar información relevante sobre la importancia que puede llegar a tener la socialización dentro de los ambientes enriquecidos, en especial, cuando se observan áreas asociadas a la motivación.

Aunque la actividad cerebral, en este trabajo, no se analizó en tiempo real, la detección de la proteína c-Fos es una herramienta confiable que nos permite buscar en que sitios hubo actividad reciente. Los resultados más contundentes mostraron que la novedad social provoca, por una parte, actividad en áreas del sistema de recompensa asociadas a la motivación y a la evaluación de estímulos placenteros, y, por otra parte, actividad en núcleos productores de hormonas pro-sociales. Ya que estas áreas están interconectadas y forman parte del llamado “circuito social”, se sugiere que la actividad en el PVN es la causante de que el Nacc y el VP se vuelvan más sensibles ante los estímulos sociales novedosos.

Conclusiones

Se observó que la producción de c-Fos en el sistema de recompensa y en el PVN del hipotálamo incrementa de manera significativa ante estímulos sociales novedosos en comparación a estímulos sociales familiares y a estímulos ambientales novedosos de carácter físico.

Esto sugiere que la novedad social es altamente recompensante para las ratas jóvenes, y que el valor hedónico que se le asigna es posiblemente influenciado por la actividad oxitocinérgica y vasopresinérgica del PVN, y no solamente por la actividad dopaminérgica.

Los resultados coinciden con las observaciones del incremento de la socialización en ratas jóvenes y con lo importante que es la socialización en etapas tempranas, por lo que es posible diseñar métodos experimentales que convinen la estimulación social novedosa con los ambientes enriquecidos para analizar efectos a largo plazo en el sistema de recompensa.

Referencias

Acher R, Chauvet J y Chauvet MT. 1994. *Man and the chimaera: selective versus neutral oxytocin evolution*. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 395: 615-627.

Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K y Walter P. 2008. *Membrane transport of small molecules and the electrical properties of membranes*, en: *Molecular Biology of the Cell*. Garland Science. Estados Unidos. 5° ed.

Bakker R, Tiesinga P y Köter R. 2015. *The Scalable Brain Atlas: instant web-based access to public brain atlases and related content*. *Neuroinformatics*: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs12021-014-9258-x>.

Bales LK, Boone E, Epperson P, Hoffman G y Carter CS. 2011. *Are behavioral effects of early experience mediated by oxytocin?*. *Frontiers in Psychiatric*. 2 (24): 1-12.

Barros VN, Mundim M, Galindo LT, Bittencourt S, Porcionatto M y Mello LE. 2015. *The pattern of c-Fos expression and its refractory period in the brain of rats and monkeys*. *Frontiers in Cellulaar Neuroscience*. 9 (72): 1-8.

Bassareo B, De Luca MA y Di Chiara G. 2002. *Differential expression of motivational stimulus properties by dopamine in nucleus accumbens shell versus core and prefrontal cortex*. *The Journal of Neuroscience*. 22 (11): 4709-4719.

Berridge KC. 2004. *Motivation concept on behavioral neuroscience*. *Physiology and Behavior*. 81: 179-209.

Berridge KC, Robinson TE, Aldrige JW. 2009. *Dissecting components of reward: “liking”, “wanting” and learning*. *Current Opinion in Pharmacology*. 9: 65-73.

Bielsky IF, Hu SB, Szegda KL, Westphal H y Young LJ. 2004. *Profound impairment in social recognition and reduction in anxiety-like behavior in vasopressin V1a receptor knockout mice*. *Neuropsychopharmacology*. 29: 483-493.

Bielsky IF y Young LJ. 2004. *Oxytocin, vasopressin and social recognition in mammals*. *Peptides*. 25: 1565-1574.

Bono M y Bargmann CI. 1998. *Natural variation in a neuropeptide Y receptor homolog modifies social behavior and food response in C. elegans*. Cell. 94: 679-689.

Buijs RM, De Vries GJ y Van Leeuwen FW. 1985. *The distribution and synaptic release of oxytocin in the central nervous system. Oxytocin: Clinical and Laboratory Studies*. Editado por Amico JA y Robison AG. Amsterdam. Excerpta Medica. 77-86.

Buijs RM, Geffard M, Pool CW y Hoornman MD. 1984. *The dopaminergic innervation of the supraoptic and paraventricular nucleus. A light and electron microscopical study*. Brain Research. 323: 65-72.

Buisman-Pijlman FTA, Sumracki NM, Gordon JJ, Hull PR, Carter CS y Tops M. 2014. *Individual differences underlying susceptibility to addiction: role for the endogenous oxytocin system*. Pharmacology, Biochemistry and Behavior. 119: 22-38.

Burford GD, Dyball REJ, Moss RL y Pickering BT. 1974. *Synthesis of both neurohypophysial hormones in both the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat*. Journal of Anatomy. 117 (2): 261-269.

Calcagnetti DJ y Schechter MD. 1992. *Place conditioning reveals the rewarding aspect of social interaction in juvenile rats*. Physiology and Behavior. 57: 667-672.

Carter M y Shieh J. 2010. *Animal Behavior*, en: Guide to Research Techniques in Neuroscience. Academic Press. Canada.

Champagne FA, Francis DD, Mar A, Meany MJ. 2003. *Variations in maternal care in the rat as a mediating influence for the effects of environment of development*. Physiology and Behavior. 79: 359-371.

Chefer VI, Thompson AC, Zapata A, Shippenberg TS. 2009. *Overview of brain microdialysis*. Current Protocols in Neuroscience. Unidad 7.1.

