



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE PUEBLA**



**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
Licenciatura en Químico Farmacobiólogo**

Laboratorio de Neuropsiquiatría
INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
Centro de Investigación de Reproducción Animal
CINVESTAV-Laboratorio de Tlaxcala

**INFLUENCIA DE CONDUCTAS AFILIATIVAS Y/O AGONISTAS ANTE UN FACTOR
ESTRESANTE, SOBRE LA MORFOLOGÍA NEURONAL DE LA CORTEZA MEDIA
PREFRONTAL C3, C5 Y NÚCLEO ACCUMBENS EN MODELO DE RATA TIPO
ESQUIZOFRENIA A LOS 7 DÍAS POSTPARTO**

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE LICENCIADA EN QUÍMICA
FARMACOBIOLOGIA

PRESENTA:

p. QFB Claudia Cahuantzi Tamalatzi

DIRECTOR:

Dr. Angel Ismael Melo Salazar

ASESOR INTERNO:

Dr. Israel Camacho Abrego

ASESOR TÉCNICO:

MC. Genaro Carmona Gutiérrez

COMITE REVISOR:

Dr. Alfonso Díaz Fonseca
Dr. José Albino Moreno Rodríguez
MC. Aldrin Martínez Vásquez

Puebla, Pue. Noviembre del 2016



DEDICADO A:

A mis padres Micaela Tamalatzi Ramírez y Martín Cahuantzi Erazo, por su apoyo durante toda mi formación académica. Especialmente a mi madre, quien con su ejemplo me ha impulsado a ser mejor persona cada día, por su amor y cariño, por todas sus enseñanzas y por siempre creer en mí.

A la memoria de mi abuela Tere que siempre estuvo y estará conmigo.

A mi hermana Lucero quien me ha acompañado a lo largo de mis días, por su apoyo y consejos.

A mis amigos, quienes me estuvieron acompañando a lo largo de la carrera, por su agradable y divertida compañía. A Zuly, Luz y Eve, quienes llegaron a ser parte de mi familia. Especialmente a Zuly y Lulú, quienes han sido parte importante en la culminación de este proyecto, por sus consejos e infinito apoyo.

Y a todas las personas que han estado presentes en mi vida, sin ellas no hubiese podido ser la persona que el día de hoy soy.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Angel Ismael Melo Salazar por permitirme contribuir en este proyecto y por contar con su apoyo para realizar parte del trabajo en el laboratorio del CIRA del CINVESTAV- Laboratorio Tlaxcala. Universidad Autónoma de Tlaxcala.

Al Dr. Gonzalo Flores Álvarez por permitirme culminar el proyecto en las instalaciones del Laboratorio de Neuropsiquiatría, en el Instituto de Neurofisiología. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Al Dr. Israel Camacho Abrego, por su apoyo, paciencia, orientación y por todas las enseñanzas impartidas durante la realización del proyecto.

Al M.C. Genaro Carmona Gutiérrez por aceptar ser mi asesor técnico y por la orientación en la revisión de este trabajo.

A mis sinodales, Dr. Alfonso Díaz Fonseca, Dr. José Albino Moreno Rodríguez y MC. Aldrin Martínez Vásquez, por aceptar ser parte de mi comité de revisión, por su asesoría y comentarios acerca de este trabajo.

A todos los compañeros del laboratorio del CIRA en la facultad de biología de la UAT y del laboratorio de Neuropsiquiatría del Instituto de Fisiología, por su agradable compañía y apoyo, por sus comentarios y sugerencias durante la realización del proyecto.

Este trabajo de tesis fue apoyado por el proyecto CONACYT de Grupo de Investigación G3 # 181334.

INDICE GENERAL

ABREVIATURAS	6
INDICE DE FIGURAS	7
INDICE DE TABLAS	8
INDICE DE GRÁFICAS	9
RESUMEN.....	10
I INTRODUCCIÓN.....	11
II ESQUIZOFRENIA	12
II.I Epidemiología.....	12
II.II Etiología	12
II.III Diagnóstico.....	13
II.IV Neuropatología y Neuroquímica	14
III MODELO TIPO ESQUIZOFRENIA EN ANIMAL	15
IV CONDUCTA SOCIAL	17
V Estrés inducido socialmente	18
VI CONDUCTA MATERNA	18
VI.I Clasificación de la CM	19
VI.II Hormonas implicadas en la CM	20
VI.III Estructuras cerebrales implicadas en la CM.....	21
VII CONDUCTA SEXUAL FEMENINA (CSF)	22
VII.I Hormonas implicadas en la CSF.....	23
VII.II Estructuras cerebrales implicadas en la regulación de la CSF	24
VIII AGRESIÓN MATERNA.....	25
VIII.I.I Hormonas implicadas en la AM	25
VIII.I.II Estructuras cerebrales implicadas en la AM	26
IX SISTEMA LÍMBICO	27
IX.I Corteza media Prefrontal	27
IX.II Núcleo accumbens	30
X JUSTIFICACIÓN.....	32
XI HIPÓTESIS	33
XII OBJETIVOS.....	33
XII.I Objetivo general	33

XII.II	Objetivos particulares.....	33
XIII	METODOLOGÍA Y MATERIAL	34
XIII.I	DIAGRAMA DE TRABAJO.....	34
XIII.II	REPRODUCCIÓN DEL MODELO ANIMAL TIPO ESQUIZOFRENIA	35
XIII.III	MORFOLOGÍA NEURONAL	37
XIV	RESULTADOS.....	44
XIV.I	ACTIVIDAD MOTORA	44
XIV.II	MORFOLOGÍA NEURONAL	45
XIV.II.I	Corteza media Prefrontal Capa III	45
XIV.II.II	Corteza media Prefrontal Capa V.....	48
XIV.II.III	Núcleo Accumbens	51
XV	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	54
XVI	CONCLUSIÓN	63
XVII	PERSPECTIVAS.....	64
XVIII	BIBLIOGRAFÍA	65

ABREVIATURAS

IBO	Ácido iboténico
CeA	Amígdala
BLA	Amígdala basolateral
APO	Área preóptica
APOM	Área preóptica media
AVT	Área ventral tegmental
CM	Conducta materna
CSF	Conducta sexual femenina
Ctx	Corteza
CmPF	Corteza media prefrontal
CPF	Corteza prefrontal
CRH	Corticotropina
DP	Día postnatal
DPP	Día postparto
DA	Dopamina
E₂	Estradiol
EPP	Estro postparto
E	Estrógeno
FNDC	Factor neurotrófico derivado del cerebro
PCP	Fenciclidina
Hc	Hipocampo
HV	Hipocampo ventral
HT	Hipotálamo
HVM	Hipotálamo ventromedial
HPA	Hipotálamo-pituitaria-glándulas adrenales
IPP	Inhibición del prepulso al susto
LNHV	Lesión de hipocampo ventral
SHV	Lesión falsa de hipocampo ventral
GPI	Lóbulo pálido interno
NAA	N-acetilaspártato
NAc	Núcleo accumbens
NAcc	Núcleo accumbens core
NAcsh	Núcleo accumbens shell
PVN	Núcleo paraventricular
MD	Núcleo talámico mediodorsal
NETv	Núcleo ventral de la estría terminal
NO	Óxido nítrico
OXI	Oxitocina
PV	Pálido ventral
P	Progesterona
PRL	Prolactina
PKA	Proteína kinasa
SNC	Sistema nervioso central
BFS	Solución amortiguadora de fosfatos salinos
SNC	Sustancia negra compacta
SNR	Sustancia negra reticulada

INDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1 Regiones del cerebro afectadas en la esquizofrenia.....</i>	<i>15</i>
<i>Figura 2 Interacción e intercambio de señales (estímulos) entre la madre y la progenie.</i>	<i>19</i>
<i>Figura 3 Modelo de regulación materna propuesta por Roseblatt para la rata de laboratorio.</i>	<i>20</i>
<i>Figura 4 Corte sagital del cerebro de rata donde se muestran las diferentes áreas neurales del “circuito materno” que regula la conducta maternal.....</i>	<i>21</i>
<i>Figura 5 Áreas implicadas en el control de las conductas activas de la motivación maternal y sexual en la hembra.</i>	<i>22</i>
<i>Figura 6 Niveles en plasma de las hormonas progesterona y estrógeno durante el día 1 postparto.</i>	<i>24</i>
<i>Figura 7 Esquema general del sistema mesocorticolímbico.</i>	<i>27</i>
<i>Figura 8 Capas de la corteza cerebral con Tinción de Golgi.</i>	<i>30</i>
<i>Figura 9 Esquema de las dimensiones del equipo de medición de la actividad locomotora</i>	<i>36</i>
<i>Figura 10 Representación del proceso de perfusión.</i>	<i>39</i>
<i>Figura 11 Técnica de dibujo neuronal.</i>	<i>40</i>
<i>Figura 12 Ubicación neuronal de la corteza media prefrontal</i>	<i>41</i>
<i>Figura 13 Núcleo Accumbens (NAc) y sus subregiones.....</i>	<i>42</i>
<i>Figura 14 Técnica de Análisis de Sholl</i>	<i>43</i>
<i>Figura 15 Neuronas piramidales de la Corteza media Prefrontal capa III.....</i>	<i>45</i>
<i>Figura 16 Neuronas piramidales de la Corteza media Prefrontal capa V.....</i>	<i>48</i>
<i>Figura 17 Neuronas espinosas medianas del núcleo accumbens.....</i>	<i>51</i>
<i>Figura 18 Circuito cortical en la Esquizofrenia.....</i>	<i>56</i>
<i>Figura 19 El desarrollo y función de múltiples sistemas son afectados en el modelo de LNHV.....</i>	<i>58</i>
<i>Figura 20 Representación esquemática de las principales conexiones aferentes (a) y eferentes (b) del NAc.</i>	<i>59</i>

INDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1 Síntomas relacionados con el modelo en rata de lesión en HV y la esquizofrenia en humanos.....</i>	<i>16</i>
<i>Tabla 2 Resumen de hormonas participantes en las conductas afiliativas y agonista.</i>	<i>26</i>

INDICE DE GRÁFICAS

<i>Gráfica 1 Actividad motora ante ambiente nuevo total.</i>	<i>44</i>
<i>Gráfica 2 Actividad motora ante ambiente nuevo en línea temporal.</i>	<i>44</i>
<i>Gráfica 3 Arborización dendrítica de las neuronas piramidales de la CmPF capa III.....</i>	<i>46</i>
<i>Gráfica 4 Longitud por número de orden de las neuronas piramidales de la CmPF capa III.....</i>	<i>46</i>
<i>Gráfica 5 Longitud dendrítica total de las neuronas piramidales de la CmPF capa III.....</i>	<i>47</i>
<i>Gráfica 6 Número de espinas dendríticas distales de las neuronas piramidales de la CmPF capa III.....</i>	<i>47</i>
<i>Gráfica 7 Arborización dendrítica de las neuronas piramidales de la CmPF capa V.....</i>	<i>49</i>
<i>Gráfica 8 Longitud por número de orden de las neuronas piramidales de la CmPF capa V.....</i>	<i>49</i>
<i>Gráfica 9 Longitud dendrítica total de las neuronas piramidales de la CmPF capa V.....</i>	<i>50</i>
<i>Gráfica 10 Número de espinas dendríticas distales de las neuronas piramidales de la CmPF capa V.....</i>	<i>50</i>
<i>Gráfica 11 Arborización dendrítica de las neuronas espinosas medianas del Núcleo accumbens.</i>	<i>52</i>
<i>Gráfica 12 Longitud por número de orden de las neuronas espinosas mediana del Núcleo accumbens.....</i>	<i>52</i>
<i>Gráfica 13 Longitud dendrítica total de las neuronas espinosas mediana de Núcleo accumbens.....</i>	<i>53</i>
<i>Gráfica 14 Número de espinas dendríticas distales de las neuronas espinosas mediana de Núcleo accumbens.....</i>	<i>53</i>

RESUMEN

La lesión neonatal del hipocampo ventral (LNHV), en el día postnatal (DP) 7, con ácido iboténico en rata es un modelo animal que induce alteraciones neuronales en el sistema dopaminérgico mesolímbico, y genera síntomas similares a las manifestadas en la esquizofrenia en humanos, en la etapa adulta. El efecto de la LNHV ha sido muy estudiado en la rata macho, sin embargo se conoce poco acerca del efecto de dicha lesión sobre la conducta social de la rata hembra con sus crías y se desconoce acerca de los efectos neuroanatómicos de la lesión en núcleos relacionados al circuito materno y mesolímbico. No obstante, aunque la incidencia de esquizofrenia es mayor en hombres, la presencia de esta enfermedad en la mujer lactante es devastadora. Se sabe que mujeres con esquizofrenia presentan conductas antisociales, aberrantes y desorganizadas, conductas que son exacerbadas durante la lactancia. Pero si son expuestas a estrés, las alteraciones conductuales se magnifican y se pueden presentar delirios, confusión, e incluso pueden llegar a expresar infanticidio. A pesar de esta información, se desconoce si las áreas neurales que regulan la conducta materna son afectadas por la LNHV, y si la exposición a un factor estresante magnifica aún más la plasticidad cerebral. Para evaluar la anterior posibilidad, hembras lactantes con LNHV fueron expuestas a un macho (factor estresante) y se analizó la morfología dendrítica de áreas neurales (Corteza media prefrontal; CmPF, capa III y V, y del Núcleo Accumbens; NAc) involucradas en las conducta sociales. Como prueba estándar para corroborar la hiperactividad motora que este tipo de lesión (LNHV) induce, al DP 70 las hembras fueron expuestas a un campo cerrado. Al DP 90 se aparearon las ratas hembra con machos sexualmente expertos. Posteriormente se revisó el día exacto del parto, considerándolo como día postparto 0. En el día postparto 7 las hembras fueron expuestas a un macho como factor estresor durante 60 minutos. Posteriormente los cerebros se procesaron con la técnica de Golgi-Cox. Los resultados mostraron que la LNHV causó una disminución significativa en la arborización dendrítica total, número de orden, longitud dendrítica total y en el número de espinas dendríticas distales de la CmPF capa III y V, lo cual a su vez sugiere una hiporresponsividad en los procesos motivacionales y afectivos, y así afectar las conductas afiliativas (conducta materna y/o sexual). En el NAc, se presentó un aumento en la arborización dendrítica total, número de orden y longitud dendrítica total, lo cual sugiere una activación del sistema dopaminérgico relacionado a las afectaciones de la LNHV y al efecto estresante al cual se sometió la rata lactante. Sin embargo también se presentó una disminución en el número de espinas distales, lo cual sugiere una deficiencia en la plasticidad sináptica en el NAc. Este trabajo sugiere que las alteraciones del sistema dopaminérgico mesolímbico fueron debido a los cambios morfológicos por la lesión excitotóxica y por la influencia de diversos factores conductuales (conducta materna, conducta sexual y agresión materna) y ambientales (estrés) a las cuales se expuso la rata lactante.

I INTRODUCCIÓN

La esquizofrenia es un desorden mental que es expresado en forma de funciones mentales anormales y desorden en el comportamiento, que aparecen a finales de la segunda y tercera década de vida como una constelación heterogénea de 3 clases características clínicas. Los síntomas positivos incluyen delirios, alucinaciones y pensamiento desorganizado. Los síntomas negativos se relacionan a la pérdida de motivación y vitalidad emocional. Disturbios en las funciones cognitivas básicas, como la atención, funciones ejecutivas, y formas específicas de memoria (particularmente la memoria de trabajo), se cree son ahora el centro de los desórdenes del comportamiento y de la incapacidad funcional de la esquizofrenia (Lewis & Lieberman, 2000).

Factores genéticos y ambientales (incluyendo la exposición a infecciones, enfermedades autoinmunes, tóxicas o lesiones traumáticas y estrés durante la gestación o la infancia) también podrían jugar un rol en la patogénesis de la esquizofrenia, quizás a través de sutiles alteraciones en el neurodesarrollo (Marcelis y cols., 1998).

El infanticidio materno es uno de los principales problemas a los que se enfrenta la sociedad y frecuentemente se ha asociado con enfermedades mentales, incluyendo la esquizofrenia. Esto es debido a que las mujeres diagnosticadas con esquizofrenia durante la maternidad tienden a ser más aisladas, conductualmente menos sensibles y responsables con los infantes, proporcionando menos cuidado práctico y emocional a sus hijos. También se ha mostrado que factores adicionales y ambientales como el estrés interfieren severamente con las responsabilidades maternas hacia los infantes, una situación que conduce a los malos cuidados maternos (González-Mariscal & Melo, 2013).

La base biológica de la esquizofrenia sigue siendo desconocida. Sin embargo, el neurotransmisor monoaminérgico dopamina (DA) ha desempeñado un papel clave en diversas hipótesis sobre ciertos aspectos sintomatológicos de la esquizofrenia. La neuroanatomía de las vías neurales dopaminérgicas en el cerebro pueden explicar las posibles rutas por las cuales la DA causa las alteraciones características de la esquizofrenia. (Marcelis y cols., 1998)

El sistema dopaminérgico se relaciona con funciones motoras (vía nigroestriatal) y también participa en procesos de atención, memoria, condicionamiento y motivación conductual a través de las proyecciones que van desde el AVT (Área ventral tegmental) a la corteza prefrontal, la amígdala, el hipocampo, el NAc (Núcleo Accumbens) y el estriado ventral. Los estresores aversivos activan las proyecciones de la amígdala al AVT, lo que puede generar una reacción positiva que mantenga activa a la amígdala mientras se perciba la amenaza. Las alteraciones en el sistema dopaminérgico las cuales modulan los estímulos sensoriales y los procesos de memoria pueden llevar a un compromiso de la atención, fenómenos disociativos y fallas de memoria (Tecuatl, 2013).

II ESQUIZOFRENIA

La esquizofrenia es un trastorno que afecta al 1% de la población mundial y que en la actualidad se define de modo sindrómico, puesto que se denomina a un conjunto de síntomas con una cierta duración en el tiempo, cuya etiología y fisiopatología son aún desconocidas (American Psychiatric Association, 2004).

La esquizofrenia es considerada como un desorden mental que es expresado en forma de funciones mentales anormales y desorden en el comportamiento. Hay evidencia de anomalías neurobiológicas y cognitivas (déficit de atención y en el procesamiento de la información) que proceden a la aparición de los síntomas y que hacen que las funciones mentales del sujeto sean vulnerables a diversos factores estresantes que actuarían como desencadenantes “Modelo de vulnerabilidad al estrés” (American Psychiatric Association, 2004).

II.I Epidemiología

La epidemiología de la esquizofrenia todavía enfrenta una serie de problemas metodológicos sin resolver. Entre estos problemas se encuentra la definición del diagnóstico por el criterio convencional, la variabilidad del curso de la enfermedad a pesar de la similitud de síntomas psicopatológicos y la heterogeneidad en las poblaciones de estudio. La distribución de la enfermedad difiere del área geográfica, cultura, estrato social, lugar que ocupa en la familia, edad y sexo (Häfner & Maurer, 1994).

La esquizofrenia es principalmente un trastorno de adolescentes y adultos jóvenes. La edad se sitúa entre los 18 y los 25 años en hombres y de 26 a 35 años en las mujeres. Sin embargo, no se descarta el inicio de la enfermedad durante la infancia, inicios de la adolescencia o últimas fases de la vida (Jablensky, 2000). Se ha reportado mayor incidencia de la enfermedad en los hombres, además las mujeres presentan los síntomas 3 o 4 años después que los hombres, reiniciándose la sintomatología a la edad de 40 a 45 años. En conjunto la esquizofrenia es determinada por factores (genéticos y generalmente biológicos) por ejemplo, en las mujeres los estrógenos actúan como neuroprotectores (Häfner y cols., 1991).

II.II Etiología

En la actualidad se desconoce el origen de la enfermedad, pero se le ha atribuido una etiología multifactorial. Se ha propuesto que la aparición del cuadro clínico involucra factores de tipo genético, de entorno social, psicológico, bioquímico y ambiental.

a) Genético

La expresión genética de la esquizofrenia en general está influenciada por factores de origen ambiental o intrínseco, pero que últimamente cuenta con un mecanismo molecular para el control en la transcripción y traducción de genes que se mencionan más adelante. Los factores

epigenéticos pueden afectar la transcripción genética, sin cambios en las secuencias de nucleótidos y ejercer sus efectos a través de dos principales mecanismos: la estructura de la cromatina y la metilación del DNA (Henikoff & Matzke, 1997).

Actualmente, sólo hay tres genes que parecen conferir relativamente el riesgo para padecer esquizofrenia, éstos son el gen que codifica al receptor 2A de la serotonina (5HTR_{2A}), el gen del receptor de dopamina tipo 3 (D₃) (Lohnueller y cols., 2003) y un tercer gen, el cual codifica a la catecol-O-metil transferasa (COMT) (Shifman y cols., 2002). La relevancia de estos genes para la etiología de la esquizofrenia aún se encuentra en discusión.

b) Ambiental

Existen factores ambientales (incluyendo la exposición a infecciones, enfermedades autoinmunes, tóxicas o lesiones traumáticas y estrés durante la gestación o la infancia) podrían jugar un rol en la patogénesis de la esquizofrenia, quizás a través de sutiles alteraciones en el neurodesarrollo (Marcelis y cols., 1998). Se han reportado muchos riesgos ambientales, tales como el estrés maternal y la malnutrición prenatal, probablemente después del desarrollo cerebral pre y postnatal.

Se sugiere que el proceso en la esquizofrenia ocurre en diferentes estados del neurodesarrollo. Hay evidencia de una lesión temprana en el neurodesarrollo (pre o postnatal) que puede generar un cerebro vulnerable para una anomalía tardía en el proceso del neurodesarrollo (particularmente después de la pubertad). Esta anomalía, en el proceso del neurodesarrollo puede interactuar con otros factores ambientales asociados con la aparición de psicosis (por ejemplo: estrés o uso de sustancias), lo cual en conjunto tiene secuelas neuroprogresivas que pueden ser neurodegenerativas (Pantelis y cols., 2005; Rapoport y cols., 2005).

II.III Diagnóstico

Es un trastorno que ataca algunas de las funciones más avanzadas del cerebro humano, Los síntomas pueden ser divididos dentro de tres principales categorías: psicóticos o “síntomas positivos”, de déficit o “síntomas negativos” y los deterioros cognitivos. El deterioro cognitivo en la esquizofrenia afecta las funciones como la atención, la memoria y el funcionamiento intelectual (Weickert y cols. 2000). Los síntomas positivos incluyen delirios (creencias falsas), alucinaciones (percepciones falsas), y pensamiento desorganizado. Los síntomas negativos se relacionan a la pérdida de motivación y vitalidad emocional. Disturbios en las funciones cognitivas básicas, como la atención, funciones ejecutivas, y formas específicas de memoria (particularmente la memoria de trabajo), son también constantemente observadas en pacientes y se cree son ahora el centro de los desórdenes del comportamiento y de la incapacidad funcional de la esquizofrenia. Además, gran cantidad de pacientes tienen síntomas de repentinos cambios de estado de ánimo incluyendo depresión y ansiedad (Lewis & Lieberman, 2000).

II.IV Neuropatología y Neuroquímica

Se plantea la hipótesis de que la interacción de la diátesis genética y el prematuro neurodesarrollo resulta en un defecto en la conectividad entre un número de regiones del cerebro, incluyendo el mesencéfalo, el núcleo accumbens, el tálamo, el temporo-límbico y la corteza prefrontal. (Selemon & Goldman-Rakic, 1999). Este defecto en el circuito neural es más vulnerable a disfunción cuando es desenmascarado por los procesos del desarrollo y eventos de la adolescencia (mielinización, poda sináptica y efectos hormonales de la pubertad sobre el SNC) y la exposición a factores de estrés como los movimientos individuales a través de los riesgos de la edad (Lieberman y cols., 1997; Raedler y cols., 2000).

Estos factores sugieren especulación acerca de cuáles sistemas neuroquímicos podrían mediar los cambios progresivos que aparecen durante las fases prematuras de la esquizofrenia (Lieberman, 1999). Tal especulación se ha centrado en los sistemas dopaminérgicos y glutamatérgicos. Una sobreactividad de los neurotransmisores de la dopamina DA en las proyecciones mesencefálicas a las del estriado límbico ha tenido gran sospecha en la esquizofrenia. Sin embargo, hay evidencia reciente que prueba la implicación de la dopamina de forma indirecta. Esto incluye la correlación positiva entre la potencia clínica y la afinidad de la unión a D2 de drogas antipsicóticas, por un lado, y la habilidad de agonistas indirectos de dopamina para introducir psicosis en voluntarios sanos y provocar síntomas psicóticos a muy bajas dosis en pacientes con esquizofrenia, en el otro (Carlsson, 1988).

Estos estudios sugieren que las condiciones anormales de almacenamiento de la dopamina, transporte vesicular, liberación, o recaptura por la neurona presináptica, lo cual puede ser la próxima causa de los síntomas psicóticos (Laruelle y cols., 1999) y podría contribuir al riesgo de esquizofrenia (Egan y cols., 2000).