Chiu R, Boyle WJ, Meek J, Smeal T, Hunter T y Karin M. 1988. *The c-Fos protein interacts with c-Jun/AP-1 to stimulate transcription of AP1 responsive genes*. Cell. 54: 541-552.

Committee for the update of the guide for the care and use of laboratory animals. 2011. *Environment, housing and management*, en: Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. The National Academic Press. Washington DC. 8°ed.

Cruz Becerra D. 2003. *Efecto de la privación social en la agresión y la ansiedad de ratas macho Wistar*. Acta colombiana de psicología. 9: 39-49.

De Leonibus E, Verheij MMM, Mele A y Cools A. 2006. *Distinct kinds of novelty processing differentially increase extracellular dopamine in different brain regions*. European Journal of Neuroscience. 23: 1332-1340.

Di Chiara G y Bassareo V. 2007. *Reward system and addiction: what dopamine does and doesn't do*. Current Opinion in Pharmacology. 7: 69-76.

Donaldson ZR y Young LJ. 2008. *Oxytocin, vasopressin and the neurogenetics of sociality*. Science. 322: 900-904.

Douglas LA, Varlinskaya EI y Spear LP. 2004. *Rewarding properties of social interaction in adolescent and adult male and female rats: impact of social versus isolate housing of subjects and partners*. Developmental psychobiology. 45 (3): 153-162.

Dulac C y Torello AT. 2003. *Molecular detection of pheromone signals in mammals: from genes to behavior*. Nature Reviews Neuroscience. 4: 551-562.

Elliot BM, Grunber NE. 2005. *Effects of social and physical enrichment on open field activity differ in male and female sprague-dawley rats*. Behavioral Brain Research. 165: 187-196.

Engelmann M, Ebner K, Wotjak CT y Landgraf R. 1998. *Endogenous oxytocin is involved in short-term olfactory memory in female rats*. Behavioral Brain Research. 90: 89-94.

Ferguson JN, Matthew A, Insel TR y Young LJ. 2001. *Oxytocin in the medial amygdala is essential for social recognition in the mouse*. The journal of Neuroscience. 21 (20): 8278-8285.

Ferguson JN, Young LJ, Hearn EF, Matzuk MM, Insel TR y Winslow JT. 2000. *Social amnesia in mice lacking the oxytocin gene*. Nature Genetics. 25: 284-289.

Ferguson JN, Young LJ e Insel TR. 2002. *The neuroendocrine basis of social recognition*. *Frontiers in Neuroendocrinology*. 23: 200-224.

Ferris CF, Kulkarni P, Sullivan Jr JM, Harder JA, Messinger TL y Febo M. 2005. *Pup suckling is mor rewarding that cocaine: evidence from functional magnetic resonance imaging and three-dimentional computational analysis*. *The Journal of Neuroscience*. 25: 149-156.

Gage GJ, Kipke DR, Shain W. 2012. *Whole animal perfusion fixation for rodents*. *Journal of Visualized experiments*. 65: e3564: <http://www.jove.com/video/3564/whole-animal-perfusion-fixation-for-rodents>.

Gangarossa G, Espallergues J, d'Exaerde AK, Mestikawy SE, Gerfen CR, Hervé D, Girault JA y Valjent E. 2013. *Distribution and compartmental organization of GABAergic médium-size spiny neurons in the mouse nucleus accumbens*. *Frontiers in Neural Circuits*. 7 (22): 1-20.

Gimpl G, Fahrenholz F. 2001. *The oxytocin receptor system: structure, function and regulation*. *Physiological Reviews*. 81 (2): 629-668.

Goodson JL y Kabelik D. 2009. *Dynamic limbic networks and social diversity in vertebrates: from neural context to neuromodulatory patterning*. *Frontiers in Neuroendocrinology*. 30 (4): 429-441.

Gordon I, Martin C, Feldman R y Leckman JF. 2011. *Oxytocin and social motivation*. *Developmental Cognitive Neuroscience*. 1: 471-493.

Gravati M, Busnelli M, Bulgheroni E, Reversi A, Spaiardi P, Parenti M, Toselli M y Chini B. 2010. *Dual modulation of inward rectifier potassium currents in ofactory neuronal cells by promiscuous G protein coupling of the oxytocin reeptor*. *Journal of Neurochemistry*. 114. 1424-1435.

Groenewegen HJ y Russchen FT. 1984. *Organization of the efferent projections of the nucleus accumbens to pallidal, hypotalamic and mesencephalic structures: a tracing and immunohistochemical study in the cat*. *The Journal of Comparative Neurology*. 223: 347-367.

Haber SN y Knutson B. 2010. *The reward circuit: linking primate anatomy and human imaging*. Neuropsychopharmacology. 35: 4-26.

Heimer L, Alheid GF, Olmos JS, Groenewegen HJ, Haber SN, Harlan RE y Zham DS. 1997. *The accumbens: beyond the core-shell dicotomy*. Journal of Neuropsychiatry. 9 (3): 359-381.

Hock K, Loon Ng K y Fefferman NH. 2010. *Systems approach to studying animal sociality: individual position versus group organization in dynamic social network models*. PLoS ONE. 5 (12): e15789.

Hoffman GE, Smith MS y Verbalis JG. 1993. *C-Fos and related immediate early gene products as markers of activity in neuroendocrine systems*. Frontiers in Neuroendocrinology. 14 (3): 173-213.

Hou-Yu A, Lamme AT, Zimmerman EA y Silverman AJ. 1986. *Comparative distribution of vasopressin and oxytocin neurons in the rat brain using a double-label procedure*. Neuroendocrinology. 44: 235-246.