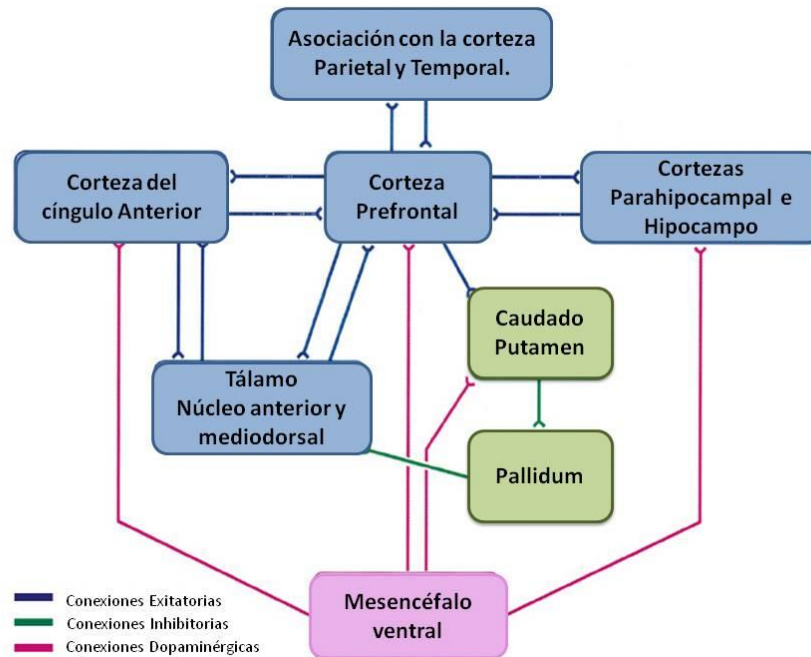


Figura 1 Regiones del cerebro afectadas en la esquizofrenia

Diagrama esquemático que resume algunas de las regiones del cerebro que han sido consistentemente implicadas en la fisiopatología de la esquizofrenia. La naturaleza de los cambios fisiopatológicos surgen para diferir entre las regiones con una reducción en el número neuronal reportado en algunos núcleos del tálamo, disminución en los marcadores de la conectividad sináptica en la corteza prefrontal y formación del hipocampo, y la evidencia de cualquier exceso funcional o déficit de neurotransmisores de dopamina en el cuerpo estriado y la corteza prefrontal, respectivamente. (Tomado y modificado de Lewis y Lieberman, 2000).

III MODELO TIPO ESQUIZOFRENIA EN ANIMAL

Los modelos animales son importantes en el desarrollo de la investigación en los mecanismos para tratar de estudiar los posibles mecanismos implicados en las enfermedades humanas y en el diseño de nuevas estrategias terapéuticas. Hasta el momento no hay modelos que cumplan todos los criterios y características de la esquizofrenia; sin embargo, un número de modelos genéticos, farmacológicos, de lesión estructural y ambiental, simulan ciertos aspectos de la enfermedad que son usados en la investigación de fármacos antipsicóticos. Ninguno de estos modelos ha tenido el espectro completo de las anormalidades en la esquizofrenia aplicados en roedores y primates.

Un modelo animal puede representar una enfermedad sobre tres diferentes niveles:

- 1) Poder reproducir factores inductores (un defecto genético y procesos patológicos subsecuentes fundamentales de la enfermedad).
- 2) Poder simular la fenomenología (una serie de síntomas esquizofrénicos).
- 3) Poder pronosticar el grado de reacción ante los tratamientos farmacológicos (fármacos antipsicóticos).

Los modelos de lesión han contribuido a nuestra comprensión de la patofisiología y funciones del neurodesarrollo de varias regiones del cerebro en relación con la esquizofrenia. Los modelos animales de lesión permiten monitorear el desarrollo cerebral que puede ser correlacionado con la conducta o marcadores neurobiológicos usados en humanos (Camacho, 2003).

Lesión neonatal excitotóxica hipocampal

La técnica de lesión de hipocampo ventral (LNHV) por medio de ácido iboténico (IBO) fue introducida por Schwarcz y cols., (1979). El IBO ha mostrado actuar como un potente neuroexcitante, se une a los receptores postsinápticos NMDA localizados en las dendritas de la neurona, permitiendo al Ca^{+2} acceder al ambiente libremente al entorno intracelular, cuya entrada excesiva de Ca^{+2} lleva finalmente a la muerte de la neurona. Los axones no poseen receptores excitadores y por consiguiente no es vulnerable al efecto del IBO (Hoshina y cols., 1994).

La LNHV en ratas neonatas ha sido propuesta como un modelo animal de esquizofrenia (Lipska y cols., 1993). Después de la pubertad, ratas con LNHV desarrollan conductas anormales, como hiperactividad locomotora, persistente ansiedad, hipersensibilidad hacia agonistas de dopamina y antagonistas de glutamato, déficit en las respuestas de alarma, es decir, conductas que se cree corresponden a determinados aspectos de los síntomas positivos de la esquizofrenia (Lipska y cols., 1993, 1995; Lipska & Weinberger, 1996) (**Tabla 1**).

	<i>Modelo de LNHV</i>	<i>Esquizofrenia</i>
Cambios conductuales	Hiperlocomoción al estrés Déficit al IPP Déficit al IL Déficit en pruebas de alternaciones retardadas. Reducción en contactos sociales	Vulnerabilidad al estrés Déficit al IPP Déficit al IL Déficit en la memoria de trabajo Aislamiento social
Respuesta farmacológica	Hiperactividad inducida por anfetamina Estereotipias inducidas por apomorfina Reduce la catalepsia a haloperidol Hiperactividad inducida por MK-801 y PCP	Incremento de síntomas por agonistas dopaminérgicos. Tolerancia a los neurolepticos. Incremento de síntomas por Ketamina.
Cambios moleculares en la corteza prefrontal	↓ Niveles NAA RNAm GAD67 RNAm FNDC	↓ Niveles NAA RNAm GAD67 RNAm FNDC

Tabla 1 Síntomas relacionados con el modelo en rata de LNHV y la esquizofrenia en humanos.

Abreviaturas: FNDC, factor neurotrófico derivado del cerebro; GAD67, glutamato descarboxilasa-67; IL, inhibición latente; NAA, N-acetilaspártato; PCP, fenciclidina; IPP, inhibición del prepulso al susto; reducción contra controles. (Modificado de Lipsa & Weinberger, 2002).

En la edad adulta, la LNHV conduce a comportamientos de imitación de los síntomas de la esquizofrenia, así como exageradas respuestas del comportamiento a la novedad, al estrés, y a los agonistas directos e indirectos de dopamina (DA), interrumpe la inhibición prepulso de la respuesta del sobresalto acústico, altera la conducta social e induce déficit en la memoria de trabajo (Lipska, 2004; Lipska y cols. 1993; Tseng y cols. 2009). Las anormalidades del comportamiento en animales con LNHV pueden estar vinculados a las anormalidades en la actividad del sistema dopaminérgico mesocortical y mesolímbico. Neuronas en la corteza prefrontal (CPF) y en el núcleo accumbens core (NAcc) muestran exageradas respuestas a la estimulación del área ventral tegmental (Goto & O'Donnell, 2002, 2004; Tseng y cols., 2006, 2007).

El modelo en estudio propone un desequilibrio en las vías dopaminérgicas mesolímbica y mesocortical. Una hiperfunción de la vía mesolímbica con sobre estimulación de regiones involucradas en el procesamiento de la información de los sentidos y contribuyendo a los síntomas positivos. Los síntomas negativos de la esquizofrenia se asocian como consecuencia de una hipofunción de la vía mesocortical. Los sistemas dopaminérgicos mesolímbico/mesocortical están comprometidos en estos animales. En el registro intracelular in vivo de las neuronas piramidales de la corteza prefrontal (CPF) han revelado una respuesta anormal en la activación del área ventral tegmental (AVT) en ratas con LNHV (O'Donnell y cols., 2002).

IV CONDUCTA SOCIAL

Entre los espectros anómalos observados en la esquizofrenia se encuentran las interacciones sociales, esto ocurre entre dos o más individuos de la misma especie. Estas conductas son necesarias para la comunicación, organización, coexistencia y para garantizar la subsistencia y perpetuación de la especie (Blumstein y cols., 2010). Durante la interacción social, los individuos emiten información a través de patrones conductuales y/o de señales sensoriales, acerca de su edad, sexo, estatus social y condición reproductiva, y el animal receptor capta dichas señales.

Las conductas sociales se han clasificado en 1) conductas afiliativas, que se refieren a todas aquellas conductas que involucran un acercamiento mutuo o que fomentan la cercanía entre los individuos, por ejemplo: la conducta sexual (Lenz y cols., 2008), la conducta maternal (Gonzales y cols., 2001; Melo y cols., 2009), el acicalamiento, la interacción social juego lucha (Veenema & Neumann, 2009); y 2) conductas agonistas, que implican a todas aquellas conductas que generan alejamiento o daño entre los miembros de la misma especie tales como la agresión ofensiva (ataque hacia un con-específico), la agresión materna (Melo y cols., 2009), el aislamiento (Nakamura y cols., 2003, Lovic y cols., 2011; Melo y cols., 2006, 2009), el rechazo y la competencia.

La expresión equilibrada de ambos tipos de conductas, en respuesta a factores internos y ambientales, permite una interacción armoniosa en la comunidad. Sin embargo, la expresión exagerada o débil de alguna de dichas conductas conlleva a una disrupción del equilibrio social.

V Estrés inducido socialmente

El término estrés se refiere a la reacción fisiológica causada por la percepción de situaciones aversivas o amenazantes. Los estímulos o situaciones que causan estrés son llamados estresores. Ellos pueden variar en relación a la intensidad, duración y frecuencia o en su origen en físicos, biológicos, psicológicos o sociales (Sandi, Venero y Cordero, 2001; Selye, 1946). Ejemplos de estresores psicológicos o sociales son la disminución o eliminación de reforzadores apetitivos (frustración), la separación de la cría de su madre o la introducción de un sujeto extraño al nido materno.

El estrés en función de su duración se clasifica en agudo y crónico. El primero hace referencia a la exposición a estresores de pocos minutos a unas horas, mientras que el segundo implica la exposición prolongada a los mismos, de horas a días. (Retana-Márquez y cols., 2003).

En la respuesta neurofisiológica de estrés se destaca la importancia del hipotálamo, que es la estructura del sistema nervioso central encargada de integrar la información referente al estímulo o situación estresante, además es capaz de modular una gran variedad de procesos fisiológicos y metabólicos a través de la activación de dos sistemas: el sistema nervioso autónomo y el eje (hipotálamo-pituitaria-glándulas adrenales) HPA. Al producirse una situación de estrés la rama simpática del sistema nervioso autónomo se activa y las glándulas adrenales segregan adrenalina y noradrenalina. Éstas, junto con el cortisol, son consideradas las hormonas prototípicas del estrés.

Las situaciones estresantes aumentan la liberación de noradrenalina en el hipotálamo, la corteza prefrontal y el cerebro frontal basal lateral (Cenci y cols., 1992; Yokoo y cols., 1990).

VI CONDUCTA MATERNA

Como la mayoría de las conductas sociales, la expresión de la conducta materna (CM) requiere la participación activa de dos o más miembros de la misma especie para que se realice. La CM consiste en la expresión de una serie de patrones motores y eventos somato-sensoriales por parte de la madre durante la gestación, el parto y la lactancia. Esto con la finalidad de proveer de nutrientes, protección, calor y los estímulos sensoriales (estímulos táctiles, auditivos y odoríferos), hormonales (a través de la leche materna) y sociales (interacción madre-hijos y entre los hermanos) necesarios para el crecimiento, desarrollo y maduración de la progenie. De manera recíproca, la progenie provee a la madre de los estímulos sensoriales; táctiles, succión, odoríferos,

visuales y sociales indispensables para el establecimiento y mantenimiento de la CM post-parto (**Figura 2**) (Rosenblatt y cols., 1963).

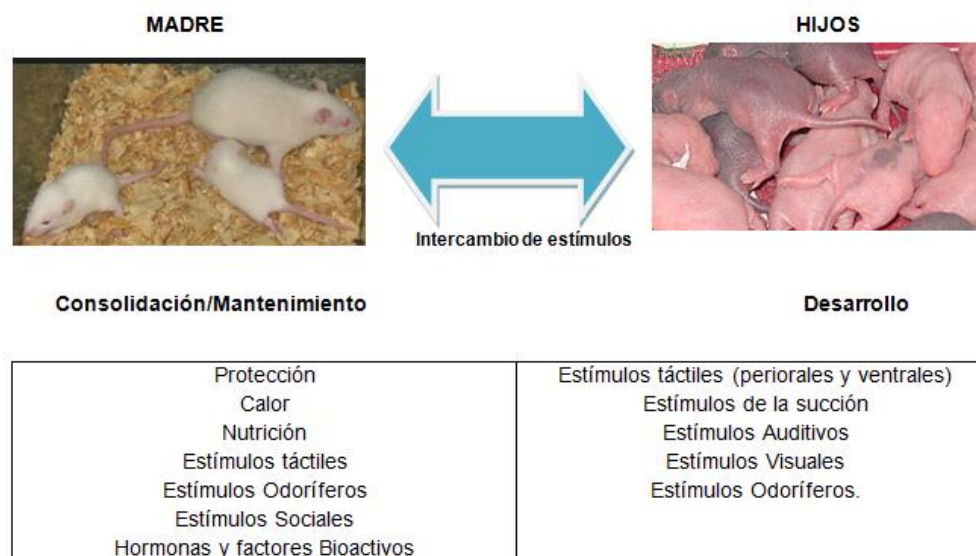


Figura 2 Interacción e intercambio de señales (estímulos) entre la madre y la progenie.

Como se puede observar, la madre provee a las crías (progenie o hijos) de nutrientes y de estímulos sensoriales, hormonales y sociales necesarios para su crecimiento y desarrollo. La otra parte de la diada; las crías, corresponden con la emisión de señales sensoriales y sociales. De tal manera que este intercambio se vuelve en un ciclo. (Tomado y modificado de Gonzáles-Mariscal & Melo, 2013).

Durante la lactancia, la madre adecua su conducta materna de acuerdo a las características de las crías y su estado de desarrollo. La intensa relación que se establece entre la madre y sus crías va decreciendo a lo largo de la lactancia en todos los mamíferos estudiados. Durante las primeras dos semanas de lactancia en la rata, cuando las crías se encuentran en estado de “hiporresponsividad al estrés”, la CM es intensa (Rosenblatt, 1965).

Los estímulos que las crías le proveen a la madre son cambios graduales en la CM de la rata, que ocurren en el proceso de lactancia: la camada de una semana de edad le proporcionan a la madre en estado de lactancia un cambio de incremento en la agresión maternal a niveles normales, vistos durante los primeros días postparto. En contraste, hembras en lactancia temprana son menos agresivas si las crías son de 3 semanas de edad (Gonzáles-Mariscal & Melo, 2013).

VI.I Clasificación de la CM

Se ha clasificado la CM en preparto y post-parto (Ugarte y cols., 2013). La CM pre-parto (construcción de nido, aislamiento de la camada) o CM postparto (acarreo de las crías al nido, agrupamiento, lamido a las crías, y amamantamiento, agresión materna. Durante el parto, los estímulos sensoriales y sociales que otorgan las crías a la madre favorecen el establecimiento y el mantenimiento de la CM postparto (Melo y cols., 2015).

En los humanos la CM es más compleja y difícil de clasificarla pues su expresión no sólo depende de ciertas hormonas durante la gestación (estradiol, progesterona) y el parto (oxitocina, cortisol), sino también depende de factores psicológicos, cognitivos (teoría de la mente, procesos ejecutivos, etc.), afectivos, mentales, adictivos, sociales, experiencias tempranas y maternas, e incluso económicos y socio-culturales (Melo y cols, 2013; Gonzáles-Mariscal & Melo, 2013).

VI.II Hormonas implicadas en la CM

El inicio de la CM es estimulado por las hormonas de la gestación (estrógenos, progesterona, prolactina y oxitocina) al final de la gestación. Después del parto, el mantenimiento de la CM depende de los estímulos de la progenie (regulación no hormonal). Así, Rosenblatt propuso un modelo de regulación de la CM que aún es vigente y al cual se han ido agregando más especies, incluyendo al *humano*. Él propuso que la CM es regulada por una *fase hormonal* que estimula el inicio de la CM al final de la gestación y una *fase no-hormonal* que regula el mantenimiento de la CM durante la lactancia (**Figura 3**). Además que durante el parto existe un *período crítico* donde el efecto de las hormonas desaparece y los estímulos sensoriales/sociales (no-hormonales) que proveen las crías a la madre facilitan el establecimiento de la CM. Incluso, se ha reportado que en especies como los ungulados y los primates humanos y no humanos, la interacción madre-cría favorece la formación de un *vínculo materno* de la madre hacia la cría, y un *apego materno* de la cría hacia la madre (Ugarte y cols., 2013).

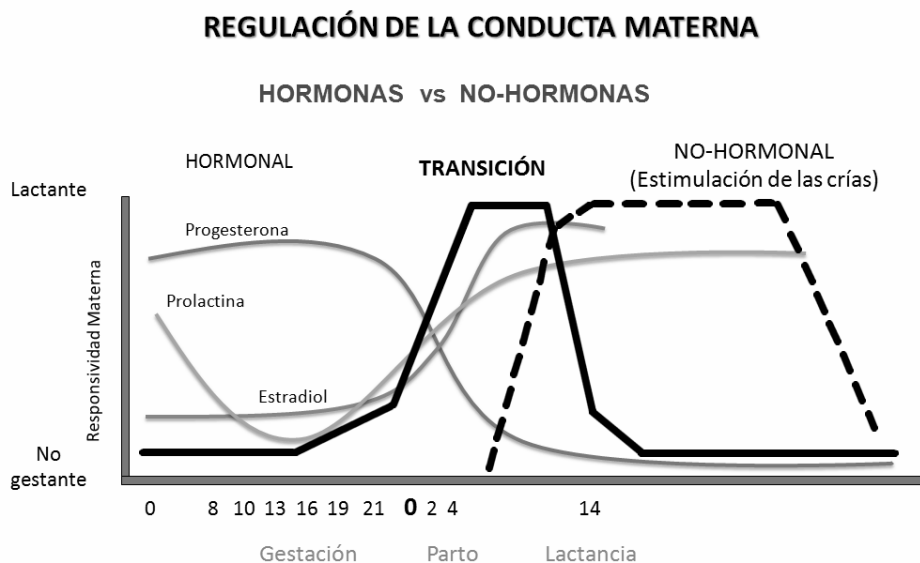


Figura 3 Modelo de regulación materna propuesta por Roseblatt para la rata de laboratorio.

Se muestra el nivel de responsividad materna hacia las crías. Se observa que durante la gestación la responsividad es baja, pero conforme se acerca el parto, ésta se incrementa hasta ser máxima al momento del parto. Los hallazgos sustentan que la responsividad es regulada por los cambios hormonales que ocurren al final de la gestación. Además, durante el parto, se establece y consolida la CM post-parto a través de los estímulos sensoriales de las crías, los cuales mantienen la CM durante toda la lactancia. Sin embargo, al final de la lactancia la responsividad disminuye progresivamente, conforme las crías maduran (Tomado de Melo y cols, 2015).

VI.III Estructuras cerebrales implicadas en la CM

Las áreas cerebrales relacionadas con el control de la CM se dividen en dos grupos: las que inhiben su despliegue: el bulbo olfatorio principal y accesorio; la amígdala, el hipotálamo ventromedial, el hipotálamo dorsal y el área hipotalámica anterior y aquellas áreas cerebrales que la estimulan: el área preóptica media (APOM) y lateral, el área ventral tegmental, el núcleo accumbens, el núcleo paraventricular hipotalámico, el tegmento del cerebro medio y la sustancia negra, entre otros (Numan & Callahan, 1980).

Se ha propuesto la existencia de un circuito neural que regula la conducta materna (“circuito materno”), en el que se incluye al sistema olfatorio principal y accesorio, sus proyecciones hacia el sistema límbico, como la amígdala, el núcleo accumbens y la corteza prefrontal, el núcleo “cama” de la estría terminal, el septum y el área preóptica media (**Figura 4**). Cada uno de estos sitios neurales desempeña un papel en la respuesta de la madre hacia sus crías y cada una de ellas tienen un papel único en términos de su regulación de la percepción, afectos y estímulos importantes de las crías, la atención y el aprendizaje (Numan, Fleming y Levy, 2006).

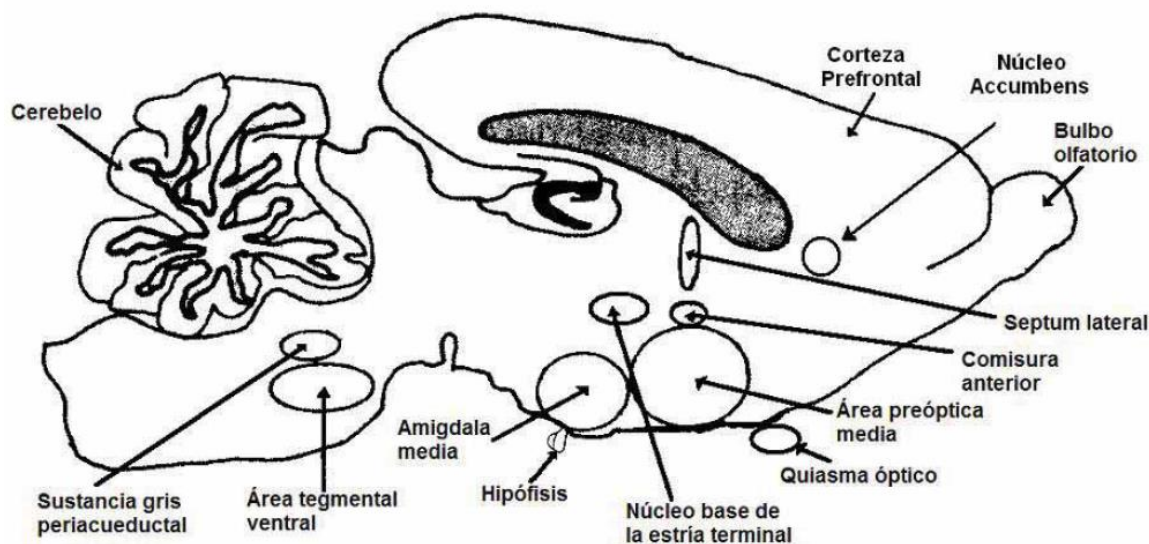


Figura 4 Corte sagital del cerebro de rata donde se muestran las diferentes áreas neurales del “circuito materno” que regula la conducta maternal.

Las áreas neurales que se activan en el cerebro durante el desarrollo de la CM en el humano son muy similares a las que se activan en los mamíferos pequeños, lo que sugiere la existencia de un circuito materno general en el cerebro de los mamíferos y que, seguramente es debido al proceso evolutivo que promovió la selección de circuitos similares. (Modificado de Ugarte y cols., 2013).

Diversos hallazgos sugieren que el control de las conductas activas por el APOM (el acarreo de las crías al nido, el lamido corporal y anogenital) se ejerce a través de las proyecciones de esta área hacia al AVT; que regula la actividad del NAc, a través de la liberación de DA (Numan y cols.,

2005) (**Figura 5**). Además se ha observado que las concentraciones de DA en el NAc aumentan durante la ejecución del comportamiento maternal (Afonso y cols, 2009; Afonso y cols, 2011; Champagne y cols, 2004; Hansen y cols, 1993). Esta evidencia le atribuye un rol crítico a la neurotransmisión dopaminérgica en el NAcc en el control de los aspectos motivacionales activos del comportamiento maternal.

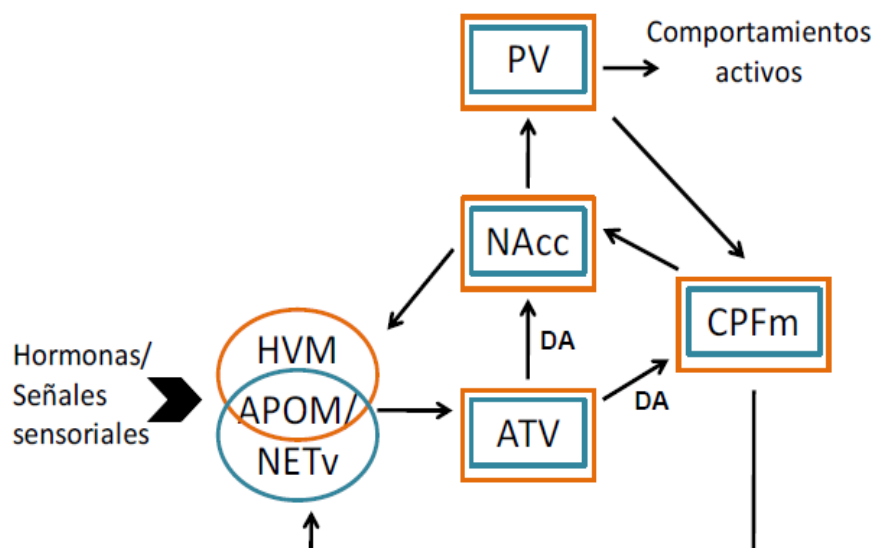


Figura 5 Áreas implicadas en el control de las conductas activas de la motivación maternal y sexual en la hembra.

Motivación maternal (azul) y motivación sexual (naranja). HVM (hipotálamo ventro medial), APOM (área preóptica media), NETv (núcleo ventral de la estría terminal), AVT (área tegmental ventral), CPFm (corteza prefrontal media), NAcc (Núcleo accumbens core), PV (pálido ventral). (Modificado de Olazábal y cols., 2013; Stolzenberg & Numan, 2011).

VII CONDUCTA SEXUAL FEMENINA (CSF)

En la rata, la atracción sexual de la hembra hacia el macho ocurre en momentos específicos del ciclo estral como consecuencia del efecto activacional de las hormonas ováricas. Así, las hembras se encuentran sexualmente activas durante fases del proestro tardío y estro temprano del ciclo estral, luego de la ocurrencia de los picos pre-ovulatorios de estrógenos y progestágenos (Beach, 1976; González-Flores, Hoffman, Melo y Lima, 2014).

El comportamiento materno y sexual de las hembras comparte características y mecanismos neurobiológicos en todas las especies de mamíferos estudiadas. En este sentido, tanto las madres como las hembras sexualmente activas expresan comportamientos de búsqueda de proximidad hacia las crías y a los machos, respectivamente (Stolzenberg & Numan, 2011). A su vez, tanto el comportamiento materno como el sexual se basan en los estímulos positivos que se originan durante la interacción entre los individuos y generan experiencias que los afectan durante una

interacción social posterior (Ferreira, 2008). Estas similitudes en el procesamiento emocional y motivacional de ambos comportamientos se asocian a la superposición de áreas neurales de control (Ver **Figura 5**) (Newman, 1999; Stolzenberg & Numan, 2011).

El estudio de los mecanismos que subyacen la expresión e interacción de la conducta sexual y materna cuando ambos ocurren de forma simultánea nos permite una mejor comprensión de los mismos, tanto en similitudes como en diferencias. En este sentido, la rata presenta un estro postparto (EPP) fértil en la noche del día del parto (Connor & Davi, 1980a; Gilbert y cols. 1980), durante el cual se encuentra maternal y sexualmente motivada.

Durante el EPP, la hembra es capaz de co-expresar ambas conductas: maternal y sexual, cuando las crías y el macho están presentes al mismo tiempo en el nido (Agrati y cols., 2011).

VII.I Hormonas implicadas en la CSF

Las ratas hembras exhiben un fértil estro postparto (EPP; alrededor de 9-12 hrs postparto), generalmente en la noche del alumbramiento. Durante este único período de su ciclo reproductivo, las hembras presentan conductas preceptivo/receptivo hacia los machos y actividades de cuidado hacia sus crías. (Connor & Davis, 1980a; Gilbert, Pelchat, & Adler, 1980, 1984). Sin embargo, si un macho se presenta después de este período de estro postparto (primeros 10-12 días postparto), la madre despliega agresión materna (Melo y Cols. 2009; Gonzáles-Mariscal & Melo, 2013).

Las hormonas reproductivas asociadas con el proestro o con el final de la gestación y el parto facilitan la expresión de la conducta sexual femenina (Clark, Kelton, Guarraci y Clyons, 2004; Connors & Davis, 1980b; Edwards & Pfeifle, 1983; Paredes & Alonso, 1997) y la conducta maternal (Bridges, 1975, 1977; Fleming & Sarker, 1990; Orpen & Fleming, 1987; Orpen, Furman, Wong y Fleming, 1987). Las hormonas esteroides, estradiol (E) y progesterona (P), actúan de manera secuencial y sinérgica en áreas cerebrales como el hipotálamo (HT) y el área preóptica (APO), para regular la conducta sexual femenina (CSF; lordosis y proceptividad de roedores) (Blaustein & Erskine, 2002).

Como consecuencia de los elevados niveles de estrógenos del final de la preñez y el aumento significativo de los progestágenos después del parto, las hembras se encuentran sexualmente activas aproximadamente a las 9 hrs luego del inicio del parto (Connor & Davis, 1980b). Esta actividad y receptividad sexual es máxima a las 12 hrs y decae a las 18 hrs, por lo que la actividad sexual máxima se desarrolla en una corta ventana temporal (**Figura 6**).

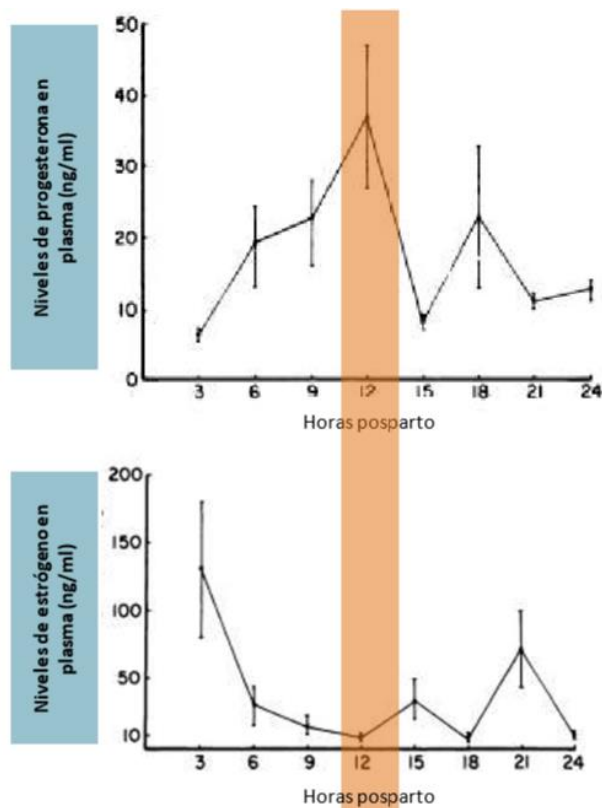


Figura 6 Niveles en plasma de las hormonas progesterona y estrógeno durante el día 1 postparto.

Se muestran los niveles en plasma de las hormonas progesterona (arriba) y estrógeno (abajo) durante el día 1 postparto. La barra vertical naranja indica el periodo del EPP en su expresión máxima. (Figura adaptada de Connors & Davis, 1980b).

VII.II Estructuras cerebrales implicadas en la regulación de la CSF

En el control neuronal del comportamiento sexual de la hembra el APOM y el hipotálamo ventromedial (HVM) representan áreas claves, presentando una elevada concentración de receptores de hormonas esteroides (Barboza y cols. 2009; Blaustein y cols. 2004) y recibiendo e integrando información olfatoria y genitosensorial (Kato y Sakuma, 2000; Pfaus y cols. 1993), así como motivacional (Graham y Pfaus, 2012).

Al igual que en el comportamiento materno, evidencia creciente implica al sistema dopaminérgico mesolímbico en el control motivacional sexual de las hembras. Durante la actividad sexual (Mermelstein & Becker, 1995; Pfaus y cols. 1995) inmediatamente antes de que la hembra reciba una intromisión (Jenkins y Beker, 2003) o cuando la hembra visualiza a un macho detrás de una barrera (Pfaus y cols. 1995), las concentraciones de DA en el NAcc aumentan. En este sentido, un tratamiento crónico con anfetaminas, que incrementa la liberación de DA en el sistema mesolímbico, aumenta la expresión de conductas sexuales motivadas (Afonso, Mueller, Stewart, y Pfaus, 2009b). Por otra parte, la administración sistémica del antagonista dopaminérgico HAL (haloperidol) reduce la ejecución de las conductas proceptivas (Coria-Avila y cols., 2008; Ismail y

cols., 2010). En base a esta evidencia se ha propuesto que, al igual que en el caso de la motivación maternal, la conexión del APOM con el NAcc vía el AVT mediaría la expresión de las conductas sexuales motivadas en la hembra (**Figura 5**) (Coria-Avila y cols., 2014; Stolzenberg & Numan, 2011).

VIII AGRESIÓN MATERNA

La agresión maternal es una de las conductas que expresan las hembras de la mayoría de las especies (Rosenblatt, 1965). En roedores como la rata o ratón lactante, la exposición a un macho intruso desencadena una serie de conductas agresivas hacia este (González-Mariscal & Poindron, 2002). Esta conducta en los roedores es más intensa en la lactancia temprana, y es mayor si las crías están presentes (González-Mariscal & Melo, 2013; Melo y cols., 2009).

En la rata hembra se muestra solicitudes activas al macho durante el proestro tardío, cuando ella es sexualmente activa (Beach, 1976; Pfaus, Smith, y Coopersmith, 1999); o intensos enfrentamientos agonísticos durante la lactancia, mientras se encuentra en el nido con las crías (Erskine, Barfield, y Goldman, 1978; Ferreira & Hansen, 1986). Estas respuestas se evocan de los machos, ya sea por acercamientos y montajes (Beach, 1976; Pfaus y cols., 1999), o de huidas y sumisiones (Ferreira & Hansen, 1986). Tales reacciones opuestas conducen a que la actividad sexual y la agresión materna son comportamientos mutuamente excluyentes provocadas por el conflicto de motivaciones, apoyando la idea de que la inhibición de las motivaciones competitivas es requerida para la expresión óptima de un comportamiento dado (Afonso, Sison, Lovic, y Fleming, 2007; Numan, 2006; Numan & Insel, 2003).

VIII.I.I Hormonas implicadas en la AM

En general, se ha considerado que la agresión maternal es acarreada por los cambios en los patrones endócrinos característicos al final de la gestación, parto y lactancia (Mayer & Rosenblatt, 1993). A pesar de ser controversial, muchos estudios muestran cambios en las hormonas ováricas, prolactina y oxitocina asociándolas a la expresión de la agresión maternal (Mayer, Ahdieh y Rosenblatt, 1990; Mayer, Monroy y Rosenblatt, 1990; Mayer, Reisbick y Rosenblatt, 1987).

La estimulación sensorial proveniente de las crías es necesaria para la iniciación y mantenimiento de la agresión maternal. Una de las señales más importantes recibidas por la madre para proyectar este comportamiento es la estimulación de la camada, otros factores pueden contribuir como los cambios en la percepción de las señales olfatorias de las crías y un contraste de estos olores con los de un macho intruso (Ferreira, Dahlof y Hansen, 1987; Ferreira & Hansen, 1986).

Estudios recientes han mostrado que la agresión materna en ratas lactantes es dependiente sobre las emociones innatas y correlacionadas con la liberación de oxitocina dentro del cerebro en el

núcleo paraventricular (PVN) y amígdala centro medial (CeA). Un posible mecanismo de acción de la oxitocina en el PVN en la regulación de la conducta agresiva materna podría ser a través de la inhibición de la hormona del sistema cerebral liberadora de corticotropina (CRH). La inyección intracerebral de CRH ha mostrado recientemente que inhibe la agresión en ratones lactantes, y la inhibición de CRH podría ser necesario para la agresión materna (Gammie y cols, 2004). En apoyo de esta hipótesis, la oxitocina cerebral inhibe la actividad de las neuronas CRH (Windle y cols., 2004), y, en concreto, la oxitocina liberada dentro del PVN inhibe la actividad del sistema hipotálamo-pituitario adrenal (Neumann y cols., 2000a), que es impulsado principalmente por las neuronas CRH.

Como se ha mencionado, la regulación de las conductas afiliativas y agonistas es dependiente de las hormonas presentes en el circuito materno y sistema límbico. Siendo este un factor importante para el estudio de las interconexiones cerebrales y conductuales. **Tabla 2.**

	CONDUCTA MATERNA		CONDUCTA SEXUAL	AGRESIÓN MATERNA
	Preparto	Postparto	Postparto	Postparto
ESTRÓGENOS	+	+	+++	+
PROGESTERONA	+++	+	+++	+
ESTRADIOL	+	+++	+	+
PROLACTINA	++/+	+++	+	+++
OXITOCINA	+	++	+	+++

+ (Niveles bajos), ++ (Niveles intermedios) y +++ (Niveles altos)

Tabla 2 Resumen de hormonas participantes en las conductas afiliativas y agonista.

Diversas hormonas participan durante el curso de la gestación, minutos antes de que se lleve a cabo el parto y posterior a éste. El aumento o disminución de las hormonas es dependiente de las conductas afiliativas (conducta sexual o conducta maternal) y agonista (agresión materna), que se esté expresando o liberando en las estructuras cerebrales implicadas en el circuito materno.

VIII.I.II Estructuras cerebrales implicadas en la AM

La coexpresión de motivaciones sexuales y de agresión materna hacia el macho puede implicar la activación de vías neurales separables y parcialmente independientes y, por lo tanto, promoviendo alguno de estos comportamientos pueden no afectar a la expresión de la otra (Cacioppo, Gardner, y Berntson, 1999; Norris, Gollan, Berntson y Cacioppo, 2010).

En estudios recientes muestran que la conducta sexual, agresiva o una mezcla de estas son generadas por la superposición de los circuitos mesocorticolímbico en el NAc (Reynolds & Berridge, 2002, 2008).

IX SISTEMA LÍMBICO

Ante esta amplia gama de conductas todas se encuentran relacionadas con el sistema límbico que presentan una enorme diversidad anatómica y funcional. Existen dos estructuras subcorticales clave, la formación hipocámpal y la amígdala, cada una de ellas forma circuitos distintos con el resto del encéfalo. Los circuitos hipocámpales son esenciales para consolidar la memoria a corto plazo en memoria a largo plazo y para la memoria espacial. Los circuitos de la amígdala intervienen básicamente en las emociones y en sus expresiones conductuales como la furia, así como en funciones viscerales y olfativas (Morgane y cols., 2005). El circuito neuronal en el cual se incluye la corteza se denomina sistema dopaminérgico mesolímbico, por lo que una alteración de los circuitos provoca muchos cambios en la actividad dopaminérgica después de que se ha alcanzado el estado crítico del desarrollo (Weinberger & Lipska, 1995).

Debido a que el hipocampo ejerce un gran control modulador sobre la corteza prefrontal y núcleo Accumbens (ver **Figura 7**), (Grace, 2000), una disfunción de esta estructura produce alteraciones conductuales, pero el efecto es diferente en función del grado del neurodesarrollo en que la lesión ocurre (Grace, 2000).

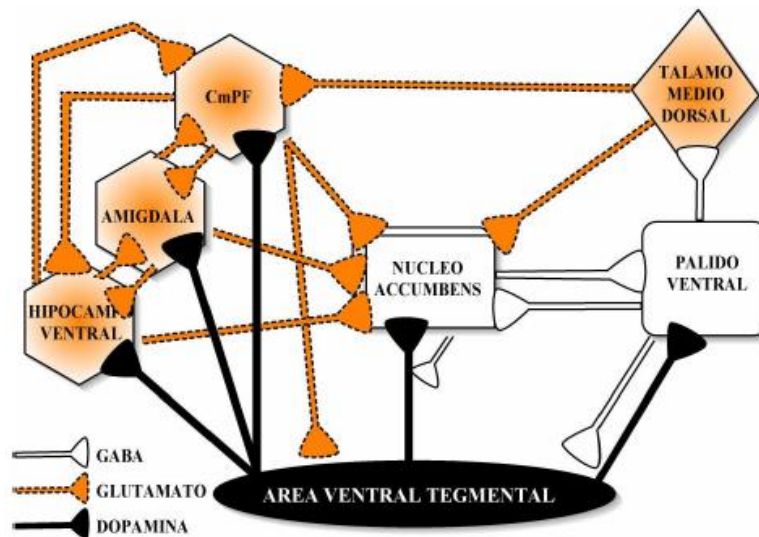


Figura 7 Esquema general del sistema mesocorticolímbico.

Tomado y modificado de Piercea & Kumaresana, 2006; Cardinal y cols., 2002; Morgane & Mokler, 2006

IX.I Corteza media Prefrontal

La corteza media prefrontal (CmPF) es una región heterogénea y está dividida en tres regiones diferentes, la *corteza media prefrontal* que constituye la mayor porción de la pared media del hemisferio anterior y dorsal del cuerpo calloso. Una región cortical ventral que comprende la *corteza orbital prefrontal* y una región lateral en la que se localiza la *corteza insular granular* (Heidbreder & Groenewegen, 2003). El área prefrontal tiene una relevante participación desde el punto de vista de cambios cognitivos, así tenemos que se ve afectada la fluidez del habla y del

pensar, las relaciones afectivas, el juicio social, la abolición y la motivación, la planificación e identificación de metas, la organización temporal de la conducta y la atención.

La CmPF ocupa la mayor parte de las circunvoluciones frontal superior, media e inferior. Está vinculada con la constitución de la personalidad. Regula la profundidad de los sentimientos y está relacionada con la determinación de la iniciativa y el juicio. Las áreas prefrontales son importantes para establecer las estrategias de memorización. La memoria no es un registro pasivo de lo que sucede alrededor sino un proceso activo, en el cual se decide qué desea recordar, a qué dirigir su atención para conservarlo. Algo similar sucede al evocar, se recuerda mejor de lo que le interesa, y la organización de los recuerdos depende de los propósitos del momento.

En general se considera que la CmPF es una región relacionada tanto con la experiencia como con la expresión emocional, y es crítica para el procesamiento de emociones asociadas con situaciones sociales y personales complejas (Damasio, 1997). Se ha establecido una asociación directa entre la región prefrontal de la corteza cerebral y la emoción, la cual se ha sugerido que es debida a las conexiones eferentes glutamatérgicas que inervan hacia el NAc.

La CmPF proyecta con neuronas glutamatérgicas a la SNC y AVT, que son fuentes de proyecciones dopaminérgicas estriatales y mesocorticolímbicas, respectivamente (Sesack & Pikel, 1992). Las eferentes glutamatérgicas de la CmPF hacia el VTA controlan la salida dopaminérgica de esta área hacia el NAc (Gotto & O'Donnell, 2004). Gracias a estudios anatómicos y conductuales se ha demostrado que la CmPF está conformada de diversas subregiones que son funcionalmente distintas, se ha clasificado en tres áreas agranulares: corteza media prefrontal (CmPF), región orbital y región del campo de los ojos. Para su estudio se ha dividido en áreas corticales como la corteza del cíngulo, corteza prelímbica y corteza infralímbica. En el área prefrontal de la corteza cerebral existe también una amplia innervación dopaminérgica proveniente del AVT (Morgane, 2006).

La CmPF consta de una capa delgada de neuronas que cubre todas las circunvoluciones cerebrales. Presenta 6 capas sucesivas de células de distintos tipos. La mayor parte de estas son células granulosas y células piramidales (**Figura 8**) (Kandel, 2000). Las capas que conforman a la corteza son:

- ✚ *Capa I (capa molecular o plexiforme).* Esta capa es la más superficial, contiene principalmente fibras nerviosas que derivan de las dendritas apicales de las neuronas piramidales subyacentes y de los axones de las neuronas piramidales invertidas, también llegan aquí algunos axones provenientes del tálamo y de fibras comisurales.
- ✚ *Capa II (capa granular externa)* está constituida por una gran cantidad de neuronas estrelladas o granulares y algunas neuronas piramidales pequeñas que hacen conexión con otras áreas corticales del mismo hemisferio.

- ✚ *Capa III (capa piramidal externa)* está compuesta por neuronas piramidales de tamaño mediano y grande. Las dendritas de estas neuronas terminan en la capa molecular mientras que sus axones se dirigen a las capas más profundas proyectándose luego hacia otras áreas corticales y con el hipotálamo.
- ✚ *Capa IV (granular interna)* constituida por neuronas estrelladas o granulares (principalmente interneuronas del circuito local) distribuidas en forma muy compacta.
- ✚ *Capa V (piramidal interna)* constituida por grandes neuronas piramidales algunas neuronas estrelladas y pirámides invertidas o neuronas de Martinotti. En la corteza motora primaria existen neuronas piramidales gigantes que reciben el nombre de neuronas de Betz, que hacen conexión con el NAcc, NAcsh, hipotálamo, áreas subcorticales, infralímbicas y motivacionales.
- ✚ *Capa VI (polimórfica o multiforme)* constituida por neuronas de variadas formas. Entre ellas están las neuronas fusiformes, piramidales modificadas, neuronas de Martinotti.

En general se puede decir que las capas I, II y III funcionan fundamentalmente como asociación intracortical, mientras que la capa IV recibe la mayoría de las proyecciones específicas del tálamo. Las capas V y VI son fundamentalmente las capas eferentes de la corteza. De ellas se originan las proyecciones hacia otras áreas corticales y núcleos subcorticales. En la rata la diferenciación entre las capas de la CMPF es compleja porque se trata de una zona muy empaquetada al lado de la línea media del cerebro. Se distinguen tan sólo cuatro: la capa I, II/III, V y VI. La capa I es la más fácil de delimitar ya que en ella no existen somas de neuronas piramidales (McCormick y cols., 1985). El cuerpo de las neuronas piramidales se localiza principalmente en las capas II/III (pequeñas pirámides), V (grandes pirámides) y VI (polimorfos o células fusiformes). Las dendritas apicales de las neuronas piramidales se disponen perpendicularmente a la línea media y terminan en capa I.

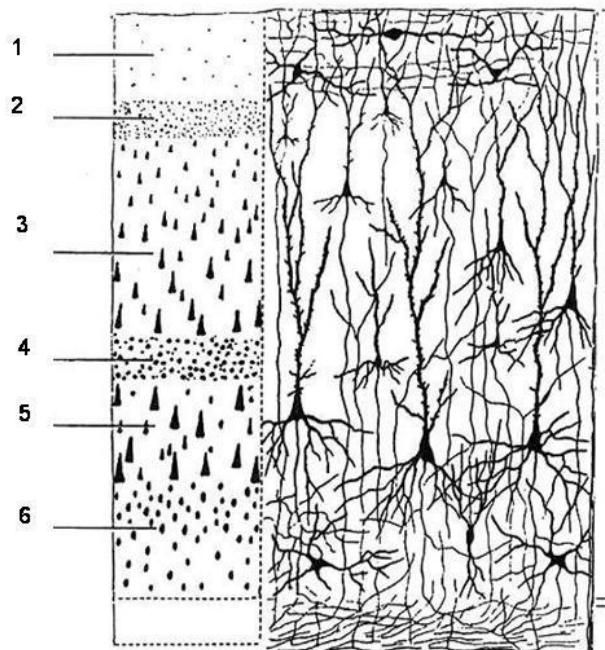


Figura 8 Capas de la corteza cerebral con tinción de Golgi.

Capa 1: molecular, capa 2: granular externa, capa 3: células piramidales externas, capa 4: granular internas, capa 5: células piramidales internas, capa 6: polimorfa o de las células fusiformes. (Tomado de Kandel, 2000).

IX.II Núcleo accumbens

El Núcleo Accumbens (NAc) pertenece al estriado ventral (Voorn y cols., 2005), el cual se ha involucrado en la integración entre motivación y acción motora conocida como interface límbico-motora (Fernández Espejo, 2000). Donde el NAc es parte del estriado ventral en los ganglios basales; esto ha llevado a decir que el papel neurobiológico del NAc es transferir información motivacional relevante para que se realicen actos motores o, en otras palabras, reconocer situaciones de importancia adaptativa para que el animal desarrolle una conducta apropiada. La células que predominan en el NAc son las neuronas espinosas medianas, estas son de tipo GABAérgico comprenden el 95% de la población total (O' Donnell & Grace, 1993), el resto de la población está comprendida por interneuronas GABAérgicas y colinérgicas.

El NAc recibe aferencias de la CmPF, hipocampo (Hc) y amígdala. La amígdala, a su vez, presenta conexiones con otras regiones cerebrales que controlan las emociones (sistema límbico) y desempeña un papel importante en la modulación del estrés y del estado de ánimo. Por otro lado, la corteza frontal integra la información sensitiva adquirida a través del gusto y el olfato, entre otros, permitiendo la asociación entre la información obtenida y los mecanismos de recompensa que, en forma conjunta, son los responsables de las manifestaciones que se producen durante la fase de abstinencia y avidez. Además recibe aferencias del tálamo y proyecciones del pálido ventral, AVT y del hipotálamo lateral (Zahm, 2000). El NAc está asociado a la integración de las vías límbicas y cognitivas, y está involucrada primordialmente con la regulación de la función motora. Además, es blanco de varias sustancias de abuso incluyendo la cocaína, anfetamina, heroína, morfina, nicotina y alcohol (Berke & Hyman, 2000).

El neurotransmisor DA, liberado por las neuronas del AVT que inervan al NAc, activa receptores de dopamina (dopaminérgicos), principalmente de un tipo particular llamado D1, en las neuronas neoestriatales. Estos receptores están acoplados a una cadena de señalización intracelular. Su activación hace que aumente la excitación que ejerce la actividad cortical sobre las neuronas espinosas del NAc (Beninger, 1998); esto aumenta la activación (desinhibición) de las neuronas tálamo-corticales que activan a los músculos agonistas, y por lo tanto, facilita los movimientos (Alexander., 1990).