Humphreys AP y Einon DF. 1981. *Play as a reinforcer for maze-learning in juvenile rats*. Animal Behavior. 29: 259-270.

Insel TR. 1997. *A neurobiological basis of social attachment*. American Journal of Psychiatry. 154: 726-735.

Insel TR. 2010. *The Challenge of translation in social neuroscience: a review of oxytocin, vasopressin and affiliative behavior*. Neuron. 65: 768-779.

Insel TR y Fernald RD. 2004. *How the brain processes social information: searching for the social brain*. Annual Review on Neuroscience. 27: 697-722.

Insel TR y Hulihan TJ. 1995. *A gender-specific mechanism for pair bonding: oxytocin and partner preference formation in monogamous voles*. Behavioral Neuroscience. 109 (4): 782-789.

Insel TR, Wang ZX, Ferris CF. 1994. *Patterns of brain vasopressin receptor distribution associated with social organization in microtine rodents*. The Journal of Neuroscience. 14 (9): 5381-5392.

Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM, Siegelbaum SA y Hudspeth AJ. 2013. *Genes and behavior*, en: Principles of Neural Science. McGraw hill Medical. Estados Unidos. 5°ed.

Karin M, Liu Z y Zandi E. 1997. *AP-1 function and regulation*. *Current Opinion in Cell Biology*. 9 (2) 240-246.

Kelley AE, Berridge KC. 2002. *The neuroscience of natural rewards: relevance to addictive drugs*. *The Journal of Neuroscience*. 22 (9): 3306-3311.

Kikusui T, Yakeuchi E y Mori Y.1997. *Immunohistochemical localization of corticotropin-releasing factor [arginine⁸]-vasopressin and oxytocin neurons in the goat hypothalamus*. *Journal of Veterinary and Medical Science*. 59 (8): 621-628.

Kohono D, Nakata M, Maejima Y, Shimizu H, Sedbazar U, Yoshida N, Dezaki K, Onaka T, Mori M, y Yada T. 2007. *Nesfatin-1 neurons in paraventricular and supraoptic nuclei of the rat hypothalamus coexpress oxytocin and vasopressin and are activated by refeeding*. *Endocrinology*. 149 (3): 1295-1301.

Koob GF. 2013. *Addiction is a reward deficit and stress surfeit disorder*. *Frontiers in psychiatry*. 4 (72): 1-18.

Lanahan A, Worley P. (1998). *Immediate-early genes and synaptic function*. *Neurobiology of Learning and Memory*. 70: 37-43.

Laviola G, Hanna AJ, Macri S, Solinas M y Jaber M. (2008). *Effects of enriched environment on animal models of neurodegenerative diseases and psychiatric disorders*. *Neurobiology of Disease*. 31: 159-168.

Lee HJ, Macbeth AH, Pagani J y Young 3rd WS. 2009. *Oxytocin: the grat facilitator of life*. *Progress in Neurobiology*. 88 (2): 127-151.

Leung BK y Balleine BW. 2013. *The ventral striato-pallidal phatway mediates the effect of predictive learning on choice between goal-directed actions*. *Te Journal of Neuroscience*. 33 (34): 13848-13860.

- Lim MM, Murphi AZ, Young LJ. 2004. *Ventral Striatopallidal oxytocin and vasopressin V1a receptors in the monogamous prairie vole (Microtus ochrogaster)*. The Journal of Comparative Neurology. 468: 555-570.
- Lim MM y Young LJ. 2004. *Vasopressin dependent neural circuits underlying pair bond formation in the monogamous prairie vole*. Neuroscience 125: 35-45.
- Llinas RR. 1998. *The intrinsic electrophysiological properties of mammalian neurons: insights into central neurons system function*. Science. 242: 1654-1664.
- Lipari EF, Lipari D, Gerbino A, Liberto DD, Bellafiore M, Catalano M y Valentino B. 2001. *The hypothalamic magnocellular neurosecretory system in developing rats*. European Journal of Histochemistry. 45: 163-168.
- Liu Y, Wang ZX. 2003. *Nucleus accumbens oxytocin and dopamine interact to regulate pair-bond formation in female prairie voles*. Neuroscience. 121: 537-544.
- Loup F, Tribollet E, Dubois-Dauphin M y Dreifuss JJ. 1991. *Localization of high-affinity binding sites for oxytocin and vasopressin in the human brain. An autoradiographic study*. Brain Research. 555: 220-232.
- Love TM. 2014. *Oxytocin, motivation and the role of dopamine*. Pharmacology, Biochemistry and Behavior. 119: 49-60.
- Mahler SV, Smith KS y Berridge KC. 2007. *Endocannabinoid hedonic hotspot for sensory pleasure: anandamine in nucleus accumbens shell enhances "liking" of a sweet reward*. Neuropsychopharmacology. 32: 2267-2278.
- Manning A y Dawkins MS. 2012. *Social organization*, en: An Introduction to Animal Behavior. Cambridge University Press. 6^oed.
- McGraw LA y Young LJ. 2010. *The prairie vole: and emerging model organism for understanding the social brain*. Trends in Neuroscience. 33 (2): 103-109.
- Meaney MJ y Stewart J. 1981. *A descriptive study of social development in the rat (Rattus norvegicus)*. Animal Behavior. 29: 34-45.