Pero hay que recordar al NAc como centro regulador del placer y premio-recompensa. Dentro del sistema nervioso el NAc juega un papel importante en el control límbico del movimiento, en el procesamiento sensorial y cognitivo. Muchos neurotransmisores ejercen su mecanismo de acción

permitiendo la entrada de calcio, como los receptores de tipo NMDA, lo que incrementa la liberación del neurotransmisor determinado. Estos receptores se denominan ionotrópicos. Al activarse otro tipo de receptores, conocidos como metabotrópicos, desencadenan la activación del segundo mensajero (cAMP, cGMP, Ca^{2+} y IP3) y se generan proteínas de elementos de unión (CREB, response element binding protein), lo que inicia cambios, algunas veces perdurables, en la expresión génica de la célula, incluyendo a los mismos receptores. La activación de éstos ocurre principalmente en el NAc y en el AVT, lo que provoca activación y liberación de dopamina y se traduce como efecto de recompensa (Tecuatl, 2013).

Las proyecciones dopaminérgicas mantienen distintas topografías dentro de las subdivisiones del estriado dorsal y las dos subdivisiones del NAc, la *shell* (NAcsh) y el *core* (NAcc) (Usada y cols., 1998). Estas subregiones se basan en las diferencias anatómicas y bioquímicas. El *shell* presenta conexiones de carácter límbico recibiendo importantes entradas glutamatérgicas desde el hipocampo y la amígdala centromedial; así como dopaminérgica desde el AVT. El *core* es una extensión del estriado dorsal, que presenta un carácter motor: recibe aferencias glutamatérgicas de la corteza motora y dopaminérgica de la sustancia nigra compacta, y presenta conexiones GABAérgicas de salida hacia el pálido ventral que forman parte de los ganglios basales (Heimer y cols., 1997). La dopamina procedente tanto del AVT y SNC, parecen ser esenciales para la activación neuronal normal durante la programación límbica y motora, donde la DA del AVT actúa en el *shell* modula el potencial de acción y la DA del SNC lo refuerza en procesos como la ingesta, la conducta sexual, la recompensa, la autoadministración de drogas, respuesta al estrés y la acción de los neurolépticos (Fernández-Espejo, 2000).

X JUSTIFICACIÓN

Uno de los principales problemas asociado a madres con esquizofrenia es el deterioro en proporcionar cuidado práctico y emocional a sus hijos. Durante la maternidad las mujeres diagnosticadas con esquizofrenia tienden a ser más aisladas, conductualmente menos sensibles y menos responsables con sus hijos. Durante la alimentación y el cuidado, estas madres muestran tensa y escasa conducta social, y menos contacto físico con los infantes. El infanticidio materno es frecuentemente asociado con enfermedades mentales, especialmente con la psicosis postparto y la esquizofrenia. Estos sucesos pueden ocurrir durante episodios de delirios, cuando la mujer manifiesta disfunción cognitiva y desorganización, comportamiento bizarro, confusión, alucinaciones, y pensamientos obsesivos de daño al infante (González-Mariscal & Melo, 2013).

Factores ambientales como el estrés exacerba las alteraciones conductuales y se ven afectadas las responsabilidades maternas hacia los infantes, una situación que conduce a los malos cuidados maternos (González-Mariscal & Melo, 2013).

En estudios neurobiológicos han mostrado por separado una asociación en la esquizofrenia, la conducta sexual, materna y agresión materna con la vía mesolímbica-mesocortical. Es decir, las interconexiones existentes entre el sistema límbico, el área preóptica media, la corteza media prefrontal, el núcleo accumbens, entre otros núcleos vinculados con la vía mesocorticolímbica y el circuito materno. Debido a que hay núcleos relacionados con las diversas conductas afiliativas o agonistas y la esquizofrenia de manera experimental este modelo, es una posible vía para integrar estas interconexiones neuronales y evaluar algunas alteraciones con la finalidad de dar más evidencia científica que permitan esclarecer el impacto de este trastorno.

XI HIPÓTESIS

La exposición aguda de un factor estresante al nido materno, alterará la morfología de neuronas de la corteza media prefrontal y núcleo accumbens de madres lactantes con lesión de hipocampo ventral.

XII OBJETIVOS

XII.I Objetivo general

Evaluar los cambios citoarquitectónicos de las neuronas piramidales de la corteza media prefrontal y neuronas espinosas medianas del núcleo accumbens en el modelo de lesión de hipocampo ventral en madres a los 7 días postparto expuestas a un macho.

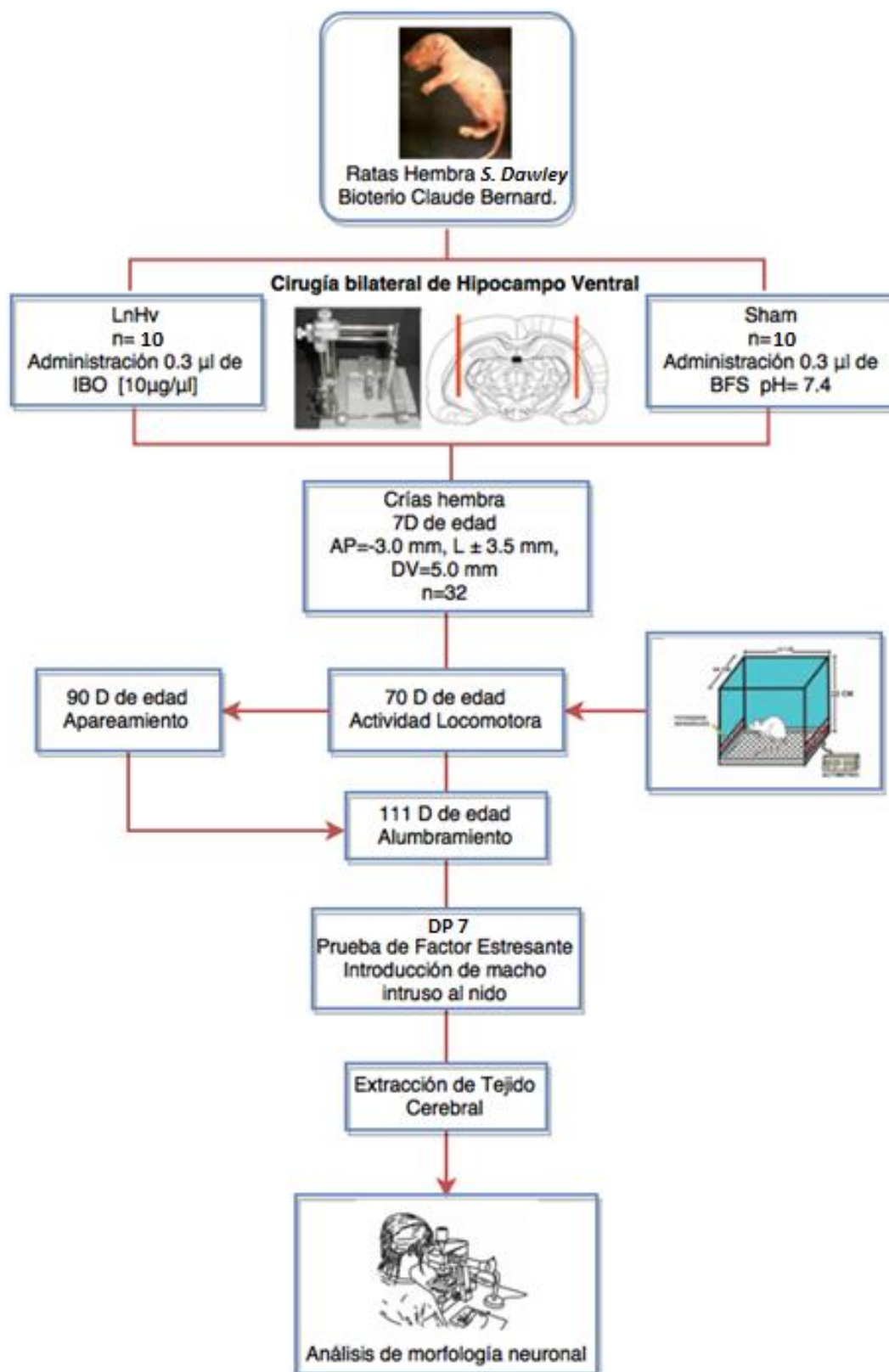
XII.II Objetivos particulares

Evaluar el efecto estresante en el modelo de lesión de hipocampo ventral en ratas madre a los 7 días postparto sobre la citoarquitectura de:

- a) Neuronas piramidales en la corteza media prefrontal en la región Capa III y V.
- b) Neuronas espinosas medianas en el núcleo accumbens.

XIII METODOLOGÍA Y MATERIAL

XIII.I DIAGRAMA DE TRABAJO



XIII.II REPRODUCCIÓN DEL MODELO ANIMAL TIPO ESQUIZOFRENIA

Sujetos de Experimentación

Se utilizaron ratas gestantes de la cepa *Sprague Dawley* provistas por el Bioterio "Claude Bernard" de la Benemérita Universidad autónoma de Puebla. Las ratas fueron albergadas individualmente en un ambiente controlado de temperatura 35°C y humedad 25% con ciclos de luz/oscuridad de 12 horas, con libre acceso a agua y alimento. Las ratas fueron apareadas y diagnosticadas gestantes, con la presencia del botón espermático, el cual fue considerado como el día 0 de gestación. Después del día de nacimiento se obtuvieron 4 crías hembra por madre gestante, las crías obtenidas se emplearon en el experimento al día postnatal 7 (DP 7 o lactancia 7) con un peso aproximado de 15 a 18 g, Las cuales fueron asignados a los grupos control y experimental.

Soluciones

- ✓ Solución salina isotónica NaCl 0.9%
- ✓ Solución amortiguadora de fosfatos salinos (BFS) 0.1 M, pH= 7.4.

Fármacos

- ✓ Ácido iboténico (SIGMA, St. Louis, MO, USA). La solución se preparó con 1 mg de ácido iboténico disuelto en una solución amortiguadora de fosfatos salinos a una concentración 0.1 M y a un pH= 7.4.

Cirugía estereotáxica de la lesión neonatal de hipocampo ventral.

Se utilizaron 20 crías hembra de la cepa *Sprague Dawley* del DP 7, las cuales fueron separadas al azar en 2 grupos.

- a) Grupo Lesión falsa de hipocampo ventral (SHAM) (n=10)
- b) Grupo lesión neonatal de hipocampo ventral (LNHV) (n=10)

Las ratas fueron anestesiadas por hipotermia por un lapso de tiempo de 15 a 20 min, se colocaron en el equipo estereotáxico sobre un adaptador para ratas neonatas, en el cual, se realizó la cirugía estereotáxica para lesionar bilateralmente de hipocampo ventral en las siguientes coordenadas de acuerdo al bregma: AP=-3.0 mm, L=±3.5 mm, DV=5.0 mm (Paxinos & Watson, 1998).

Se hizo una incisión en la piel que recubre el cráneo con un trépano, posicionándolo a 1 mm de distancia del cráneo bajo las coordenadas correspondientes, por lo cual se administró bilateralmente en el hipocampo ventral 0.3 µl de solución de ácido iboténico a una concentración de 10 µg/µl en ratas problema.

Para el grupo SHAM se aplicó el mismo protocolo administrando el vehículo, solución amortiguadora de fosfatos salinos. En ambos casos la administración se realizó durante un periodo

de 2 min/hemisferio, por medio de una bomba de infusión; la cánula se mantuvo por un periodo de 3 minutos más, antes de removerla, para permitir una adecuada difusión del fármaco o vehículo.

Al término de la cirugía se suturó la incisión y se procedió a marcar los sujetos de experimentación con la inyección intradérmica de tinta china en los miembros superiores o inferiores de acuerdo a su grupo, para posteriormente ser colocadas sobre una almohadilla electotérmica hasta su recuperación. Las ratas neonatas, ya recuperadas e identificadas, se regresaron con su madre hasta el periodo de ablactación al día postnatal 21, posteriormente fueron aisladas en grupos de 2 ratas por caja y mantenidas bajo las condiciones antes mencionadas.

Prueba de Actividad Locomotora

Las ratas hembra utilizadas en esta prueba fueron las anteriormente descritas (SHV y LNHV). Al llegar a una edad aproximada de 70 DP se retiraron del bioterio para llevar a cabo la prueba de actividad locomotora, al finalizar esta, fueron devueltas para seguirlas manteniendo bajo las mismas condiciones.

Para llevar a cabo esta prueba las ratas fueron colocadas en cajas de acrílico de 44 cm de largo por 22 cm de ancho y 22 cm de altura. Estas cajas tienen instalados 8 pares de fotodiodos en las paredes laterales (Ver **Figura 9**), de tal forma que el movimiento de las extremidades de la rata interrumpe la trayectoria de un haz de luz infrarroja imperceptible para ella registrando dicha interrupción como un desplazamiento. La contabilización de los desplazamientos se realizó por un actímetro que permite registrar el número de desplazamientos (interrupciones del haz de luz) de los animales en doce intervalos sucesivos de diez minutos cada uno, de modo que el registro de actividad locomotora tuvo una duración de dos horas (Flores, 2005).

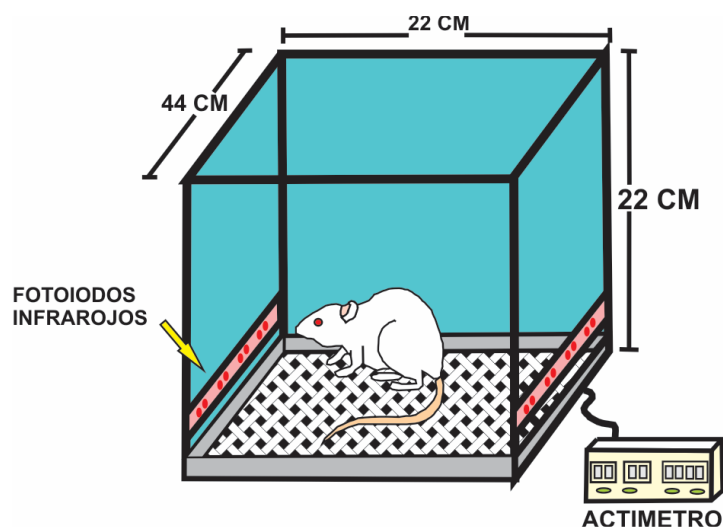


Figura 9 Esquema de las dimensiones del equipo de medición de la actividad locomotora (Tecuatl, 2013)

Exposición de las ratas lactantes ante un factor estresante.

En el día 90 de edad, las hembras SHV y LNHV, se colocaron dentro de una caja de acrílico donde se encontraba un macho sexualmente activo para el apareamiento. Veinte días después se colocaron en cajas individuales para esperar el parto.

En el día postparto 7 (DPP 7) se realizó la prueba de exposición de la rata lactante ante un factor estresor (macho intruso). Para ello se obtuvieron machos sexualmente activos del Bioterio "Claude Bernard" con la característica de ser machos diferentes a los que se utilizaron para el apareamiento de la madre.

La camada de crías fue retirada de la caja y 10 minutos más tarde se volvieron a introducir simultáneamente con el macho intruso, posicionándolos en esquinas opuestas de la caja, lejos del nido. La duración de la prueba se extendió a 60 minutos con la justificación de que la estimulación materna podría retrasar la aparición de la interacción macho-hembra. Al término del registro, las ratas lactantes fueron extraídas y separadas del nido.

Al finalizar la prueba los animales se perfundieron con solución salina (0.9%) y los cerebros se sometieron al proceso de la Técnica de Golgi-Cox.

XIII.III MORFOLOGÍA NEURONAL

Técnica de Golgi-Cox

La técnica de Golgi, es un proceso histológico que revela la morfología neuronal completa en tres dimensiones (Torres - Fernández, 2006). Esta técnica se dio a conocer en 1873 por Camilo Golgi y se le llamó reacción negra, se fundamenta en la formación de depósitos intracelulares de cromato argéntico, producto de la reacción entre el bicromato de potasio y el nitrato de plata, los cuales se depositan en el interior de la neurona, llenando así la matriz citoplasmática, el núcleo y las mitocondrias de las neuronas (Bringas, 2012).

Después de muchos años la técnica de Golgi sigue siendo un método de mucha utilidad práctica para revelar la morfología neuronal (Pannese, 1999; López-García, 1998; Valverde, 2002), ya que es un método sencillo y de bajo costo. La técnica que utilizamos es la que realizó W. Cox en 1991 donde se sustituye la plata por el mercurio.

Solución de Golgi-Cox

La solución de Golgi-Cox está compuesta por:

- ✓ Dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) 170 mM
- ✓ Cloruro de mercurio ($HgCl_2$) 200 mM
- ✓ Cromato de potasio (K_2CrO_4) 200 mM

Esta solución se almacena en un recipiente de vidrio ámbar por 5 días, después de este tiempo se filtra para retirar el precipitado que se forma, esta última solución es la que se utiliza.

Obtención del tejido cerebral para la tinción de Golgi-Cox

Al finalizar el tiempo de registro, se extrajeron las ratas lactantes de la caja de acrílico y se sacrificaron por perfusión intracardiaca para extraer el tejido cerebral.

1. Las ratas fueron anestesiadas con la administración intraperitoneal de pentobarbital sódico a una dosis de 60 mg/kg.
2. Una vez anestesiada la rata, se procedió a hacer un corte en la arteria aorta descendente con el fin de eliminar los eritrocitos del tejido cerebral e inmediatamente después se realizó la perfusión intracardiaca del ventrículo izquierdo con solución salina a una concentración de 0.9% (**Figura 10**).
3. Se procedió a remover los cerebros para ser fijados en aproximadamente 20 ml de la solución Golgi-Cox.
4. Dichos cerebros se almacenaron en total oscuridad durante 14 días, después de ese tiempo la solución de Golgi-Cox fue reemplazada por una solución de sacarosa al 30% y se mantuvieron en total oscuridad por 5 días más, confiriéndole flexibilidad al tejido con el fin de evitar posibles fracturas al corte.
5. Para llevar a cabo el corte del tejido cerebral, se retiró el exceso de la solución de sacarosa y se montaron en la platina de la cámara del vibratomo utilizando cianoacrílico como pegamento, el cerebro fijo se sumergió en solución de sacarosa al 6% hasta que se cubrió el tejido.
6. Se seccionó el tejido en orientación coronal realizando cortes del área más blanda (ventral) a la más dura (dorsal) con un grosor de 200 μ m, dichas secciones se fijaron en portaobjetos (previamente gelatinizadas al 2%) mediante presión.
7. Las laminillas resultantes se colocaron en una cámara húmeda con alcohol al 75%. Una vez se concluyó el corte del tejido, se procedió a realizar el revelado (**Figura 10**).

Técnica de revelado de la tinción Golgi-Cox.

1. La técnica se realizó bajo condiciones de oscuridad.
2. Se realizó el lavado de las laminillas con agua destilada, 5 lavados.
3. Se mantuvieron sumergidas las laminillas en hidróxido de amonio durante 30 minutos.
4. Se realizó otro lavado con agua destilada, 10 lavados.
5. Se sumergieron las laminillas al fijador rápido de Kodak para película fotográfica durante 30 minutos. Se utilizaron en una proporción fijador Kodak-agua destilada 1:3.
6. Se realizó otro lavado con agua destilada, 10 lavados.
7. Se deshidrató el tejido en concentraciones crecientes de etanol:

- ✓ 1 minuto + 10 lavados con alcohol al 75%
 - ✓ 1 minuto + 10 lavados con alcohol al 90%
 - ✓ 10 minutos + 10 lavados con alcohol al 100%
 - ✓ 10 minutos + 10 lavados con alcohol al 100%
 - ✓ 10 minutos + 10 lavados con alcohol al 100%
 - ✓ 15 minutos en xileno para aclaración o desalcoholización del tejido.
8. Se montaron los cortes revelados con resina sintética al 60% (marca Hycel de México), y se cubrieron con cubreobjetos
 9. Se conservaron en completa oscuridad para su secado durante 15 días.

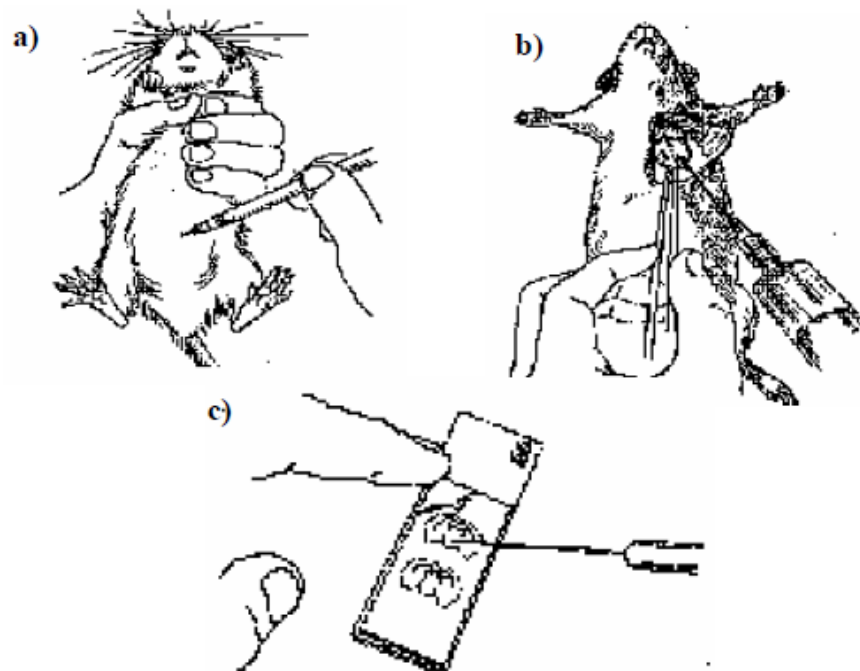


Figura 10 Representación del proceso de perfusión y colocación de cortes cerebrales en laminillas.

a) Administración de pentobarbital sódico (60mg/Kg, vía Intraperitoneal), b) perfusión intracardiaca con solución salina al 0.9% y c) inclusión de los cortes coronales en laminillas gelatinizadas. (Camacho, 2009).

Análisis morfológico

Para llevar a cabo el análisis morfológico, se localizaron las áreas de interés para nuestro proyecto, en este caso las neuronas piramidales de la Corteza media prefrontal capa III y V, además las espinosas medianas del Núcleo Accumbens. Una vez identificadas las regiones de interés se procedió a dibujarlas mediante su observación a 40X utilizando un microscopio óptico marca Leica modelo DMSL acoplado a una cámara lúcida marca Leica (**Figura 11**). Para la

cuantificación de espinas se utilizó el mismo método pero con un objetivo de 100x, tomando en cuenta la dendrita más distal y de mayor número de orden para las espinas dendríticas distales.

Gibb & Kolb en 1998 propusieron algunos criterios para la elección de neuronas: que la neurona se encuentre en la región a analizar, que este bien teñida, que no esté fragmentada y que se encuentre lo suficientemente aislada para poder distinguir las dendritas de la neurona elegida (Gibb & Kolb, 1998; Bringas, 2012).

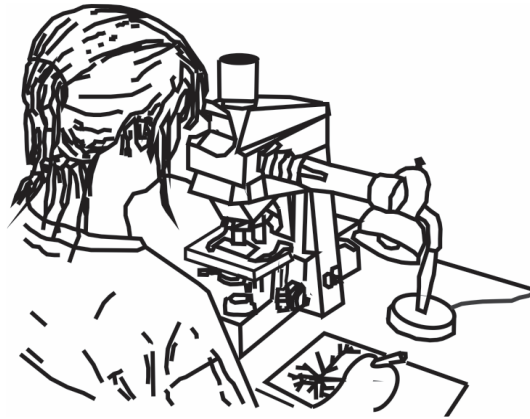


Figura 11 Técnica de dibujo neuronal.

Diagrama en el que se muestra el equipo y acción de observación mediante el uso del microscopio acoplado a una cámara lúcida para el trazado de las neuronas.

A partir de la tinción de Golgi-Cox y el trazado de las neuronas se realizó el análisis morfológico de las neuronas de las diferentes regiones, de las cuales se evaluaron los siguientes parámetros:

- ✚ Arborización neuronal
- ✚ Longitud por número de orden
- ✚ Longitud dendrítica total
- ✚ Número de espinas distales al soma

Localización del área e identificación de neuronas

Neuronas Piramidales de la Corteza media prefrontal Capa III

La capa piramidal externa, formada por neuronas piramidales de tamaño mediano y grande. Las dendritas de estas neuronas terminan en la capa molecular mientras que sus axones se dirigen a las capas más profundas proyectándose luego hacia otras áreas corticales, especialmente del hemisferio del lado opuesto (ver **Figura 12**). Para la localización y trazado de estas neuronas se tomaron en cuenta las características morfológicas de la capa correspondiente y su ubicación fue de acuerdo a Paxinos y Watson (1998). (**Figura 12**).