- Moal ML, Dantzer R, Michaud B y Koob GF. 1987. *Centrally injected arginine vasopressin (AVP) facilitates social memory in rats*. Neuroscience letters. 77: 356-359.
- Morgan JI, Cohen DR, Hempstead JL, Curran T. 1987. *Mapping patterns of c-fos expression in the central nervous system after seizure*. Science. 237: 192-197.
- Morris JF. 1983. *Organization of neural inputs to the supraoptic and paraventricular nuclei: anatomical aspects*. Progress in Brain Research. 60: 3-19.
- Moy SS, Nadler JJ, Perez A, Barbaro RP, Johns JM, Magnuson TR, Piven J y Crawley JN. 2005. *Sociability and preference for social novelty in five inbred strains: an approach to assess autistic-like behavior in mice*. Genes, Brain and Behavior. 3: 287-302.
- Norma Oficial Mexicana. NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.
- O'Connell LA y Hofmann HA. 2011. *The Vertebrate mesolimbic reward system and social behavior network: a comparative synthesis*. The Journal of Comparative Neurology. 519: 3599-3639.
- Ophir AG, Gessel A, Zheng DJ y Phelps SM. 2012. *Oxytocin receptor density is associated with male mating tactics and social monogamy*. Hormones and Behavior. 61 (3): 445-453.
- Papp E, Borhegyi Z, Tomioka R, Rockland KS, Moody I y Freund TF. 2012. *Glutamatergic input from specific sources influences the nucleus accumbens-ventral pallidum information flow*. Brain, Structure and Function. 217: 37-48.
- Paxinos G y Watson C. 1998. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Academic Press. Estados Unidos. 4°ed.
- Peartree NA, Hood LE, Thiel KJ, Sanabria F, Pentkowsky NS, Chandler KN y Neisewander JL. 2012. *Limited physical contact through a mesh barrier is sufficient for social reward-conditioned place preference in adolescent male rats*. Physiology and behavior. 105 (3): 749-756.

Pitkow LJ, Sharer CA, Ren X, Insel TR, Terwilliger EF y Young LJ. 2001. *Facilitation of affiliation of pair-bond formation by vasopressin receptor gene transfer into the ventral forebrain of a monogamous vole*. The Journal of Neuroscience. 21 (18): 7392-7396.

Rawas RE, Klement S, Fritz M, Dechant G, Saria A y Zering G. 2012. *Brain Regions Associated with the acquisition of conditioned place preference for cocaine versus social interaction*. Frontiers in Behavioral Neuroscience. 6 (63): 1-15.

Renoir T, Pang TY y Hannan AJ. 2013. *Effects of environmental manipulations in genetically targeted animal models of affective disorders*. Neurobiology of disease. 57: 12-27.

Robbins TW y Everitt BJ. 1996. *Neurobehavioral mechanisms of reward and motivation*. Current Opinion in Neurobiology. 6: 228-236.

Ross HE, Freeman SM, Spiegel LL, Ren X, Terwilliger EF y Young LJ. 2009. *Variation in oxytocin receptor density in the nucleus accumbens has differential effects on affiliative behaviors in monogamous and polygamous voles*. The Journal of Neuroscience. 29 (5): 1312-1318.

Salamone JD y Correa M. 2012. *The mysterious motivational function of mesolimbic dopamine*. Neuron. 76: 470-485.

Sawchenko PE y Swanson LW. 1982. *The organization of noradrenergic pathways from the brainstem to the paraventricular and supraoptic nuclei in the rat*. Brain Research Reviews. 4: 275-325.

Sawchenko PE y Swanson LW. 1983. *The organization and biochemical specificity of afferent projections to the paraventricular and supraoptic nuclei*. Progress in Brain Research. 60: 19-28.

Sawchenko PE, Swanson LW y Vale WW. 1984. *Co-expression of corticotropin-releasing factor and vasopressin immunoreactivity in parvocellular neurosecretory neurons of the adrenalectomized rat*. Proceedings of the Natural Academy of Sciences. 81: 1883-1887.

Shahrokh DK, Zhang TY, Dioro J, Gratton A y Meany MJ. 2010. *Oxytocin dopamine interactions mediate variations in maternal behavior in the rat*. Endocrinology. 151: 2276-2286.

Sheng M, McFadden G y Greenberg ME. 1990. *Membrane depolarization and calcium induce c-fos transcription via phosphorylation of transcription factor CREB*. *Neuron*. 4: 571-582.

Slater PJB. 2005. *Social organization*, en: *Essentials of Animal Behavior*. Cambridge University Press. 4°ed.

Smith KS y Berridge KC. 2005. *The ventral pallidum and hedonic reward: Neurochemical maps of sucrose "Liking" and food intake*. *The Journal of Neuroscience*. 25 (38): 8637-8649.

Smith KS y Berridge KC. 2007. *Opioid limbic circuit for reward: interaction between hedonic hotspots of nucleus accumbens and ventral pallidum*. *The Journal of Neuroscience*. 27 (7): 1594-1605.

Smith KS, Tindell AJ, Aldridge JW y Berridge KC. 2009. *Ventral pallidum roles in reward and motivation*. *Behavioral Brain Research*. 23: 155-167.

Sofroniew MV. 1980. *Projections from vasopressin, oxytocin and neurophysin neurons to neural targets in the rat and human*. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 28 (5): 475-478.

Solinas M, Thiriet N, Rawas RE, Lardeux V y Jaber M. 2009. *Environmental enrichment during early stages of life reduces the behavioral, neurochemical and behavioral effects of cocaine*. *Neuropsychopharmacology*. 34: 1102-1111.

Spear LP. 2000. *The adolescent brain and age-related behavioral manifestations*. *Neuroscience and Behavioral Reviews*. 24: 417-463.

Stoop R. 2012. *Neuromodulation by oxytocin and vasopressin*. *Neuron*. 76: 142-159.

Swaab DF, Nijveldt F y Pool CW. 1975. *Distribution of oxytocin and vasopressin in the rat supraoptic and paraventricular nucleus*. *Journal of Endocrinology*. 67: 461-462.