Neuronas Piramidales de la Corteza media prefrontal Capa V

La capa piramidal interna está formada por grandes neuronas piramidales algunas neuronas estrelladas y piramidales invertidas o neuronas de Martinotti. En la corteza motora primaria existen neuronas piramidales gigantes que reciben el nombre de neuronas de Betz (ver **Figura 12**). En la parte inferior podemos observar un corte coronal correspondiente a la región que cumple las funciones como la CmPF en la rata. Para la localización y trazado de estas neuronas se tomaron en cuenta las características morfológicas de la capa correspondiente y su ubicación fue de acuerdo a Paxinos y Watson (1998) (**Figura 12**).

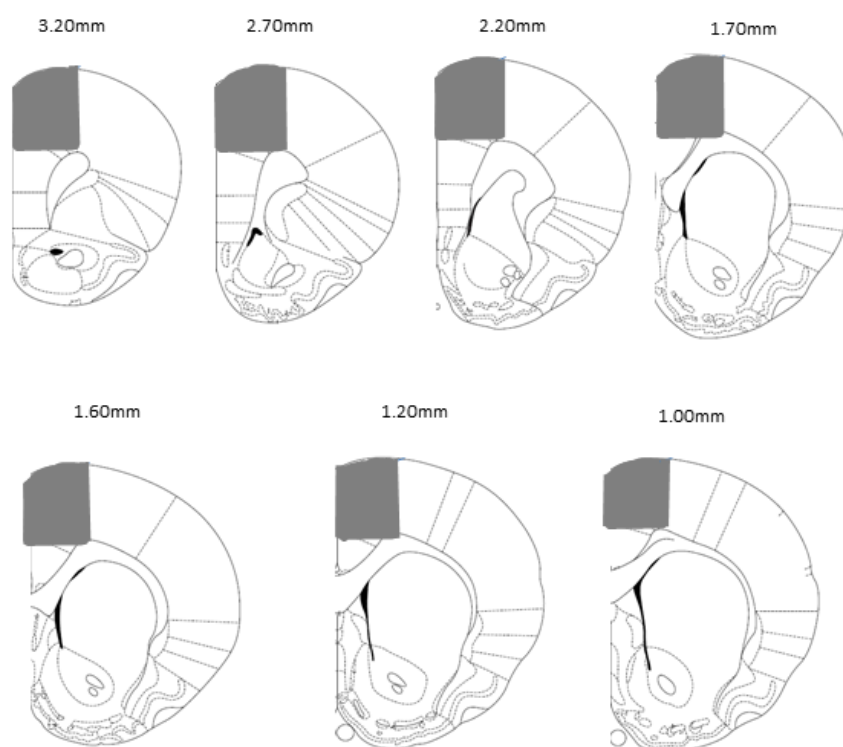


Figura 12 Ubicación neuronal de la corteza media prefrontal

Cortes coronales donde se muestra la ubicación de la región que corresponde a la CmPF en la rata (marcado en color gris), los números indican las distancias anteriores a partir de bregma. Tomado y modificado de Paxinos y Watson (1998).

Neuronas espinosas medianas del Núcleo Accumbens (NAc)

Las principales neuronas espinosas medianas del Núcleo Accumbens conforman el 95% de la población neuronal en este núcleo (Zham, 2000). Generalmente presentan como un soma ovoide o redondo (20-25 μm de diámetro) con 3 a 10 dendritas de primer orden que se extienden radialmente produciendo una morfología estelar. Las dendritas primarias generalmente no presentan espinas, pero las de segundo orden y siguientes están cubiertas de una gran cantidad de espinas (Solis y cols., 2007). Las neuronas que cumplan con estas características serán

elegidas para el análisis. A continuación se muestran los cortes coronales donde podemos encontrar las neuronas espinosas medianas del NAc en sus partes Core (NAcc) y Shell (NAcsh). (Figura 13).

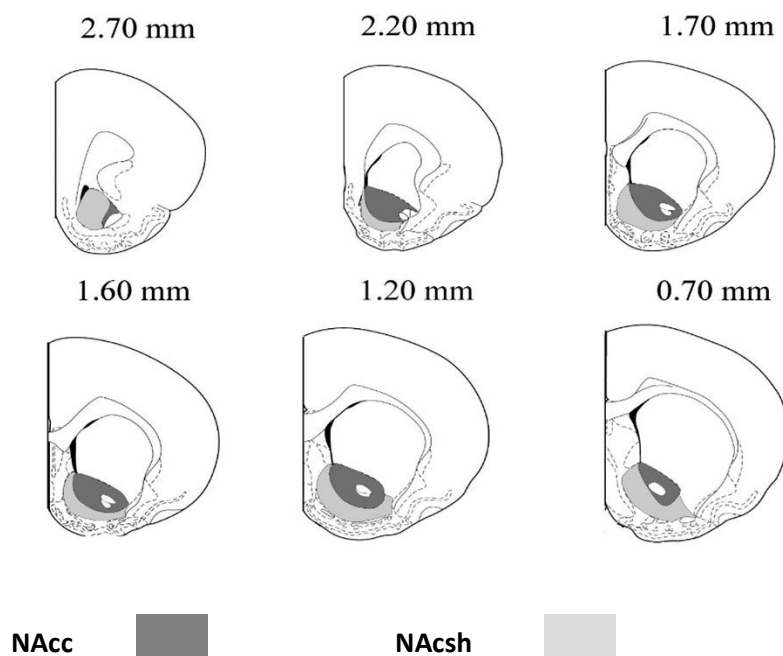


Figura 13 Núcleo Accumbens (NAc) y sus subregiones.

Núcleo Accumbens *core* (NAcc) y shell (NAcsh). Los números indican las distancias anteriores a partir de bregma de acuerdo a Paxinos y Watson (1998).

Análisis de Sholl

Sholl de 1953 a 1956 ideó una técnica que nos permite analizar la longitud de las neuronas. Esta técnica consiste en que una vez estén dibujadas las neuronas, se colorean de acuerdo al orden dendrítico, se toma en cuenta a la dendrita que emerge del soma como primer orden, a la primera bifurcación como segundo orden, segunda bifurcación como tercer orden y así sucesivamente. Después se utiliza una placa transparente, en ella se encuentran círculos concéntricos con una distancia de 10 μ m de separación y el círculo del centro debe coincidir con el soma de la neurona (Kolb y cols., 1998; Bringas y cols., 2013).

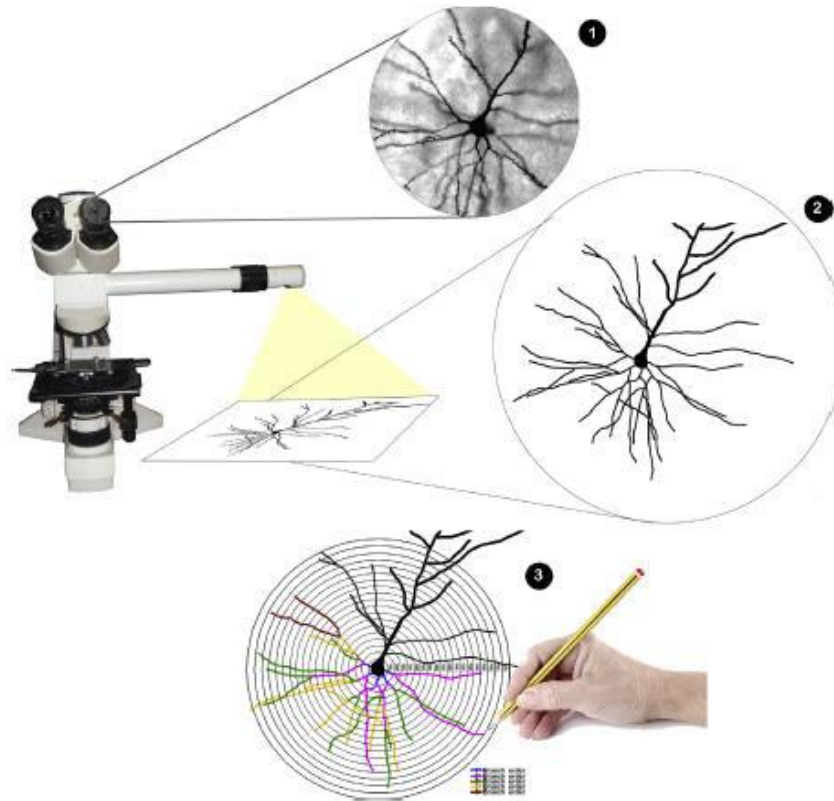


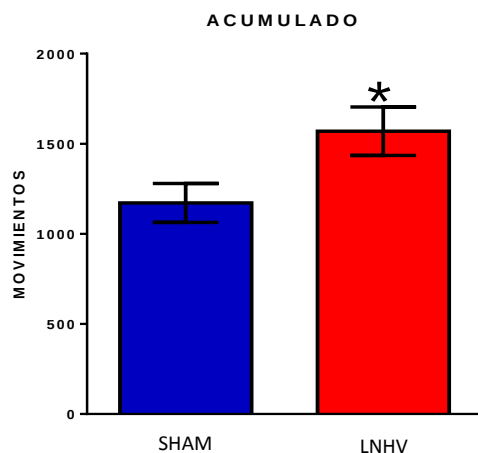
Figura 14 Técnica de Análisis de Sholl

Diagrama de trabajo de la realización de la técnica de Sholl para el análisis morfológico de las células neuronales. (Tomada de Bringas y cols, 2013).

Para analizar la longitud dendrítica y la longitud por número de orden, se colocan los dibujos por debajo de la placa de Sholl y se cuentan el número de dendritas que pasan por cada círculo de la placa. Para analizar la densidad de espinas dendríticas, se dibuja un segmento de aproximadamente 10 μm de la dendrita más distal al soma, y posteriormente se contabiliza la cantidad de espinas que hay en 30 μm de longitud de la dendrita (Juárez y cols., 2003).

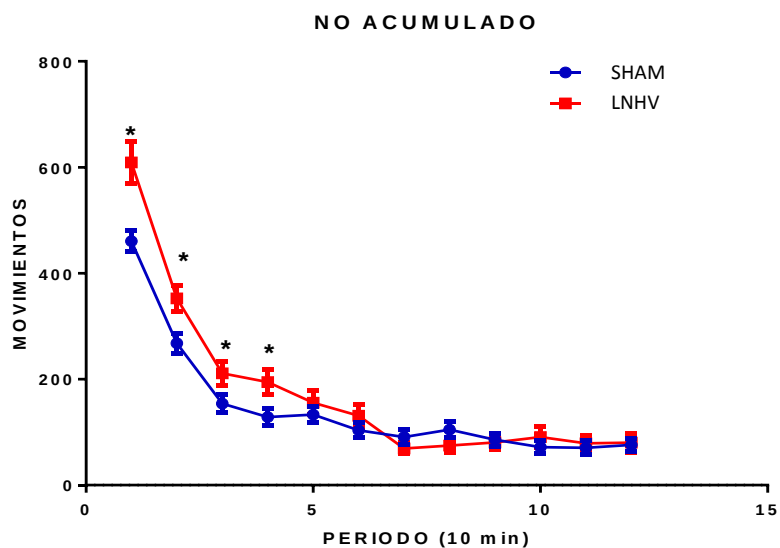
XIV RESULTADOS

XIV.I ACTIVIDAD MOTORA



Gráfica 1 Actividad motora ante ambiente nuevo total.

El estudio se realizó en ratas hembras de 70 días de edad, las barras muestran un incremento en el número de movimientos (interrupciones del haz de luz) acumuladas durante 120 minutos del grupo con LNHV con respecto al grupo SHAM. El análisis estadístico se evaluó $\pm$ EEM por medio de una *t*-student con una $p < 0.05$.



Gráfica 2 Actividad Motora ante ambiente nuevo en línea temporal.

El estudio se realizó en ratas hembras de 70 días de edad, se observa un aumento significativo entre el grupo con LNHV con respecto al grupo SHAM en los primeros 4 periodos de la prueba. Se realizó una prueba ANOVA de 1 vía para medidas repetidas con una post hoc Newman-Keuls con una $p < 0.05$.

XIV.II MORFOLOGÍA NEURONAL

XIV.II.I Corteza media Prefrontal Capa III

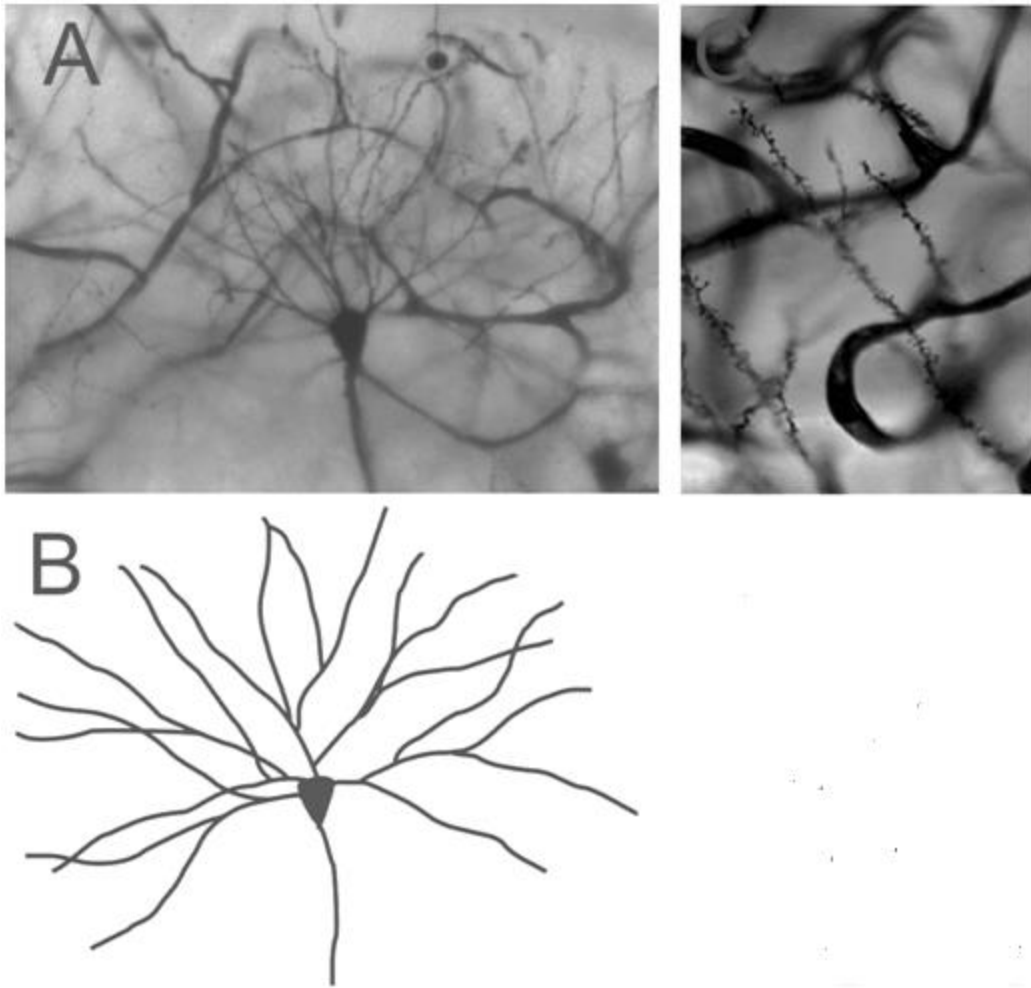
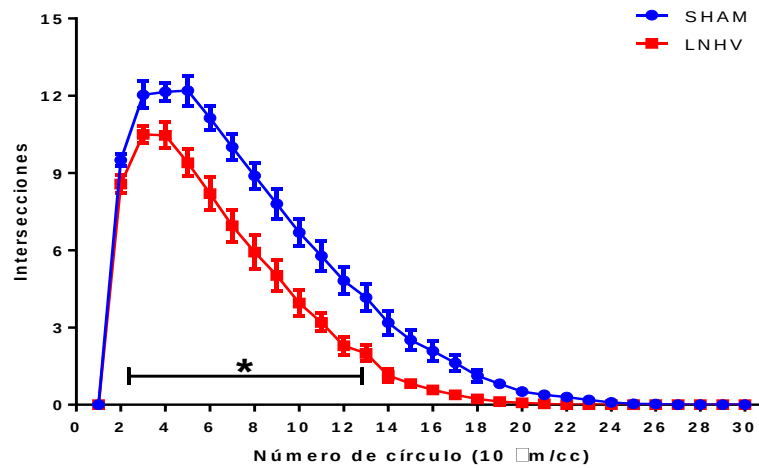


Figura 15 Neuronas piramidales de la corteza media prefrontal capa III

A) Fotomicrografía de una neurona piramidal característica de la corteza media prefrontal capa III de una rata de 90 días de edad, tomada a 40x utilizando la tinción de Golgi-cox, B) reconstrucción de la neurona en dos dimensiones, C) espinas dendríticas distales.

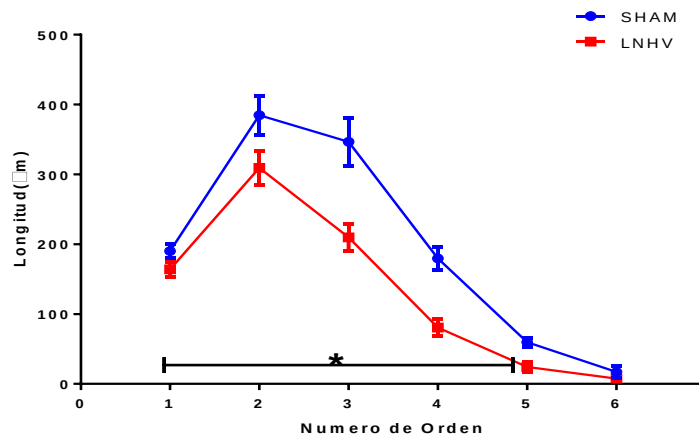
ARBORIZACIÓN DENDRÍTICA



Gráfica 3 Arborización dendrítica de las neuronas piramidales de la CmPF capa III.

Los valores indican el número promedio de dendritas por cada 10 micras. Se encontró una disminución significativa en la arborización dendrítica de los círculos 3 al 13 en el grupo con LNHV con respecto al grupo SHAM. Se evaluó con una ANOVA de 1 vía con una post hoc Newman-Keuls, $p < 0.05$.

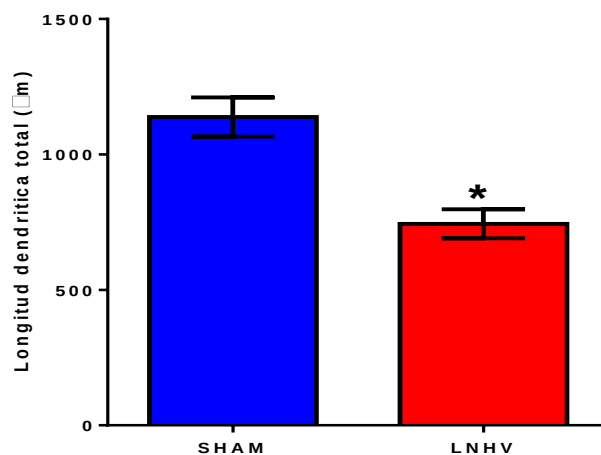
NÚMERO DE ORDEN



Gráfica 4 Longitud por número de orden de las neuronas piramidales de la CmPF capa III.

Se observan una disminución significativa entre el grupo con LNHV con respecto al grupo SHAM. Se evaluó con una ANOVA de 1 vía con una post hoc Newman-Keuls, $p < 0.05$.

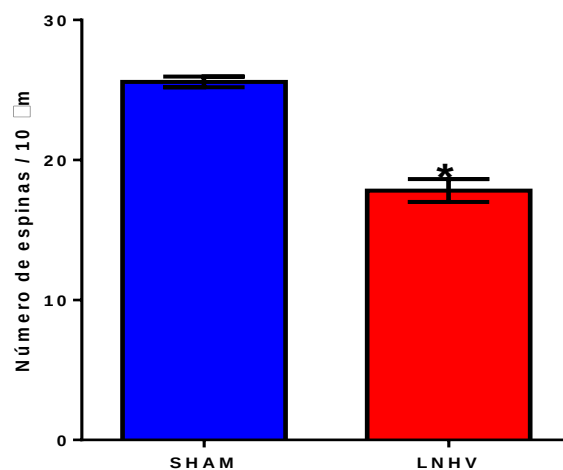
LONGITUD DENDRÍTICA TOTAL



Gráfica 5 Longitud dendrítica total de las neuronas piramidales de la CmPF capa III.

Los valores indican el número promedio de dendritas totales. Se encontró una disminución significativa en la longitud dendrítica total en el grupo con LNHV con respecto al grupo SHAM. El análisis estadístico se evaluó $\pm$ EEM por medio de una t -student con una $p < 0.05$.

NÚMERO DE ESPINAS DENDRÍTICAS DISTALES



Gráfica 6 Número de espinas dendríticas distales de las neuronas piramidales de la CmPF capa III.

Los valores indican el número promedio de espinas dendríticas distales. Se encontró una disminución significativa en el grupo con LNHV con respecto al grupo SHAM. El análisis estadístico se evaluó $\pm$ EEM por medio de una t -student con una $p < 0.05$.

XIV.II.II Corteza media Prefrontal Capa V

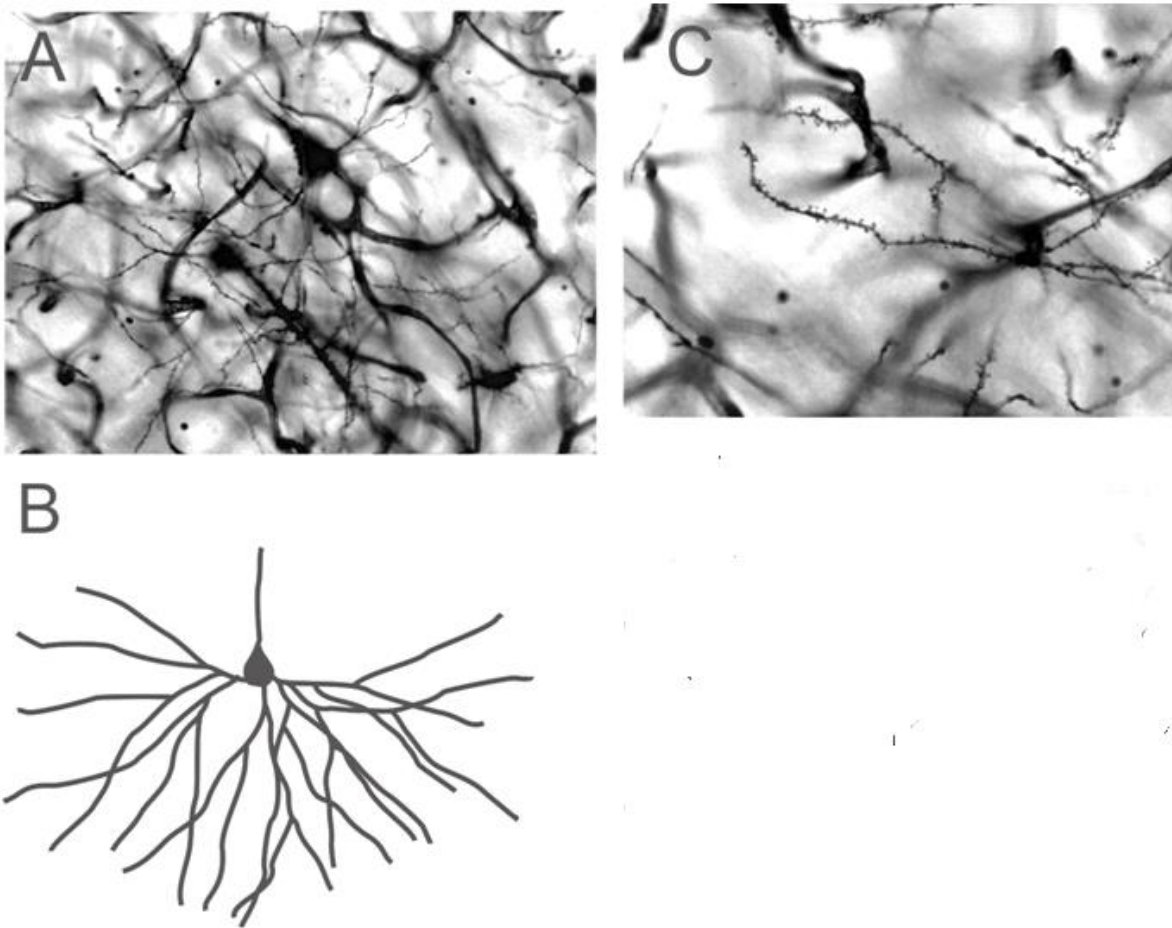
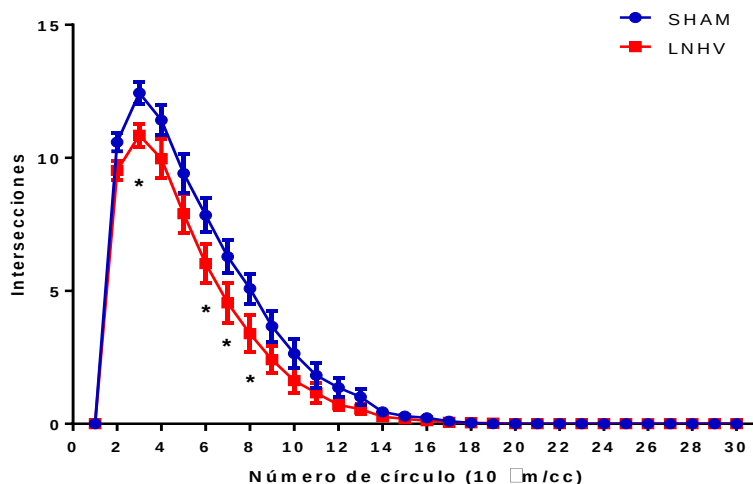


Figura 16 Neuronas piramidales de la Corteza media Prefrontal capa V

A) Fotomicrografía de una neurona piramidal característica de la corteza media prefrontal capa V de una rata de 90 días de edad, tomada a 40x utilizando la tinción de Golgi-cox, B) reconstrucción de la neurona, en dos dimensiones, C) espinas dendríticas distales.

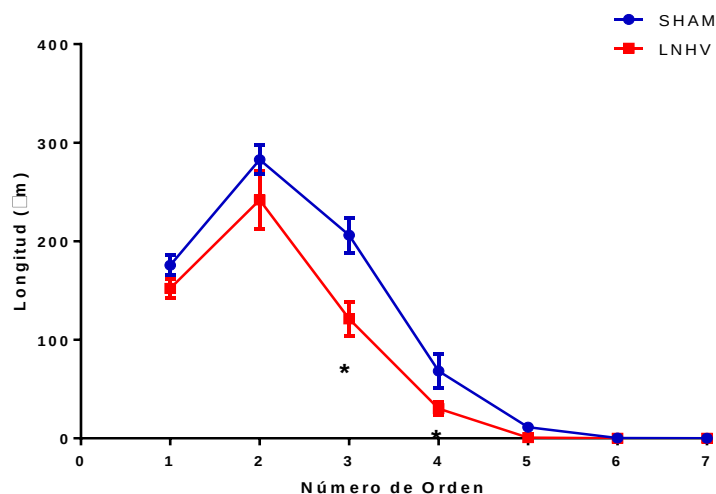
ARBORIZACIÓN DENDRÍTICA



Gráfica 7 Arborización dendrítica de las neuronas piramidales de la CmPF capa V.

Los valores indican el número promedio de dendritas por cada 10 micras. Se observó una tendencia general a disminuir en el grupo con LNHV con respecto al grupo SHAM. Sin embargo realizando un estudio punto por punto encontramos una disminución significativa en la arborización dendrítica en los círculos 3, 5, 6, 7 y 8 del grupo con LNHV con respecto al SHAM. Se evaluó con una ANOVA de 1 vía con una post hoc Newman-Keuls, $p < 0.05$.

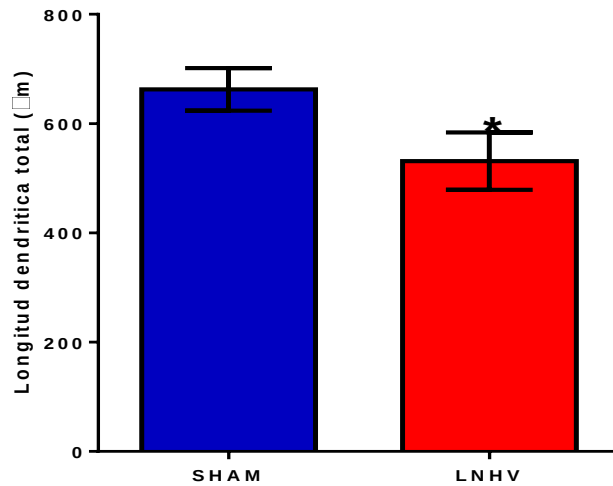
NÚMERO DE ORDEN



Gráfica 8 Longitud por número de orden de las neuronas piramidales de la CmPF capa V.

Los valores indican el número promedio de dendritas por número de orden. Se observó una disminución significativa en la longitud por orden de neuronas en el orden 3 y 4 en el grupo con LNHV con respecto a grupo SHAM. Se evaluó con una ANOVA de 1 vía con una post hoc Newman-Keuls, $p < 0.05$.

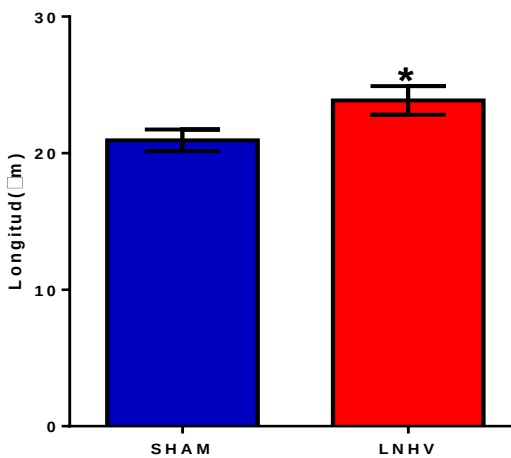
LONGITUD DENDRÍTICA TOTAL



Gráfica 9 Longitud dendrítica total de las neuronas piramidales de la CmPF capa V.

Se encontró una disminución significativa en la longitud dendrítica total en el grupo con LNHV con respecto al grupo SHAM. El análisis estadístico se evaluó $\pm$ EEM por medio de una *t*-student con una $p < 0.05$.

NÚMERO DE ESPINAS DENDRÍTICAS DISTALES



Gráfica 10 Número de espinas dendríticas distales de las neuronas piramidales de la CmPF capa V.

Los valores indican el número promedio de espinas dendríticas distales. Se encontró un incremento significativo entre el grupo con LNHV con respecto al grupo SHAM. El análisis estadístico se evaluó $\pm$ EEM por medio de una *t*-student con una $p < 0.05$.

XIV.II.III Núcleo Accumbens

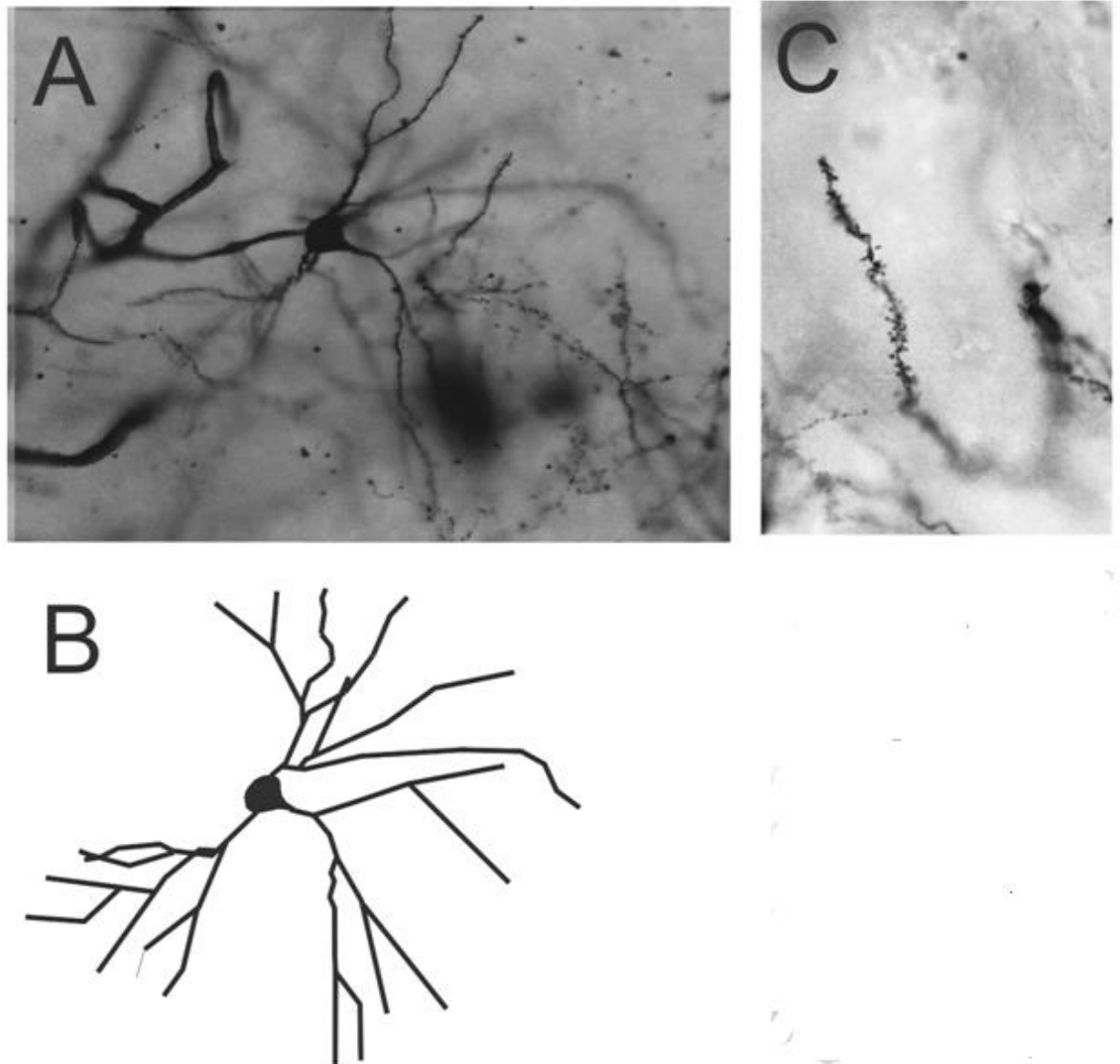
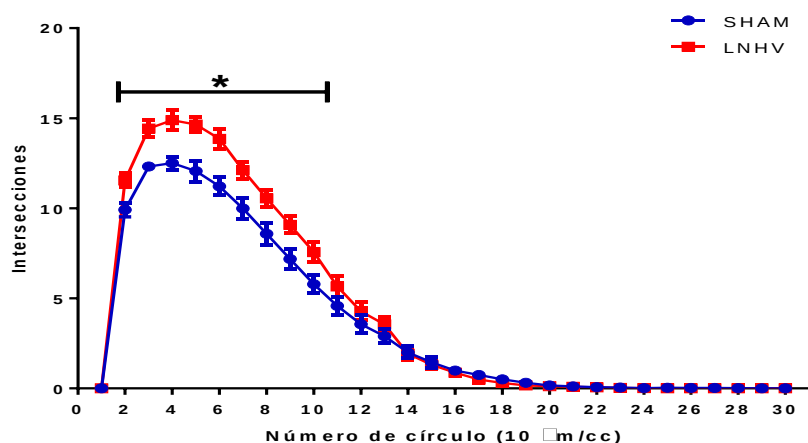


Figura 17 Neuronas espinosas medianas del núcleo accumbens.

A) Fotomicrografía de una neurona espinosa mediana del NAc de una rata de 90 días, tomada a 40x utilizando la tinción de Golgi-cox. B) Reconstrucción de la neurona en dos dimensiones. C) Fotomicrografía de las espinas dendríticas distales de la neurona.

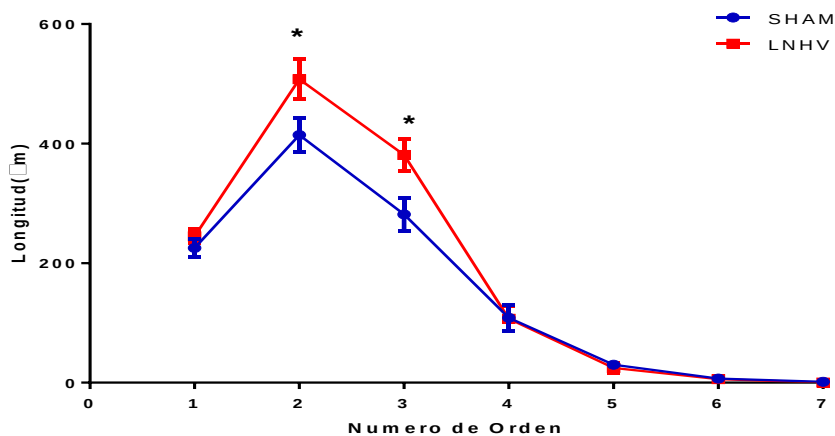
ARBORIZACIÓN DENDRÍTICA



Gráfica 11 Arborización dendrítica de las neuronas espinosas medianas del Núcleo Accumbens.

Los valores indican el número promedio de dendritas por cada 10 micras. En contraste con la mayoría de los resultados obtenidos en la CmPF (excepto en el número de espinas de la capa V), se encontró un aumento significativo en la arborización dendrítica de las neuronas en el NAc del grupo con LNHV con respecto al grupo SHAM. Se evaluó con una ANOVA de 1 vía con una post hoc Newman-Keuls, $p < 0.05$.

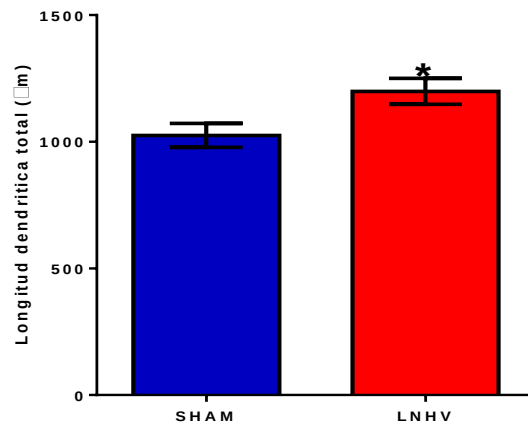
NÚMERO DE ORDEN



Gráfica 12 Longitud por número de orden de las neuronas espinosas mediana de Núcleo Accumbens.

Los valores indican el número promedio de dendritas por número de orden. Se observó un incremento significativo en el orden 2 y 3 en el grupo con LNHV con respecto al grupo SHAM. Se evaluó con una ANOVA de 1 vía con una post hoc Newman-Keuls, $p < 0.05$.

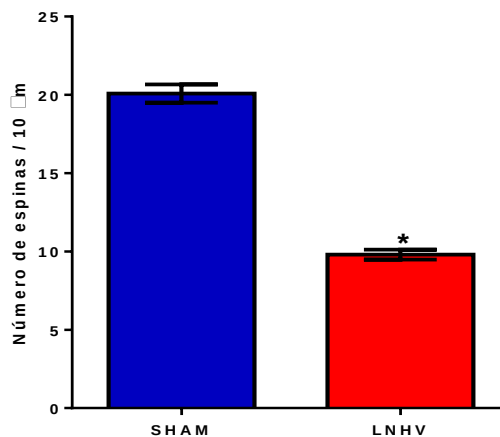
LONGITUD DENDRÍTICA TOTAL



Gráfica 13 Longitud dendrítica total de las neuronas espinosas mediana de Núcleo Accumbens.

Se encontró un aumento significativo en la longitud total de dendritas en el grupo con LNHV con respecto al grupo SHAM. El análisis estadístico se evaluó $\pm$ EEM por medio de una *t*-student con una $p < 0.05$.

NÚMERO DE ESPINAS DENDRÍTICAS DISTALES



Gráfica 14 Número de espinas dendríticas distales de las neuronas espinosas mediana de Núcleo Accumbens.

Los valores indican el número promedio de espinas dendríticas distales. En contraste con lo encontrado en el número total de espinas dendríticas se observó una disminución significativa en el número de espinas dendríticas en el grupo con LNHV con respecto al grupo SHAM. El análisis estadístico se evaluó $\pm$ EEM por medio de una *t*-student con una $p < 0.05$.

XV DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El principal objetivo del presente trabajo fue investigar si la morfología neuronal de la CmPF Capa III, V y NAc de la rata madre lactante con lesión neonatal del hipocampo ventral (LNHV) era afectada por la exposición hacia un factor estresante social (macho) durante la lactancia. Los hallazgos del presente trabajo muestran por primera vez que la exposición de hembras madre lactantes (día 7) con LNHV hacia un macho adulto (estímulo social estresante) disminuyó significativamente la mayoría de los parámetros de la morfología dendrítica en la CmPF III y V, pero se observaron efectos opuestos en el NAc, además de un incremento en la actividad motora ante ambiente novedoso, como ocurre en el macho con LNHV (Vázquez-Roque y cols., 2012; Alquicer y cols., 2004).

En general estos resultados están en concordancia con previos estudios que han usado este modelo animal de esquizofrenia, pero en el macho (Flores y cols., 2005). Es decir, que la LNHV en el macho incrementa la actividad locomotora y reduce la morfología dendrítica en la CmPF III y el NAc (Flores y cols., 2005). Se ha propuesto que el incremento en la actividad motora, sólo después de la pubertad, dentro de una prueba de campo cerrado por primera vez es un indicador que la lesión neonatal del HV tuvo éxito y el animal en cuestión corresponde al modelo de “esquizofrenia” (Lipska y col., 1993; Flores y cols., 1996; Silva-Gomez y cols., 2003; Alquicer y cols., 2008).

El incremento en la actividad motora es un indicativo de hiperactividad del sistema dopaminérgico mesolímbico en el NAc (Daenen y cols., 2003; Alquicer y cols., 2004), probablemente relacionado a un aumento en la sensibilidad del sistema dopaminérgico y/o una liberación exacerbada de dopamina; en tanto que su disminución produce hipoactividad (Beninger, 1983, 1988; Piggins & Merali, 1989). Además, varios estudios han mostrado un aumento en liberación de DA en el NAc asociado a la exposición a un ambiente no familiar, que finalmente actúa como un ambiente estresante para el animal (Matthew, 2002). La liberación de DA inducida ante el ambiente nuevo puede ser controlada por la activación de autoreceptores presinápticos dopaminérgicos D2 y por el bloqueo del disparo de neuronas DA en el área ventral tegmental, la fuente del sistema dopaminérgico mesolímbico (Flores y cols., 1996).

Rearreglo dendrítico

El método de tinción neuronal de Golgi-Cox se ha utilizado ampliamente, ya que proporciona información valiosa sobre la morfología neuronal (Gibb & Kolb, 1998; Flores y cols., 2005) y en consecuencia es posible realizar evaluaciones cuantitativas, tales como el número de las espinas dendríticas (Robinson & Kolb, 1999; Flores y cols., 2005; Meléndez-Ferro y cols., 2009; Kasture y cols., 2009), la longitud dendrítica total y la complejidad de las ramificaciones dendríticas (Flores y cols., 2005; Kolb y cols., 2008).

Se considera que las espinas dendríticas son centros de procesamiento de la información y son capaces de controlar su propia síntesis de proteínas y degradación (Halpain y cols., 2005), en respuesta a cambios en su ambiente (Horner, 1993), a daños (Tseng & Hu, 1996; Chen y cols., 2003) y al envejecimiento (Scheibel y cols., 1975; Wang y cols., 2009). Estas protuberancias discretas en las dendritas forman un rico andamiaje estructural para la mayoría de las sinapsis excitatorias del cerebro (Lee y cols., 2012).

Las implicaciones funcionales de los cambios en la morfología dendrítica aún no han sido aclaradas, especialmente a si un incremento en el tamaño de la longitud dendrítica o en la densidad de espinas dendríticas refleja cambios perjudiciales o beneficiosos para la comunicación inter-sináptica. Aunque un incremento en la densidad de espinas y longitud dendrítica se podría interpretar como una buena plasticidad adaptativa.

En primer lugar, las espinas dendríticas son sitios de contactos sinápticos y probablemente representan cambios en la conectividad neuronal (Ku wajima y cols., 2012). Además las espinas dendríticas distales pueden estar representando las entradas excitatorias de otras áreas anatómicas (Torres-García y cols., 2012).

Con los hallazgos en la CmPF capa III y capa V se puede sugerir que en las ratas con LNHV podría haber una disminución en la función de la corteza, ya que encontramos una disminución en la arborización dendrítica total, número de orden, longitud dendrítica total y en el número de espinas dendríticas distales en ambas capas, con excepción del número de espinas en la CmPF capa V lo cual sugiere una compensación en la plasticidad adaptativa en dicha área. Esto puede tener implicaciones en las funciones que desempeñan estas regiones como el control sobre el sistema dopaminérgico subcortical y una disfunción de esta corteza produce diversos desordenes cognitivos, emocionales y motores, así como alteraciones morfológicas, tal como ocurre en ciertos desordenes psiquiátricos (Weinberger y cols., 1994, Fuster, 1998, y 2001), como la esquizofrenia y déficit de atención, entre otras (Deutch, 1992; Koechlin y cols., 1999; Van den Buuse y cols., 2003). En general se considera que la CmPF es una región relacionada tanto con la experiencia como con la expresión emocional, y es crítica para el procesamiento de emociones asociadas con situaciones sociales y personales complejas (Damasio, 1997).

Es importante enfatizar que los hallazgos anatómicos de estudios postmorten, y neuropsicológicos, así como estudios de neuroimagen de la función cerebral en pacientes con esquizofrenia están implicados en trastornos del desarrollo de la corteza prefrontal, paralelo a la desconexión en el desarrollo de las cortezas temporal y prefrontal. Así, los estudios anatómicos en el modelo de LNHV sugieren que la pérdida del desarrollo de la unidad excitatoria del hipocampo ventral a la corteza prefrontal podría desencadenar reordenamientos estructurales y moleculares postsinápticos. Por ejemplo, se ha reportado una disminución en la longitud dendrítica y en la

densidad de espinas en neuronas piramidales, en la corteza prefrontal de ratas macho con LNHV (Flores, 2005), y en ratas que sufrieron aislamiento social postdestete (Alquicer y cols., 2008). Ver **Figura 18**.

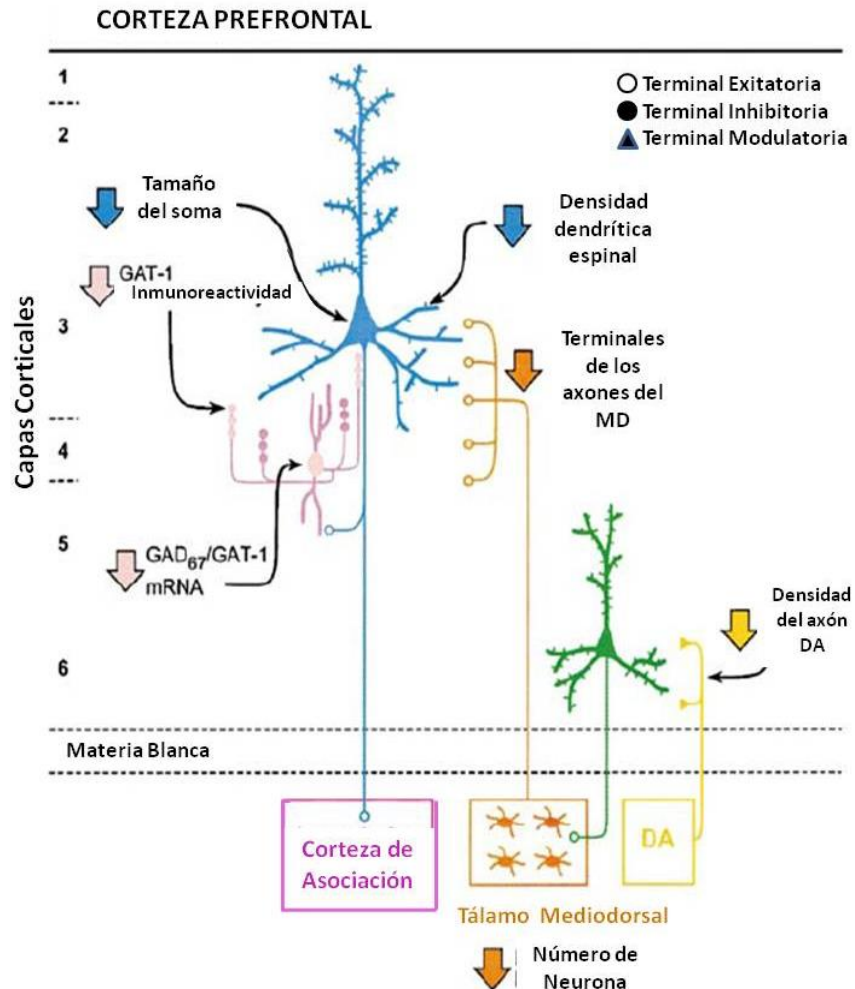


Figura 18 Circuito cortical en la Esquizofrenia.

Diagrama esquemático que resume las alteraciones en la conectividad entre el núcleo talámico mediodorsal (MD) y la corteza prefrontal (CPF) en la esquizofrenia. Estudios postmortem han reportado que sujetos con esquizofrenia tienen (1) decremento en el número de neuronas en el núcleo talámico mediodorsal; 2) disminución en la densidad de várices positivas de parvalbúmina, un marcador putativo de terminales de los axones talámicos, selectivamente localizados en las capas III-IV, la zona terminal de proyecciones de MD a la CPF; (3) la prominente reducción en la densidad de espinas en las dendritas basales de la capa III de neuronas piramidales, un blanco sináptico principal de la proyección excitatoria de la MD; (4) expresión reducida del mRNA por la ácido glutámico descarboxilasa (GAD67), la enzima sintetizadora de GABA, en un subconjunto de neuronas GABA de la CPF; (5) disminución de la densidad en el recambio de axones de transportadores GABA (GAT-1)-inmunoreactivo, la distintiva y verticalmente dispuestos de terminales de axones de neuronas de chandelier GABAérgicas, los cuales hacen sinapsis exclusivamente sobre el segmento inicial del axón de neuronas piramidales; y (6) disminución de dopamina en la innervación de la capa VI, la localización principal de neuronas piramidales que proveen proyecciones retroalimentativas corticotalámicas. (Tomado y modificado de Lewis y Lieberman. 2000).