Swanson LW. 1986. *Organization of mammalian neuroendocrine system*. *Comprehensive Physiology*. *Handbook of Physiology*. 4° ed.: 317-363.

Swanson LW y Sawchenko PE. 1980. *Paraventricular nucleus: a site for the integration of neuroendocrine and autonomic mechanisms*. *Neuroendocrinology*. 31: 40-417.

Taylor CR y Rudbeck L. 2013. *Avidin-biotin immunohistochemistry*, en: *Immunohistochemical Staining Methods*. Dako. 6° ed: 79.

Theodosios DT, Paut L y Tapazz ML. 1986. *Immunocytochemical analysis of the GABAergic innervation of oxytocin and vasopressin secreting neurons in the rat supraoptic nucleus*. *Neuroscience*. 19: 207-222.

Tidey JW y Miczek KA. 1996. *Social defeat stress selectively alters mesocorticolimbic dopamine release: an in vivo microdialysis study*. *Brain Research*. 721: 140-149.

Tindell AJ, Smith KS, Peciña S, Berridge KC, Aldrige JW. 2006. *Ventral pallidum firing codes hedonic reward: when a bad taste turns good*. *Journal of Neurophysiology*. 96: 2399-2409.

Todeschin AS, Winkelmann-Duarte EC, Jacob MHV, Aranda BCC, Jacobs S, Fernandes MC, Marques Ribeiro MF, Sanvitto GL y Lucion AB. 2009. *Effects of neonatal handling in social memory, social interaction, and number of oxytocin and vasopressin neurons in rats*. *Hormones and Behavior*. 56: 93-100.

Tops M, Huffmeijer R, Linting M, Grewen KM, Light KC, Koole SL, Bakemans-Kranenburg MJ y Ijzendoorn MHV. 2013. *The role of oxytocin in familiarization habituation responses to social novelty*. *Frontiers in Psychology*. 4 (761): 1-9.

Tops M, Koole SL, Ijzerman H, Buisman Pijlman FTA. 2013. *Why social attachment and oxytocin protect against addiction and stress: insights from the dynamics between ventral and dorsal corticostriatal systems*. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbb.2013.07.015>.

Trezza V, Campolongo P y Vanderschuren LJMJ. 2011. *Evaluating the rewarding nature of social interactions in laboratory animals*. *Developmental Cognitive Neuroscience*. 1: 444-458.

Vanderschuren LJMJ, Niesink RJM y Ree JMV. 1997. *The neurobiology of social play behavior in rats*. *Neuroscience and Behavioral Reviews*. 21 (3): 309-326.

- Van Loo PLP, Van de Weerd HA, Van Zutphen LFM y Baumans V. 2004. *Preference for social contact versus environmental enrichment in male laboratory mice*. *Laboratory Animals*. 38: 178-188.
- Varlinskaya EI, Spear LP y Spear NE. 1999. *Social behavior and social motivation in adolescent rats: role of housing condition and partner' activity*. *Physiology and Behavior*. 67 (4): 475-482.
- Venebra-Muñoz A, Corona-Morales A y García-García F. 2011. *Efecto del ambiente enriquecido sobre el consumo de nicotina en la rata Wistar*. *Universidad y Ciencia*. 27: 97-102.
- Verbalis JG, Stricker EM, Robinson AG y Hoffman GE. 1991. *Cholecystokinin activates c-Fos expression in hypothalamic oxytocin and corticotropin releasing hormone neurons*. *Journal of Neuroendocrinology*. 3 (2): 205-213.
- Volpicelli-Daley LA, Levey A. 2004. *Immunohistochemical localization of proteins in the nervous system*. *Current Protocols in Neuroscience*. 25. Unidad 2.1.
- Winslow JT e Insel TR. 2004. *Neuroendocrin basis of social recognition*. *Current Opinion in Neurobiology*. 14: 248-253.
- Wotjak CT, Cubota M, Liebsch G, Montkowski A, Holsboer F, Neumann I y Landgraf R. 1996. *Release of vasopressin between the rat paraventricular nucleus in response to emotional stress: a novel mechanism of regulating adrenocorticotrophic hormone secretion*. *The Journal of Neuroscience*. 16 (23): 7725-7732.
- Warin J-P. 1997. *Glutamate microstimulation of local inhibitory circuits in the supraoptic nucleus from rat hypothalamus slices*. *Journal of neurophysiology*. Vol. 78 (6): 3180-3186.
- Wu YL, Yoshida L, Emoto H y Tanaka M. 1999. *Psychological stress selectively increases extracellular dopamine in the "shell", but not in the "core" of the rat nucleus accumbens: a novel dual-needle probe simultaneous microdialysis study*. *Neuroscience Letters*. 275: 69-72.
- Xia Z, Dudek H, Miranti CK y Greenberg ME. 1996. *Calcium influx via the NMDA receptor induces immediate early gene transcription by MAP Kinase/ERK dependent mechanism*. *The Journal of Neuroscience*. 16 (17): 5425-5436.

Young LJ, Lim MM, Gingrich B e Insel TR. 2001. *Cellular mechanisms of social attachment*. *Hormones and Behavior*. 40: 133-138.

Young LJ y Wang Z. 2004. *The neurobiology of pair bonding*. *Nature Neuroscience*. 7 (10): 1048-154.

Zaias J, Queeney TJ, Kelley JB, Zakharova ES e Izenwasser S. (2008). *Social and physical environmental enrichment differentially affect growth and activity of preadolescent and adolescent male rat*. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Models*. 47 (2): 30-34.