Es importante resaltar que el aislamiento social y el estrés como un segundo reto en etapa adulta, dos factores ambientales conocidos por exacerbar las conductas anormales inducidas por la LNHV, proporcionan evidencia adicional de que la alteración en la plasticidad sináptica de la corteza prefrontal podría promover al desarrollo del fenotipo de LNHV (Alquicer y cols., 2008; Flores, 2005). Esto es considerado de interés heurístico para determinar cómo el desarrollo de la lesión inicia subsecuentemente con fenómenos en el comportamiento y a nivel molecular asociados con la sensibilización a la dopamina.

Una posible explicación a los resultados anteriormente descritos se fundamenta en que las neuronas piramidales registradas de la corteza media prefrontal de animales con LNHV son más sensibles a la activación de receptores de NMDA y D1. Este aumento en la selectiva excitabilidad postsináptica fue observada en la corteza prefrontal de animales con LNHV en edad adulta joven (>70 días), lo cual sugiere un temprano trastorno en la entrada del hipocampo hacia la corteza prefrontal, alterando el desarrollo normal de las respuestas prefrontales de D1 y NMDA (Williams y cols., 2002). Es conocido que la activación del receptor D1 incrementa la señalización del adenosin monofostato cíclico (cAMP), además de la actividad de la proteína kinasa A (PKA) (Nicola y cols., 2000). El aumento postsináptico en la señalización dependiente de cAMP-PKA puede potencializar la excitación mediada por NMDA en la corteza prefrontal mediante un mecanismo postsináptico dependiente de calcio (Tseng y cols., 2004). La activación de los receptores D1 también inducen el tráfico de los receptores NMDA hacia la membrana postsináptica. Esta interacción podría incrementar selectivamente las respuestas prefrontales del NMDA, y no del AMPA, como se observó en ratas con LNHV. Así, es posible especular que la regulación anormal incrementada de estas cascadas de señalizaciones postsinápticas, podrían ser responsables en el aumento de la respuesta prefrontal a D1 y NMDA en el modelo de LNHV. Estos cambios podrían, sucesivamente, contribuir para alterar un balance de la excitación e inhibición en la corteza prefrontal (Tseng y cols., 2006), desencadenando mecanismos locales de adaptación neuronal que podrían conducir a la hipofuncionalidad del estado prefrontal observado en la esquizofrenia.

Por otra parte es ampliamente reconocido que las interneuronas inhibitorias corticales desempeñan un papel importante en la determinación de la sincronización y la selectividad espacial de las neuronas piramidales. Interneuronas GABAérgicas en la corteza prefrontal también reciben inervación de dopamina del área ventral tegmental y expresa ambos receptores D1 y D2. Tal vez la observación más interesante es la potente participación tanto de los receptores de dopamina D1 y D2 en la facilitación local de la función GABAérgica en la corteza prefrontal del adulto. Aunque se sabe poco acerca de cómo estas interacciones influyen en la función prefrontal, la evidencia indica que la desconexión neonatal del hipocampo ventral puede alterar la maduración normal de la respuesta interneuronal prefrontal a la dopamina (Grandy y cols., 1991).

En consecuencia, las características prefrontales hipofuncionales observadas en ratas LNHV podría reflejar una alteración post-natal en la regulación de la dopamina de función GABAérgica prefrontal que normalmente se madura durante la adolescencia (Tseng & O'Donnell, 2007) Aunque esta hipótesis aún no se ha examinado, estos cambios podrían ser la base, en parte, bajo el desarrollo anormal cognitivo en animales con LNHV. Esto puede configurar la inapropiada coordinación entre las neuronas piramidales y las interneuronas GABAérgicas, que a su vez, puedan alterar la selectividad espacial de respuestas neuronales prefrontales para las entradas excitadoras (**Figura 19**). Una interrupción cortical similar, que implica marcadores de hipofunción GABAérgicas, se ha asociado con la esquizofrenia (Millar, 2001). Así, la adquisición del control de la neurotransmisión inhibitoria de la dopamina en la postpubertad podría ser crítica para la producción prefrontal de ajuste fino, actividad responsable de los procesos cognitivos maduros, en particular, para enganchar la actividad de las neuronas piramidales durante la memoria de trabajo y comportamientos dirigidos a un objetivo, dos funciones prefrontales dependientes que son refinados durante la pubertad y la adolescencia, y parecen haber sido alterados en el modelo LNHV, así como en la esquizofrenia (Lewis y cols., 2004).

Así como en la corteza prefrontal, la salida de las neuronas del núcleo accumbens responde a la activación de la proyección de dopamina incrementando cada vez que el lanzamiento neuronal en la entrada, disminuye.

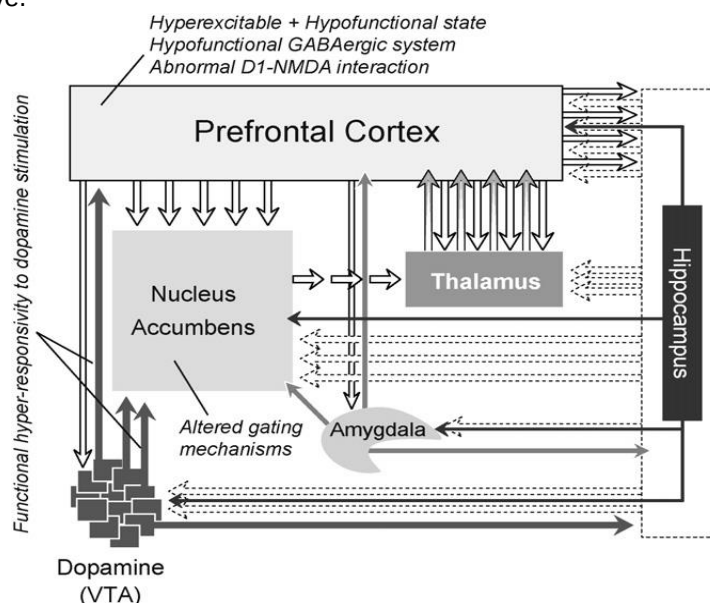


Figura 19 El desarrollo y función de múltiples sistemas son afectados en el modelo de LNHV

El desarrollo y función de múltiples sistemas son afectados en el modelo de LNHV, incluyendo los lóbulos temporal medial y el frontal, el ventral tegmental y el sistema de dopamina mesocorticolímbico. El daño en el desarrollo temprano del hipocampo ventral tiene la capacidad de cambiar la función de múltiples regiones en el desarrollo y esto podría capturar la complejidad en el progreso de la enfermedad de la esquizofrenia. (Tomado y modificado de Chambers, 1996; O'Donnell 2003)

Con respecto a los resultados obtenidos en la arborización dendrítica, longitud dendrítica total y en el número de orden en el NAc, podemos observar un evidente aumento en las ratas madre con LNHV con respecto a las ratas control SHAM, lo cual indica un flujo elevado de dopamina dentro del NAc debido a las motivaciones a las cuales fue sometido el sujeto en estudio (estrés, maternidad e interacción de hembra-macho). Sin embargo en cuanto al número de espinas nos sugiere una hipofuncionalidad en las interconexiones sinápticas.

El desarrollo de las neuronas espinosas medianas del NAc puede estar influenciado por varios factores ambientales. Por ejemplo, diversos estudios han mostrado que el estrés prenatal y postnatal en animales, incrementa la complejidad de la morfología dendrítica del NAc, alterando la ramificación, la longitud y la densidad de espinas en las neuronas espinosas medianas (Muhammad y cols. 2012)

Hay evidencia que sugiere que el NAc recibe la entrada indirecta de las proyecciones de la vía dopaminérgica mesolímbica desde el área ventral tegmental (AVT) y de la sustancia negra, así como entradas directas en forma de proyecciones glutamatérgicas desde el subículo y amígdala, hipocampo, tálamo, corteza prelímbica y corteza prefrontal (Gorelova y cols., 1997). Mientras tanto, en el NAc se han encontrado proyecciones eferentes con múltiples áreas, incluyendo el área ventral tegmental, la parte rostral del hipotálamo lateral, el septum lateral, el núcleo del lecho de la estría terminal, el área preóptica media y áreas hipotalámicas (**Figura 20**) (Groenewegen, 1984).

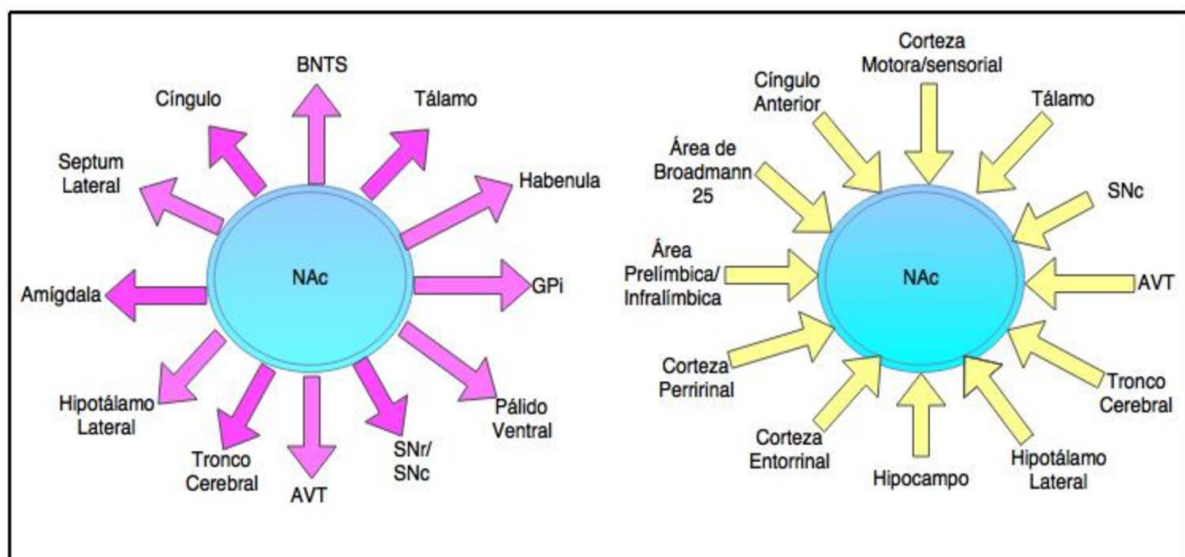


Figura 20 Representación esquemática de las principales conexiones aferentes (a) y eferentes (b) del NAc.

SNc = Sustancia negra compacta; BNST = núcleo del lecho de la estría terminal; GPI = lóbulo pálido interno; SNr = sustancia negra reticulada, AVT= Área ventral tegmental. Tomado y modificado de Salgado & Kaplitt, 2015.

Se ha mostrado que las regiones de la corteza que proyectan al NAc reciben entradas desde la línea media del núcleo talámico y de la amígdala basal, lo cual también proyecta al mismo sitio del NAc como sus objetivos corticales (Wright, 1996).

Los estudios han mostrado que el NAc juega un papel importante en la locomoción, el aprendizaje (incluyendo preferencia por lugares condicionados) y de escape, conductas impulsivas, conductas de toma de riesgos, conductas de alimentación, así como incentivas y de recompensa, especialmente recompensa impredecible, tanto en animales como en seres humanos (Kuhnen, 2005). Además diversos hallazgos sugieren que el NAc presenta una función central en la vía de respuestas motivacionales positivas, lo cual se contrapone por la vía en las respuestas motivacionales negativas mediadas por la amígdala, aunque otros consideran que el NAc por sí mismo podría en la motivación aversiva (Wager y cols., 2008).

Los estudios del grupo de Fernández Espejo han puesto de manifiesto la hipótesis de que el NAc tiene una función de interfase entre diversas regiones cerebrales. Es conocido que hay 3 grandes aferencias al NAc, los cuales participan en distintos aspectos de evaluación de la situación ambiental. La corteza prefrontal es clave en los procesos atencionales, de evaluación cognitiva y de programación premotora y constituye un área de alto grado integrativo. La amígdala participa en la integración emocional y autónoma. El hipocampo desempeña un papel amnésico y de cartografía espacial de primer orden. Diversos hallazgos sugieren que el NAc se activa cuando recibe información simultánea de todas las estructuras mencionadas, lo que otorgaría el sello de “sitio de valor adaptativo”. Las neuronas activadas se consolidarían gracias a la descarga dopaminérgica.

En otras palabras, la integración en la interconexión de la CmPF y el NAc es clave para el esclarecimiento de las alteraciones en dicho modelo, ya que la corteza prefrontal permite fijar la atención sobre una determinada situación y valorar su importancia adaptativa. Si cierta situación se acompaña de cierta carga motivacional y sus características temporo-referenciales se analizan a nivel de hipocampo, ensambles de las neuronas del NAc se situarían en estado activo. Paralelamente, la actividad dopaminérgica desde el AVT, que se activa de modo inespecífico ante toda la novedad ambiental, “consolidaría” el ensamble neuronal activado. Una vez que el NAc se ha relacionado con un ensamble neuronal con una determinada situación apetitiva (conducta sexual, conducta materna) o aversiva (agresión materna), se reforzaría la respuesta motora asociada a dicha situación adaptativa, probablemente por medio de la consolidación de los grupos neuronales activos en el NAc y la CmPF. Los actos que se programan son instrumentales dirigidos a un fin (Salomone, 1992).

Experimentalmente todo ello implica que, tanto las situaciones apetitivas como aversivas activan la liberación de dopamina en el NAc y que el NAc participa en conductas instrumentales y no en las reflejas (Wilson, 1995).

En las enfermedades mentales de carácter psicótico, como la esquizofrenia, se ha postulado que el sistema podría estar alterado y que la transición entre el estado hiperfuncional e hipofuncional del NAc, así como la actividad dopaminérgica, son anormales, lo cual podría relacionarse con la elaboración de conductas anómalas junto a la aparición de contenidos emocionales y amnésicos patológicos (O'Donnell, 1998).

Estos hallazgos demuestran la utilidad del modelo para explorar múltiples conocimientos neurobiológicos, además de la importancia de relacionar las interconexiones neuronales de la conducta materna, sexual, agresión materna y el estrés como contribuyentes a la gravedad de la fisiopatología del modelo de LNHV.

Conductas afiliativas, agonistas y la esquizofrenia

Se sabe que durante el periodo de gestación las ratas madre sufren adaptaciones en su sistema nervioso central; esto debido a los cambios conductuales y hormonales durante la gestación y la maternidad; con la finalidad de remodelar el cerebro materno para poder proveer lo necesario a sus crías; esto a través del incremento del tamaño de algunas neuronas como las del APOM (Keyser y cols., 1990). Por otra parte, el modelo en estudio enfrenta las alteraciones propias de la lesión en el hipocampo ventral y sus afectaciones en las neuronas de la CmPF y del NAc, además de la activación del sistema dopaminérgico ante la exposición a un agente estresor y por la posible presencia de conductas afiliativas y agonistas.

Como se ha mencionado anteriormente durante el EPP, la hembra es capaz de expresar conducta maternal y sexual, por otra parte se ha reportado que la hembra tiene además la capacidad para expresar la conducta sexual y la agresión materna al mismo tiempo, cuando se enfrentan a ambos estímulos, el contexto determina el resultado del comportamiento. Para la hembra, el valor motivacional de los machos y las crías influyen mutuamente, y cambian dependiendo de la situación.

El cambio rápido entre conductas proceptivas y agresivas se puede considerar ambivalente. Tinbergen en 1951, acuñó la idea de conductas ambivalentes; definidas como patrones motores de dos comportamientos diferentes como consecuencia de motivaciones subyacentes opuestas. Un número de especies muestran comportamientos ambivalentes reflejados por ejemplo, como el cortejo concurrente y la amenaza (Hinde, 1966; Tinbergen, 1951). Por lo tanto, la conducta ambivalente de las ratas en EPP puede representar el procesamiento paralelo concurrente de dos

motivaciones igualmente altas y opuestas que continuamente alternan porque la atención se desplaza entre los atributos atractivos y aversivos del macho. Alternativamente, la integración de la expresión de la conducta sexual, la conducta materna y la agresión materna puede indicar que la hembra percibe al macho como atractivo y aversivo al mismo tiempo, mientras también recibe estímulos de las crías, por lo cual se puede observar el acoplamiento de estos valores afectivos en circuitos motivacionales integrados. Estas observaciones apoyan la idea de que los sistemas centrales afectivos y motivacionales involucran los procesos paralelos e integrativos (Balleine & Killcross, 2006; Cacioppo y cols.1999; Norris &, 2010).

Con los hallazgos anteriormente descritos se infiere que dichas conductas pueden verse alteradas debido a las afectaciones del sistema mesocorticolímbico en el modelo de esquizofrenia, generado por la lesión de HV con ácido iboténico. Lo cual se puede reflejar en dicho estudio, con la evidente disminución de la arborización dendrítica total, número de orden, longitud dendrítica total y en el número de espinas dendríticas distales en ambas capas III y V de la CmPF, áreas que normalmente se ven favorecidas con la activación de la conducta materna y sexual.

Por otro lado, también se puede observar la alteración en el NAc con el aumento evidente en la arborización dendrítica total, número de orden y longitud dendrítica total del grupo con LNHV con respecto al grupo SHAM. Esto puede deberse no sólo por la activación del sistema dopaminérgico desencadenado por la LNHV, sino también por la activación motivacional a la cual se sometieron los grupos de experimentación. Sin embargo, también se observa una significativa disminución del número de espinas, lo cual nos sugiere una carente plasticidad adaptativa con otras áreas anatómicas.

XVI CONCLUSIÓN

La lesión neonatal del HV en la rata constituye un modelo animal viable para la generación de algunos signos semejantes, observados en madres esquizofrénicas. Los cambios morfológicos de neuronas de la CmPF capa (III, V) y NAc, así como la hiperactividad locomotora ante ambiente nuevo, sugieren una hiperfuncionalidad del sistema dopaminérgico mesolímbico inducido posteriormente a la exposición de un agente estresor durante el ciclo maternal al DP 7 que no puede ser mediado a nivel neuroendocrino. Considerando que las alteraciones observadas en las áreas evaluadas tienen un impacto en la conducta materna, sexual y agresión materna, debido a esta alta vinculación de dichos circuitos límbico/ materno en procesos adaptativos.

XVII PERSPECTIVAS

- ✓ Evaluar la morfología neuronal en otras áreas implicadas en el circuito materno, agresión materna, conducta sexual y la esquizofrenia, tales como la amígdala, el APOM, AVT e Hipocampo, con la finalidad de esclarecer la interconexión entre dichas conductas y la esquizofrenia.
- ✓ Evaluar la conducta materna, agresión materna y conducta sexual, para vincular dichas conductas con las alteraciones de la morfología neuronal.
- ✓ Evaluar los niveles de óxido nítrico (NO) y de metabolitos relacionados al estrés, en las diversas áreas neuronales involucradas en el sistema dopaminérgico mesolímbico.
- ✓ Evaluar el perfil hormonal en los sujetos de experimentación.

XVIII BIBLIOGRAFÍA

1. Afonso,V., King,S., Chatterjee, D., y Fleming, A. (2009). Hormones that increase maternal responsiveness affect accumbal dopaminergic responses to pup- and food- stimuli in the female rat. *Hormones and behavior*, 56(1), 11-23.
2. Afonso, V., King, S., Novakov, M., Burton, C., y Fleming, A. (2011). Accumbal dopamine function in postpartum rats that were raised without their mothers. *Horm Behav*, 60(5), 632-643).
3. Alexander GE, Crutcher MD. Functional architecture of basal ganglia circuits; neural substrates of parallel processing. *Trends Neurosci* 1990; 13:266-271.
4. Alvarado Mendoza, J. (1994). A 120 años del Método de Golgi. *Medula*, 3(1/2), 20-6.
5. Auerbach JG, Hans S, Marcus J (1993) Neurobehavioral functioning and social behavior of children at risk for schizophrenia. *Israel J Psychiatr Rel Sci* 30:40-49
6. Alquicer G, Morales-Medina JC, Quirion R, Flores G. Postweaning social isolation enhances morphological changes in the neonatal ventral hippocampal lesion rat model of psychosis. *J Chem Neuroanat* 2008; 35:179–87.
7. Barboza-Vargas, E., Pfau, J., Woodside, B. (2009). Sexual behavior in lactating rats: role of estrogen-induced progesterone receptors. *Horm Behav*, 56(2), 246-253.
8. Becker A, Grecksch G, Bernstein HG, Holtt V, Bogerts B. Social behavior in rats lesioned with ibotenic acid in the hippocampus: quantitative and qualitative analysis. *Psychopharmacology (Berl)* 1999; 144:333–338.
9. Beninger RJ, Miller R. Dopamine D1-like receptors and reward-related incentive learning. *Neurosci Biobehav Rev* 1998; 22: 335-45.
10. Blaustein, J.D., Erskine, M.S. (2002). Feminine sexual behavior: Cellular integration of hormonal and afferent information in the rodent forebrain. En: *Hormones, Brain and Behavior*. Pfaff, D.W.,
11. Arnold, A.P., Etgen, A.M., Fahrbach, S.E. y Rubin, R.T. Editores. Elsevier Science, San Diego, CA. P. 139-214.
12. Blaustein, J., Tetel, M., Ricciardi, K., Delville, Y., YTurcotte, J. (1994). Hypothalamic ovarian steroid hormone-sensitive neurons involved in female sexual behavior. *Psychoneuroendocrinology*, 19(5-7), 505-516.
13. Blumstein, D.T. Ebensperger, L.A., Hayes, L.D., Vásquez, R.A., Ahern, T.H., Ahern, A.G., Ahern, A., Ahern, G., Harris, B.N., Herrera, E.A., Herrera, E.A., McGraw, L.A., Olazábal, D., Ramenofsky, M., Ramenofsky, D.R., Sakhal, S.A. y Sakhal,M.S. (2010). Toward an integrative understanding of social behavior: new models and new opportunities. *Front Behav Neurosci*. 34:1-9.
14. Bridges, R. S., y Ronsheim, P. M. (1990). Prolactin (prl) regulation of maternal behavior in rats: bromocriptine treatment delays and prl promotes the rapid onset of behavior. *Endocrinology*, 126, 837-48.
15. Bridges, RS. Mann., PE. (1994). Prolactin-brain interactions in the induction of maternal behavior in rats. *Psychoneuroendocrinology*, 19: 611-622.
16. Bridges, RS., Mann., PE. Y Coppeta, JS. (1999). Hypothalamic involvement in the regulation of maternal behavior in the rat: inhibitory roles for the ventromedial hypothalamus and the dorsal anterior hypothalamic areas. *Journal of Neuroendocrinology*, 11: 259-266.
17. Bringas, ME. (2012). Estudio conductual y de la morfología de neuronas del sistema límbico de ratas expuestas a ácido valproico en la gestación como modelos de autismo. Tesis de maestría, Instituto de Fisiología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. 8-10.
18. Brog, J. S. Salyapongse A., Deutch A. Y., Zahm D. S. (1993). The patterns of afferent innervation of the core and shell in the accumbens part of the rat ventral striatum: immunohistochemical detection of retrogradely transported fluoro-gold. *Journal of Comparative Neurology*. Dec 8; 338 (2):255-78.
19. Bromet, E.J., and Fennig, S. (1999). Epidemiology and natural history of schizophrenia. *Biol. Psychiatry* 46, 871–881.
20. Cardinal R N, Parkinson J A, Hall J, Everitt B J. (2002). Emotion and motivation: the role of the amygdale, ventral striatum, and prefrontal cortex. *Neuroscience and biobehavioral review*; 26:321-352.