Zernig G, Kummer KK y Prast JM. 2019. *Dyadic social interaction as an alternative reward to cocaine*. *Frontiers in Psychiatry*. 4 (100): 1-6.

Zham DS y Brog JS. 1992. *On the significance of subterritories in the "accumbens" part of the rat ventral striatum*. *Neuroscience*. 50 (4): 751-767.

Anexo 1: Índice de figuras

- Figura 1:** Vía convergente de la activación de CREB por influjo de calcio y producción de cAMP para activar la transcripción de genes de respuesta temprana inmediata como *c-fos*, a través de segundos mensajeros como CaM, CaMK, PKA y CREB.....8
- Figura 2:** A) Electroforesis de mRNA de *c-fos* a diferentes tiempos después de la despolarización neuronal. La mayor cantidad de mRNA se encuentra entre los 60 y 90 minutos. B) Porcentaje de la expresión de la proteína c-Fos en diferentes tiempos en tres áreas diferentes (CG: giro cingulafo, PC: corteza piriforme, MC: corteza motora) después de la inyección con pentilenetetrazol, un agente convulsionante (el nivel basal representa el 100%).....9
- Figura 3:** Interacción de la proteína c-Fos con la proteína c-Jun para unirse al elemento del promotor AP-1 y activar la transcripción genética.....10
- Figura 4:** En las imágenes A y C se pueden observar que los nematodos se encuentran dispersados durante el forrajeo, mientras que en las imágenes B y D los nematodos se encuentran en grupos. Lo que les confiere esta diferencia conductual en cuanto al agrupamiento es una mutación en el gen *npr-1*. La barra de escala representa 1mm en A y B, y 2.5 mm en C y D.....11
- Figura 5:** Regiones que componen el “circuito del comportamiento social”. A la derecha se muestran las regiones asociadas al reconocimiento social, a la izquierda las regiones asociadas a la motivación social y la toma de decisiones. En el centro se encuentran las áreas que sirven de puente y que juegan un papel tanto para el reconocimiento como para la motivación. Todo el circuito en conjunto promueve las afiliaciones sociales. POA: área preóptica, AH: hipotálamo anterior, VMH: hipotálamo ventromedial, PAG giro periacuaductal, CG giro central, LS septum lateral, BNST núcleo cama de la estría terminal, meAMY amígdala media, Str estriado, NAcc núcleo accumbens, VP pálido ventral, blAMY amígdala basolateral, HIP hipocampo, VTA área tegmental ventral.....14
- Figura 6:** Representación esquemática de los núcleos del hipotálamo vistos en el plano sagital (A) y coronal (B). Se resaltan el PVN y el SON.....16
- Figura 7:** Localización del PVN cerca del tercer ventrículo (3V) y divisiones de acuerdo a la dirección de sus proyecciones. P: neuronas parvocelulares; M: neuronas magnocelulares.....17
- Figura 8:** Ubicación y divisiones anatómicas del SON. Este núcleo se encuentra al lado de los nervios ópticos (NO) o quiasma óptico, paralelo al tercer ventrículo (3V).....18
- Figura 9:** Esquema sagital del cerebro de rata donde se muestran las áreas que poseen receptores a oxitocina y a vasopresina. Amígdala (AMY), núcleo cama de la estría terminal (BNST), septum lateral (LS), núcleo accumbens (NAcc), amígdala, hipocampo, área tegmental ventral (VTA), tubérculo olfatorio, núcleo ventromedial del hipotálamo, putamen caudado, núcleo caudado, pálido ventral (VP), y corteza prefrontal

(PFC). La mayoría de la oxitocina provienen de las neuronas parvocelulares del PVN, no se conoce con exactitud si el SON envía oxitocina hacia el sistema nervioso central.21

Figura 10: Autoradiografía que muestra las diferencias en la densidad de los receptores de oxitocina y vasopresina en el sistema de recompensa de roedores y monógamos (A y C) y promiscuos (B y D). PFC: corteza prefrontal (PFC), putamen caudado (CP), núcleo accumbens (Nacc), septum lateral (LS), pálido ventral (VP).....22

Figura 11: Vista sagital del esquema de un cerebro de rata donde se muestran de manera general las estructuras cerebrales que forman parte del sistema de recompensa, así como sus principales conexiones y sistemas de neurotransmisores. Corteza frontal (FC), hipocampo (Hippo), núcleo cama de la estria terminal (BNST), núcleo accumbens (NAcc), pálido ventral (VP), amígdala (AMY), área tegmental ventral (VTA).25

Figura 12: A) Representación de los puntos hedónicos (color rojo) en el Nacc Shell y en el VP, vistos en un corte sagital de cerebro de rata. B) El punto hedónico en el Shell se encuentra marcado en rojo en la parte medial dorsal. C) El punto hedónico en el VP se encuentra marcado en rojo en la parte posterior. Estas áreas se mapearon por medio de la inmunoreactividad de c-Fos después de la estimulación con agonistas opioides.....26

Figura 13: Cuando una rata es expuesta al mismo tiempo a un individuo familiar y a uno desconocido, pasará la mayor parte de su tiempo investigando al individuo desconocido.....30

Figura 14: Comparación de la actividad cerebral en corteza prefrontal, Nacc y VP, por medio de resonancia magnética en tres grupos de ratas. A) Actividad en el sistema de recompensa de ratas vírgenes administradas con cocaína; B) Actividad en el sistema de recompensa de ratas lactantes administradas con cocaína; C) Actividad en el sistema de recompensa de ratas lactantes alimentando a sus crías.32

Figura 15: Tiempo promedio que las ratas pasan explorando diferentes estímulos. De izquierda a derecha: Una pelota a través de una malla (Ball/Mesh); una pelota en contacto directo (Ball/Phys); una rata a través de una malla (Rat/Mesh) y una rata en contacto directo (Rat/Phys). Se observa preferencia por los estímulos sociales y una mayor preferencia por la socialización con contacto corporal.....33

Figura 16. Tiempo que pasan 3 cepas diferentes de ratones en cámaras donde se les presentan varios estímulos. A) Las barras blancas representan el tiempo de exploración en una cámara vacía (Empty side) y las barras negras el tiempo de exploración en una cámara habitada por un compañero desconocido (Stranger 1 side). B) Las barras negras representan el tiempo de exploración en un segundo encuentro con el compañero desconocido, ahora familiar (Stranger 1 side) y las barras blancas representan el tiempo de exploración una cámara con un segundo compañero desconocido (Stranger 2 side).....37

Figura 17: Esquema que representa los cambios en el estado de confianza (State trust) y la liberación de oxitocina en saliva (Salivary oxytocin) durante un encuentro novedoso entre dos personas (Novelty session) y un encuentro familiar (Familiarity session).....38

Figura 18: Grupos que componen el experimento y tipo de estimulación a la que fueron sometidos.....	46
Figura 19: Esquema del área de prueba para la exposición a estímulos socio-ambientales.....	47
Figura 20: Esquema del procedimiento que se llevó a cabo con las ratas del grupo SE.....	48
Figura 21: Esquema del procedimiento que se llevó a cabo con las ratas del grupo EAN para aplicar las pruebas de estimulación.....	48
Figura 22: Esquema del procedimiento que se llevó a cabo con las ratas del grupo ESF para aplicar las pruebas de estimulación.....	49
Figura 23: Esquema del procedimiento que se llevó a cabo con las ratas del grupo ESN para aplicar las pruebas de estimulación.....	50
Figura 24: Imágenes de cortes cerebrales de rata que representan los niveles de Bregma utilizados en este trabajo. A) Nacc Core y Nacc Shell marcados en rojo y azul respectivamente. B) VP marcado en rojo. C) PVN y SON marcados en rojo y azul respectivamente.....	52
Figura 25: Interacciones moleculares durante la prueba inmunohistoquímica.....	53
Figura 26: Referencias anatómicas que se usaron para la ubicación del área donde se contaron las neuronas inmunoreactivas del Nacc Core (A) y Nacc Shell (B); del VP (C); del PVN (D) y del SON (E). Parte anterior de la comisura anterior (aca), parte posterior de la comisura anterior (acp), ventrículo lateral (LV), tercer ventrículo (3V), quiasma óptico (ox).....	54
Figura 27: Esquema del campo visual del objetivo 40X que se utilizó para dibujar y contar las neuronas inmunoreactivas a c-Fos. A la izquierda se muestra un esquema de la cámara de Neubauer a la derecha, en una escala similar un ejemplo de los dibujos que se realizaron.....	55
Figura 28: Gráfica de medias +/- el error estandar del número de neuronas inmunoreactivas a c-Fos en el PVN. En el eje de las X se muestran los 4 tipos de estimulación a los que fueron expuestas las ratas, y en el eje de las Y el promedio de número de neuronas inmunoreactivas por área (101, 787 μm^2). Se encontraron diferencias significativas en el grupo expuesto a novedad social ESN (A), en comparación con los tres grupos restantes, EAN, ESF y SE, entre los cuales no se encontraron diferencias (B).....	57
Figura 29: Fotografías representativas de la inmunoreactividad a c-Fos observada en el PVN en cada grupo. En el grupo ESN se pueden observar un mayor número de marcas. La barra representa 30 μm para todas las imágenes. Las flechas rojas indican algunas marcas inmunoreactivas.....	58
Figura 30: Gráfica de medias +/- el error estándar en el número de neuronas inmunoreactivas a c-Fos en el SON. En el eje de las X se muestran los 4 tipos de estimulación a los que fueron expuestas las ratas y en el eje de las Y el promedio de número de neuronas inmunoreactivas por área (101, 787 μm^2). Se encontraron diferencias significativas en los grupos EAN, ESF y ESN (A), en comparación con el grupo control SE (B)....	58

Figura 31: Fotografías representativas de la inmunoreactividad a c-Fos observada en el SON de cada grupo. Se puede observar un mayor marcaje en los grupos EAN, ESF y ESN en comparación con el grupo SE. La barra representa 30µm para todas las imágenes. Las flechas rojas indican algunas marcas inmunoreactivas.....59

Figura 32: Gráfica de medias +/- el error estandar en el número de neuronas inmunoreactivas a c-Fos en el Nacc Core. En el eje de las X se muestran los 4 tipos de estimulación a los que fueron expuestas las ratas y en el eje de las Y el promedio de número de neuronas inmunoreactivas por área (101, 787 µm²). Los grupos EAN, ESF y ESN (A y B) son significativamente diferentes al grupo control SE (C), sin embargo, el grupo ESN (A) también presenta diferencias en comparación a los grupos EAN y ESF (B).....59

Figura 33: Fotografías representativas de la inmunoreactividad a c-Fos observada en el Nacc Core de cada grupo. Todos los grupos presentaron mayor número de neuronas inmunoreactivas en comparación con el grupo SE, pero el mayor número de neuronas se observa en el grupo ESN. La barra representa 30µm para todas las imágenes. Las flechas rojas indican algunas marcas inmunoreactivas.....60