21. Carlsson, A. (1988). The current status of the dopamine hypothesis of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 1, 179–186.
22. Camacho, I. (2009). Efecto de la lesión del núcleo subtalámico sobre el modelo de lesión excitotóxica del hipocampo ventral en la rata neonata. Tesis de maestría, Escuela Nacional de ciencias quimicobiológicas, Instituto Politécnico Nacional. 28-41
23. Cenci, M., Kalén, P., Mandel, R. & Bjorklund, A. (1992). Regional differences in the regulation of dopamine and noradrenaline release in medial frontal cortex, nucleus accumbens and caudate-putamen: a microdialysis study in the rat. *Brain Research*, 581 (2), 217-228.
24. Chambers RA, Moore J, McEvoy JP, Levin ED. Cognitive effects of neonatal hippocampal lesions in a rat model of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 1996; 15:587–94.
25. Champagne, F., Chretien, P., Stevenson, C., Zhang, T., Gratton, A., y Meaney, M. (2004). Variations in nucleus accumbens dopamine associated with individual differences in maternal behavior in the rat. *J Neurosci*, 24(17), 4113-4123.
26. Dalley JW, Cardinal RN, Robbins TW (2004). Prefrontal executive and cognitive functions in rodents: neural and neurochemical substrates. *Neurosci Biobehav Rev* 28: 771-784.
27. Damasio, A. R. (1997). Towards a neuropathology of emotion and mood. *Nature*; 386: 769-770.
28. Deutch AY. (1992): The regulation of subcortical dopamine systems by the prefrontal cortex: Interactions of central dopamine systems and the pathogenesis of schizophrenia. *J Neural Trans* 36: 61–89
29. Díaz J. L., (1985). Análisis estructural de la conducta. Editado por U.N.A.M., México D. F. pp. 19-27.
30. Døge E., Urbá-Holmgren R., Eguibar J. and Holmgren B. (1989). GABAergic modulation of yawning behavior. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 34:237-240.
31. Done DJ, Crow TJ, Johnstone EC, Sacker A (1994) Childhood antecedents of schizophrenia and affective illness: social adjustment at ages 7 and 11. *BMJ* 309:699.703
32. Eaton WW, Tien AY, Poeschla BD (1995) Epidemiology of schizophrenia. In: Den Boer JA, Westenberg HGM, van Praag HM (eds) *Advances in the neurobiology of schizophrenia*. Wiley, New York, pp 27.57
33. Egan, M., Goldberg, T., Kolachana, B., Callicott, J., Mazanti, C., Goldman, D., and Weinberger, D. (2000). Effect of COMT108/158 Met genotype on frontal lobe function and risk for schizophrenia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, in press.
34. Erskine, MS., Barfield, RJ., Goldman, BD. (1978). Intraspecific fighting during late pregnancy and lactation in rats and effects of litter removal. *Behav Biol.* 23:206-13
35. Fernández Espejo (2000). How does the nucleus accumbens tick? *Revista de Neurología*. 30: 845-849.
36. Ferreira, A. (2008). Amor maternal y sexual: una visión psicobiológica. Aproximaciones al estudio de la Psicobiología del comportamiento, 190-205.
37. Ferreira A, Dahlof LS, Hansen S. (1987). Olfactory mechanisms in the control of maternal aggression, appetite, and fearfulness: effects of lesions to olfactory receptors, mediodorsal thalamic nucleus, and insular prefrontal cortex. *Behav Neurosci*; 101:709– 17.
38. Ferreira A, Hansen S. (1986). Sensory control of maternal aggression in *Rattus norvegicus*. *J Comp Psychol*; 100:173– 7.
39. Fleming, AS., Miceli, M. y Moretto, D. (1983). Lesions of the medial preoptic area prevent the facilitation of maternal behavior produced by amygdale lesions. *Physiology and Behavior*, 31: 503-510.
40. Flores G, Alquicer G, Silva-Gomez AB, Zaldivar G, Stewart J, Quirion R, et al. Alterations in dendritic morphology of prefrontal cortical and nucleus accumbens neurons in post-pubertal rats after neonatal excitotoxic lesions of the ventral hippocampus. *Neuroscience* 2005; 133:463–70.
41. Fuster JM. (1997). The prefrontal cortex. Anatomy, physiology and neuropsychology of the frontal lobe. 3 ed. Philadelphia: Lippincott-Raven.
42. Fuster, J.M. (2001). The Prefrontal cortex- An Update: time is the essence. *Nature* 405, 347–351.
43. Goldman-Rakic PS. Cellular basis of working memory. *Neuron* 1995; 14: 477-85.

44. Gonzalez, A., Lovic, V., Ward, G.R., Wainwright, P.E. y Fleming, A.S. (2001). Intergenerational effects of complete material deprivation and replacement stimulation on maternal behavior and emotionality in female rats. *Dev Psychobiology* 38: 11-32.
45. González-Flores O, Hoffman, KL, Melo, Al and Beyer, C. Effects of estrogen fluctuations during the menstrual cycle on cognitive functions: Cellular systems and brain areas involved. In: Estrogen and Cognition. Psychobiological and Clinical Aspects. I González-Burgos (Ed). Research Signpost Trivandrum. Kerala, India. Pp. 2014.
46. Gonzáles-Mariscal, G., Melo, Al. (2013). Parental Behavior. En: Neuroscience in the 21 st century. Pfaff, DW. (editor) Springer Science-Business Media. 2069-2100.
47. Gonzáles-Mariscal, G., Poindron, P. (2002). Parental care in mammals: immediate internal and sensory factors of control. *Hormones Brain and Behavior*, 1: 215-297.
48. Gorelova N, Yang CR: The course of neural projection from the prefrontal cortex to the nucleus accumbens in the rat. *Neuroscience* 1997; 76: 689–706.
49. Goto Y, O'Donnell P (2002). Delayed mesolimbic system alteration in a developmental animal model of schizophrenia. *Journal of Neuroscience* 22, 9070–9077.
50. Goto Y, O'Donnell P (2004). Prefrontal lesion reverses abnormal mesoaccumbens response in an animal model of schizophrenia. *Biological Psychiatry* 55, 172–176.
51. Grace AA. (2000) .The tonic/phasic model of dopamine system regulation and its implications for understanding alcohol and psychostimulant craving. *Addiction*. 95 Suppl. 2:S119–S128.
52. Groenewegen HJ, Russchen FT: Organization of the efferent projections of the nucleus accumbens to pallidal, hypothalamic, and mesencephalic structures: a tracing and immunohistochemical study in the cat. *J Comp Neurol* 1984; 223: 347–367.
53. Groenewegen HJ, Uylings HB (2000). The prefrontal cortex and the integration of sensory, limbic and autonomic information. *Prog Brain Res* 2000; 126: 3-28
54. Groenewegen HJ, Wright CI, Beijer AV (1996). The nucleus accumbens: gateway for limbic structures to reach the motor system? *Prog Brain Res*. 107: 485-511.
55. Hansen, S., Bergvall, A., y Nyiredi, S. (1993). Interaction with pups enhances dopamine release in the ventral striatum of maternal rats: a microdialysis study. *Pharmacol Biochem Behav*, 45(3), 673-676.
56. Heidbreder, C.A., Groenewegen, H.J. (2003). The medial prefrontal cortex in the rat: evidence for a dorso-ventral distinction based upon functional and anatomical characteristics. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 27 .pp. 555–579.
57. Heimer, L., Alheid G.F., De Olmos, J.S., Groenewegen, H.J., Habe, S.N., Harlan, R.E., Zahm, D.S. (1997). The accumbens: beyond the core-shell dichotomy. *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci.* 9:354-381.
58. Herrenkohl, LR. (1974). Differential effects of progesterone on lactation and nursing behavior in late pregnant and postparturient rats. *Physiology and Behavior*, 13: 495-499.
59. Hyman, E.S., Berke, D.J. (2000). Addiction, dopamine, and the molecular mechanisms of memory. *Neuron*, 25: 515-532.
60. Kandel, E.R. (2000). From nerve cells to cognition: The internal cellular representation required for perception and action. In *Principles of Neural Science*. New York. McGraw-Hill, pp. 381-403.
61. Kato, A., Sakuma, Y. (2000). Neuronal activity in female rat preoptic area associated with sexually motivated behavior. *Brain research*, 862(1-2), 90-102).
62. Koehlin, E., Basso, G., Pietrini, P., Panzer, S., Grafman, J. (1999). The role of the anterior prefrontal cortex in human cognition. *Nature*. 399(6732), 148-151.
63. Kuhnen CM, Knutson B: The neural basis of financial risk taking. *Neuron* 2005; 47: 763–770.
64. Laruelle, M., Abi-Dargham, A., Gil, R., Kegeles, L., and Innis, R. (1999). Increased dopamine transmission in schizophrenia: relationship to illness phase. *Biol. Psych.* 46, 56–72
65. Lenz, K.M., Graham, M.D., Parada, M., Fleming, A.S., Sengelaub, D.R. y Monks, D.A. (2008). Tactile stimulation during artificial rearing influences adult

- function and morphology in a sexually dimorphic neuromuscular system. *Dev Neurobiol.* 68:542-57.
66. Le Pen G, Grottick AJ, Higgins GA, Martin JR, Jenck F, Moreau JL. Spatial and associative learning deficits induced by neonatal excitotoxic hippocampal damage in rats: Further evaluation of an animal model of schizophrenia. *Behav Pharmacol.* 2000;11:257–268.
 67. Lewis, DA. y Lieberman, JA. (2000). Catching up on schizophrenia. *Natural History and Neurobiology.* *Neuron* 28: 325-334.
 68. Lewis DA, Volk DW, Hashimoto T. Selective alterations in prefrontal cortical GABA neurotransmission in schizophrenia: a novel target for the treatment of working memory dysfunction. *Psychopharmacology (Berl)* 2004;174:143–50.
 69. Li, M. y Fleming, AS. (2003). The nucleus accumbens shell is critical for normal expression of pup-retrieval in postpartum female rats. *Behavioural Brain Research*, 145: 99-111.
 70. Lieberman, J.A. (1999). Is schizophrenia a neurodegenerative disorder? *Biol. Psychiatry* 46, 729–739.
 71. Lieberman, J.A., Sheitman, B.B., and Kinon, B.J. (1997). Neurochemical sensitization in the pathophysiology of schizophrenia: deficits and dysfunction in neuronal regulation and plasticity. *Neuropsychopharmacology* 17, 205–229. Raedler, T.J., Knable, M.B., and Weinberger, D.R. (2000). Schizophrenia as a developmental disorder of the cerebral cortex. *Curr. Opin. Neurobiol.* 8, 157–161.
 72. Lipska BK (2004). Using animal models to test a neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia. *Journal of Psychiatry and Neuroscience* 29, 282–286.
 73. Lipska BK, Jaskiw GE, Weinberger DR. Postpubertal emergence of hyperresponsiveness to stress and to amphetamine after neonatal excitotoxic hippocampal damage: A potential animal model of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology.* 1993;9: 67–75
 74. Lipska BK, Weinberger DR (1996) Hippocampal damage in the neonatal rat as a model of some aspects of schizophrenia. In: Kato N (ed) *The hippocampus: functions and clinical relevance.* Elsevier, Amsterdam, pp 465-475
 75. Lipska BK, Weinberger DR. Prefrontal cortical and hippocampal modulation of dopamine-mediated effects. *Adv Pharmacol.* 1998; 42:806 – 809.
 76. Lipska BK, Weinberger DR. To model a psychiatric disorder in animals: Schizophrenia as a reality test. *Neuropsychopharmacology.* 2000;23:223–239.
 77. Marcelis, M., van Os, J., Sham, P., Jones, P., Gilvarry, C., Cannon, M., McKenzie, K., and Murray, R. (1998). Obstetric complications and familial morbid risk of psychiatric disorders. *Am. J. Med. Genetics* 81, 29–36.
 78. Mayer, AD., Ahdieh, HB., Rosenblatt, JS. (Effects of prolonged estrogen-progesterone treatment and hypophysectomy on the stimulation of short-latency maternal behavior and aggression in female rats. *Horm Behav.* 24:152-73.
 79. Mayer, AD., Monroy, MA., Rosenblatt JS. Prolonged estrogen-progesterone treatment of nonpregnant ovariectomized rats: factors stimulating home-cage and maternal aggression and short-latency maternal behavior. *Horm Behav.* 13: 29-43.
 80. Mayer, AD., Rosenblatt, JS. (1979). Hormonal influences during the ontogeny of maternal behavior in female rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 93: 879-898.
 81. Mayer, AD., Rosenblatt, JS. (1987). Hormonal factors influence the onset of maternal aggression in laboratory rats. *Hormones and Behavior*, 21: 253-267.
 82. Mayer, AD., Rosenblatt, JS. (1993). Persistent effects on maternal aggression of pregnancy but not of estrogen/progesterone treatment of non pregnant ovariectomized rats revealed when initiation of maternal behavior is delayed. *Horm Behav;* 27:1132-55.
 83. McCormick, D.A., Connors, B.W., Lighthall, J.W., Prince, D.A. (1985). Comparative electrophysiology of pyramidal and sparsely spiny stellate neurons of the neocortex. *J Neurophysiol* 54: 782-806.
 84. McGeorge, AJ and Faull, RL (1989). The organization of the projection from the cerebral cortex to the striatum in the rat. *Neuroscience.* 29, 503-537.
 85. Melo, A.I., Hernández-Curiel, M., Hoffman, K.L. (2009). Maternal and peer contact during the postnatal period participate in the normal development of maternal aggression, maternal

- behavior, and the behavioral response to novelty. *Behav Brain Res*. 2011;14-21.
86. Melo A.I., Toriz C. G. y Kinsley CH. (2013). Regulación Hormonal, sensorial y social de la conducta materna en mamíferos: Efectos sobre la madre y sobre el desarrollo de la progenie. Curso Pre-Congreso AIBIR. Procesos Fisiológicos, Conductuales y toxicológicos de la Reproducción. Pp. 38.
 87. Miller EK, Cohen JD. An integrative theory of prefrontal cortex function. *Annu Rev Neurosci* 2001; 24: 167-202.
 88. Morgane, P. A (2005). A review of systems and networks of the limbic forebrain/limbic midbrain. *Progress in Neurobiology*. 75:143-160.
 89. Morgane P J, Mokler D J. (2006). The limbic brain: Continuing resolution. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*; 30: 119–125.
 90. Muhammad A, Carroll C, Kolb B: Stress during development alters dendritic morphology in the nucleus accumbens and prefrontal cortex. *Neuroscience* 2012; 216: 103–109.
 91. Nakamura, K., Kikusui, T., Takeuchi, Y., y Mori, Y. (2003). The influence of early weaning on aggressive behavior in mice. *J. Veterinary. Med Sci*. 65:1347-1349.
 92. Neuechterlein KH (1986) Childhood precursors of adult schizophrenia. *J Child Psychol* 27:133.144
 93. Newman, S. (1999). The medial extended amygdale in male reproductive behavior. A node in the mammalian social behavior network. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 877, 242-257.
 94. Nicola SM, Surmeier J, Malenka RC. Dopaminergic modulation of neuronal excitability in the striatum and nucleus accumbens. *Annu Rev Neurosci* 2000;23:185–215
 95. Numan, M. y Callahan, EC. (1980). The connections of the medial preoptic region and maternal behavior in the rat. *Physiology and Behavior*, 25: 653-665.
 96. Numan, M, Fleming, AS. y Levy, F. (2006). Maternal Behavior. *Physiology of Reproduction*. Academic Press. 3th ed. 2: 1921-1993.
 97. Numan, M., e Insel, T. R. (2003). The neurobiology of parental behavior. Nueva York: Springer.
 98. Numan, M., Numan, M.J. (1997). Projection sites of medial preoptic area and ventral bed nucleus of the stria terminalis neurons that express Fos during maternal behavior in female rats. *J Neuroendocrinol*, 9(5), 369-384.
 99. Numan, M., Numan, M., Schwarz, J., Neuner, C., Flood, T., y Smith, C. (2005). Medial preoptic area interactions with the nucleus accumbens- ventral Pallidum circuit and maternal behavior in rats. *Behavioural brain research*, 158(1), 53-68.
 100. O'Donnell P., Grace AA., Phencyclidine interferes with the hippocampal gating of nucleus accumbens neuronal activity in vivo. *Neuroscience* 1998; 87: 823-30.
 101. O'Donnell, P., Grace, A.A. (1993). Dopaminergic modulation of dye coupling between neurons in the core and shell regions of the nucleus accumbens. *J Neuroscience* 13:3456- 3471.
 102. O'Donnell P, Lewis BL, Weinberger DR, Lipska BK. (2002). Neonatal hippocampal damage alters electrophysiological properties of prefrontal cortical neurons in adult rats. *Cereb Cortex*. 12:975–982
 103. Olazábal, D., Pereira, M., Agrati, d., Ferreira, A., Fleming, A., González-Mariscal, G. (2013). New theoretical and experimental approaches on maternal motivation in mammals. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 37(8), 1860- 1874.
 104. Oxley, G., Barton, S. y Fleming, AS. (2000). The effects of medial preoptic area and amygdale lesions on maternal behavior in the juvenile rat. *Developmental Psychobiology*, 37: 253-265.
 105. Pannese, E. (1999). The Golgi stain: invention, diffusion and impact on neurosciences. *Journal of the history of the neurosciences*, 8(2), 132-140.
 106. Pantelis, C., Yucel, M., Wood, S.J., Velakoulis, D., Sun, D., Berger, G., Stuart, G.W., Yung, A., Phillips, L., and McGorry, P.D. (2005). Neurochemical sensitization in the pathophysiology of schizophrenia: deficits and dysfunction in neuronal regulation and plasticity. *Neuropsychopharmacology* 17, 205–229.
 107. Paxinos, G., Watson, C. (1998). The rat brain in stereotaxic coordinates. 2nd ed., Academic Press, New York.
 108. Pennartz CM, Groenewegen HJ, Lopes da Silva FH (1994). The nucleus accumbens as a complex of functionally distinct neuronal ensembles: an integration of behavioral, electrophysiological and anatomical data. *Prog Neurobiol* 42: 719-761.

109. Pereira, M., Morrel, J.I. (2010). The medial preoptic area is necessary for motivated choice of pup-over cocaine-associated environments by early postpartum rats. *Neuroscience* 167: 216-231.
110. Pfaus, J., Kleopoulos, S., Moobs, C., Gibbs, R., Pfaff, D. (1993). Sexual stimulation activates c-fos within estrogen-concentrating regions of the female rat forebrain. *Brain Res*, 624(1-2), 253-267.
111. Ragozzino ME, Detrick S, Kesner RP (2002). The effects of prelimbic and infralimbic lesions on working memory for visual objects in rats. *Neurobiol Learn Mem* 77: 29-43.
112. Retana-Márquez, S., Bonilla-Jaime, H., Vázquez-Palacios, G.; Martínez-García, R. & Velázquez-Moctezuma, J. (2003). Changes in masculine sexual behavior, corticosterone and testosterone in response to acute and chronic stress in male rats. *Hormones and Behavior*, 44, 327-337.
113. Rosenblatt, JS. y Lehrman, DS. (1963). Maternal behavior of the laboratory rat. En: *Maternal Behavior in Mammals*. (Rheingold, HL editor). New York, E.U. 8-57
114. Rosenblatt, JS. (1965). The basis of synchrony in the behavioral interaction between the mother and her offspring in the laboratory rat. En: *Determinants of infant Behavior*. (Fos, BM Editor). London; Methuen. 3:6-41
115. Rosenblatt, JS., Siegel, HI. y Meyer, AD. (1979). Progress in the study of maternal behavior in the rat: hormonal, nonhormonal, sensory and developmental aspects. *Advances in the Study of behavior*, 10: 225-311.
116. Salgado, S., Kaplitt, MG. (2015). The Nucleus Accumbens: A Comprehensive Review. *Stereotact Funct Neurosurg* 2015;93:75–93
117. Sandi, C.; Venero, C. y Cordero, M. I. (2001). *Estrés, memoria y trastornos asociados*. Barcelona: Editorial Ariel.
118. Selemon and Goldman-Rakic, 1999). Selemon, L.D., and Goldman-Rakic, P.S. (1999). The reduced neuropil hypothesis: a circuit based model of schizophrenia. *Biol. Psychiatry*
119. Selye, H. (1946). The general adaptation syndrome and diseases of adaptation. *Journal of Clinical Endocrinology*, 6, 117-230.
120. Sesack SR, Pickel VM (1992) Prefrontal cortical efferents in the rat synapse on unlabeled neuronal targets of catecholamine terminals in the nucleus accumbens septi and on dopamine neurons in the ventral tegmental area. *J Comp Neurol* 320:145–160.
121. Stern, JM. (1991). Nursing posture is elicited rapidly in maternally naïve, haloperidol-treated female and male rats in response to ventral trunk stimulation from active pups. *Hormones and Behavior*, 25: 504-517.
122. Stolzenberg, D., Numan, M. (2011). Hypothalamic interaction with the mesolimbic DA system in the control of the maternal and sexual behaviors in rats. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 35, 826-847.
123. Tecuati, C., (2013). Efecto de la preñez y lactancia sobre la morfología de las neuronas piramidales de la corteza media prefrontal, hipocampo dorsal y las espinosas medianas del núcleo accumbens. Tesis de maestría, Instituto de Fisiología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. 23-69.
124. Torres-Fernández, O. (2006). La técnica de impregnación argéntica de Golgi. Conmemoración del centenario del premio nobel de medicina (1906) compartido por Camilo Golgi y Santiago Ramón y Cajal. *Biomedical*, 26(4), 498-505.
125. Tseng KY, Amin F, Lewis BL, O'Donnell P (2006). Altered prefrontal cortical metabolic response to mesocortical activation in adult animals with a neonatal ventral hippocampal lesion. *Biological Psychiatry* 60, 585–590.
126. Tseng KY, Chambers RA, Lipska BK (2009). The neonatal ventral hippocampal lesion as a heuristic neurodevelopmental model of schizophrenia. *Behavioral Brain Research* 204, 295–305.
127. Tseng KY, O'Donnell P. Dopamine–glutamate interactions controlling prefrontal cortical pyramidal cell excitability involve multiple signaling mechanisms. *J Neurosci* 2004; 24:5131–9.
128. Tseng KY, Mallet N, Toreson KL, Le Moine C, Gonon F, O'Donnell P. Excitatory response of prefrontal cortical fast-spiking interneurons to ventral tegmental area stimulation in vivo. *Synapse* 2006; 59:412–7.
129. Tseng KY, O'Donnell P. Dopamine modulation of prefrontal cortical interneurons changes during adolescence. *Cereb Cortex* 2007; 17:1235–40.

130. Tucker, HA. (1988). Lactation and its hormonal control. En: The Physiology of reproduction. (Knobil, E. y Neill, J. editores). Editorial Raven Press., New York, EU. 2235-2263.
131. Tseng KY, Lewis BL, Lipska BK, O'Donnell P (2007). Post-pubertal disruption of medial prefrontal cortical dopamine glutamate interactions in a developmental animal model of schizophrenia. *Biological Psychiatry* 62,730–738.
132. Ugarte, A., Cortés, MC., Eguibar, JR., y Melo, AI. (2013). La conducta materna: efectos sobre el cerebro materno y sobre el desarrollo de la progenie. Editado por U.A.T., Tlaxcala, Tlax., pp. 137-178
133. Usada, I., Tanaka, K., Chiba, T., (1998). Efferent projection of the nucleus accumbens in the rat with special reference to subdivision of the nucleus: biotinylated dextran amine study. *Brain. Res.* 797: 73-93.
134. Van den Buuse, M., Simpson, E.R., Jones, M.E. (2003). Prepulse inhibition of acoustic startle in aromatase Knock-out mice: effects of age and gender. *Genes Brain Behav* 2:93- 102.
135. Van Eden C, Uylings H (1985) Cytoarchitectonic development of the prefrontal cortex in the rat. *J Comp Neurol* 241:253–267.
136. Veenema, A.H. y Neumann, I.D. (2009). Maternal separation enhances offensive play-fighting, basal corticosterone and hypothalamic vasopressin mRNA expression in juvenile male rats. *Psychoneuroendocrinology*. 34: 463-467.
137. Vertes RP. Differential projections of the infralimbic and prelimbic cortex in the rat. *Synapse* 2004; 51: 32-58.
138. Voorn, P., Vanderschuren, J., Groenewegen, H., Robbins, T., Pennartz, C. (2005). Putting a spin on the dorsal-ventral divide of the striatum. *Trends Neurosci*. 27: 468-474.
139. Wager TD, Davidson ML, Hughes BL, Lindquist MA, Ochsner KN: Prefrontal-subcortical pathways mediating successful emotion regulation. *Neuron* 2008; 59: 1037–1050.
140. Weinberger DR, Berman KF. (1996). Prefrontal function in schizophrenia: confounds and controversies. *Phil Trans R Soc Lond B*; 351: 1495-1503.
141. Weinberger DR, Lipska BK. (1995): Cortical maldevelopment, antipsychotic drugs and schizophrenia: A search for common ground. *Schizophrenic Res* 16: 87–110
142. Wright CI, Beijer VJ, Groenewegen HJ (1996). Basal amygdaloid complex afferents to the rat nucleus accumbens are compartmentally organized. *J Neurosci*. 16: 1877-1893.
143. Wright CI, Groenewegen HJ: Patterns of overlap and segregation between insular cortical, intermediodorsal thalamic and basal amygdaloid afferents in the nucleus accumbens of the rat. *Neuroscience* 1996; 73: 359–373.
144. Yokoo, H., Yamada, S., Yoshida, M., Tanaka, M. & Nishi, S. (1992). Attenuation of the inhibitory effect of dynorphin on dopamine release in the rat nucleus accumbens by repeated treatment with methamphetamine. *European Journal of Pharmacology*, 222 (1) 343-347.
145. Zahm, D.S. (2000). An integrative neuroanatomical perspective on some subcortical substrates of adaptive responding with emphasis on the nucleus accumbens. *Neurosci Biobehav Rev*. 24:85-105.
146. Zahm DS, Brog JS (1992). Commentary: on the significance of subterritories in the “accumbens” part of the rat ventral striatum. *Neuroscience* 50: 751-767.