Figura 34: Gráfica de medias +/- el error estandar en el número de neuronas inmunoreactivas a c-Fos en el Nacc Shell. En el eje de las X se muestran los 4 tipos de estimulación a los que fueron expuestas las ratas y en el eje de las Y el promedio de número de neuronas inmunoreactivas por área (101, 787 µm²). Los grupos EAN, ESF y ESN (A y B) son significativamente diferentes al grupo control SE (C), sin embargo, el grupo ESN (A) también presenta diferencias en comparación a los grupos EAN y ESF (B).....60

Figura 35: Fotografías representativas de la inmunoreactividad a c-Fos observada en el Nacc Shell de cada grupo. Los grupos EAN, ESF y ESN presentaron mayor número de neuronas inmunoreactivas en comparación con el grupo SE. El mayor número de neuronas se observa en el grupo ESN. La barra representa 30µm para todas las imágenes. Las flechas rojas indican algunas marcas inmunoreactivas.....61

Figura 36: Gráfica de medias +/- el error estándar en el número de neuronas inmunoreactivas a c-Fos en el VP. En el eje de las X se muestran los 4 tipos de estimulación a los que fueron expuestas las ratas y en el eje de las Y el promedio de número de neuronas inmunoreactivas por área (101, 787 µm²). El grupo ESN (A) fue el único en el que se observaron diferencias significativas en comparación con los demás grupos (B).....61

Figura 37: Fotografías representativas de la inmunoreactividad a c-Fos observada en el VP de cada grupo. El mayor número de neuronas se observa en el grupo ESN. La barra representa 30µm para todas las imágenes. Las flechas rojas indican algunas marcas inmunoreactivas.....62

Anexo 2: Abreviaciones

3V: tercer ventrículo

aca: (anterior part of the anterior commissure) parte anterior de la comisura anterior

acp: (posterior part of the anterior commissure) parte posterior de la comisura anterior

AH: (anterior hypothalamus) hipotálamo anterior

AMY: (amygdala) amígdala

ANOVA: (analysis of variance) análisis de la varianza

AP-1: (activated protein 1) proteína activada 1

ARN: (ribonucleic acid) ácido ribonucleico

ATF: (activated transcription factors) factores de transcripción activados

BDNF: (brain derived neurotrophic factor) factor neurotrófico derivado del cerebro

blAMY: (basolateral amygdala) amígdala basolateral

BNST: (bed nucleus of stria terminalis) núcleo cama de la estría terminal

Ca⁺²: calcio

c-AMP: (cyclic adenosine monophosphate) adenosin monofosfato cíclico

CaM: (calmodulin) calmodulina

CaMK: (calmodulin-dependent kinase) cinasa dependiente de calmodulina

c-fos: gen

c-Fos: proteína

CG: (cingulate gyrus) giro cingulafo

Cl⁻: cloro

CRE: (calcium response element) elemento de respuesta a calcio

CREB: (calcium response element-binding) elemento de unión en respuesta a calcio

CRH: (corticotropin releasing hormone) hormona liberadora de corticotropina

CP: (caudate putamen) putamen caudado

DNA: (deoxyribonucleic acid) ácido desoxiribonucleico

EAN: estimulación ambiental novedosa

ERK: (extracellular signal regulated kinase) cinasas reguladas por factores extracelulares

ESF: estimulación social familiar

ESN: estimulación social novedosa

FC: (frontal cortex) corteza frontal

GABA: (gamma-aminobutyric acid) ácido gama-aminobutírico

GRH: (gonadotropin releasing hormone) hormona liberadora de gonadotropina

HIP: (hippocampus) hipocampo

Hippo: (hippocampus) hipocampo

K⁺: potasio

kDa: kilo daltones

LS: (lateral septum) septum lateral

LV: (lateral ventriculum) ventrículo lateral

M: magnocelulares

M: molar

MAP: (mitogen activated protein kinase) cinasas activadas por mitógenos

MC: (motor cortex) corteza motora

meAMY: (medial amygdala) amígdala media

mRNA: (messenger ribonucleic acid) ácido ribonucleico mensajero

Na⁺: sodio

Nacc: (nucleus accumbens) núcleo accumbens

Nacc Core: (Nucleus accumbens core) “núcleo” del núcleo accumbens

Nacc Shell: (Nucleus accumbens shell) “concha” del núcleo accumbens

NaCl: (cloruro de sodio)

NMDA: (N-methyl-D-aspartate) N-metil-D-aspartato

NO: nervios ópticos

OTR: (oxytocin receptor) receptor de oxitocina

ox: (optic chiasm) quiasma óptico

P: parvocelulares

PAG: (periaqueductal gyrus) giro periacuaductal

PB: (phosphate buffer) buffer de fosfatos

PC: (piriform cortex) corteza piriforme

PFC: (prefrontal cortex) corteza prefrontal

PKA: (protein kinasa A) proteína cinasa A o cinasas dependientes de c-AMP

POA: (preoptic area) área preóptica

PVN: (paraventricular nucleus) núcleo paraventricular

SE: sin estimulación

SON: (supraoptic nucleus) núcleo supraóptico

SER: (serum response element) elemento de respuesta serico

SRF: (serum response factor) factor de respuesta serico

Str: (striatum) estriado

TCF: (ternary complex factor) factor complejo ternario

TRH: (tirotropin releasing hormone) hormona liberadora de tirotropina

V1aR: (Vasopressin 1a receptor) receptor 1a de vasopresina

V1bR: (vasopressin 1b receptor) receptor 1b de vasopresina

V2R: (vasopressin 2 receptor) receptor 2 de vasopresina

VMH: (ventromedial hypothalamus) hipotálamo ventromedial

VP: (ventral pallidum) pálido ventral

VTA: (ventral tegmental area) área tegmental ventral