



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



---

---

**LA EXPERIENCIA MATERNA MODIFICA LA MEMORIA  
EN DOS SUBLÍNEAS DE RATAS DE LA CEPA  
SPRAGUE-DAWLEY.**

Tesis presentada para obtener el título de  
Licenciatura en Biología

PRESENTA:  
Lilia Díaz Espinosa

TUTORA: M. en C. Araceli Ugarte Rojano

CO-TUTOR: D. en C. José Ramón Eguibar Cuenca



Junio 2017

Dedico esta tesis a mis padres Gumercy y Salvador. Mi infinito agradecimiento y cariño para ustedes.

## **Agradecimientos**

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor del Instituto de Fisiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, y fue parcialmente financiado por el proyecto UGRA-SAL17-I VIEP-BUAP 2017 a favor de la M. en C. Araceli Ugarte Rojano.

También fue parcialmente financiado por los proyectos CONACyT a favor de la Dra. en C. Ma. Carmen Cortés y del Dr. en C. José Ramón Eguibar, Nos. 243,333 y 243,247, respectivamente, por el proyecto VIEP-BUAP 2017 y por el CA en Neuroendocrinología BUAP-CA-288

Agradezco a la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado (VIEP-BUAP) por la beca que recibí como tesista del proyecto UGRA-SAL17-I VIEP-BUAP 2017 a favor de la M. en C. Araceli Ugarte Rojano.

## **Agradecimientos**

Expreso mi más sincero agradecimiento a mi tutora la Mtra. Araceli Ugarte Rojano por haber dirigido mi tesis, por sus acertadas revisiones, por brindarme conocimiento, su paciencia, apoyo y comprensión en cada una de las etapas de este trabajo.

Al Dr. José Ramón Eguibar por haber sido el co-tutor en este trabajo, por sus exhaustivas revisiones, consejos e ideas que favorecieron en gran medida esta tesis.

A la Dra. Carmen Cortés por sus comentarios, revisiones y opiniones que enriquecieron este trabajo.

A la Dra. Angélica Trujillo Hernández y a la Dra. Rosalina Reyes Luna por haber formado parte del comité revisor de esta tesis.

## **Agradecimientos**

Agradezco a los integrantes del laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor; Alfonso, Adriela, Carlos, Paty, Fernando, Karely, Saraí, Rubén y Alfredo, por crear una convivencia amena y elocuente en el laboratorio. A Juan Ibarra por su apoyo y consultas sin honorarios. Particularmente estoy muy agradecida con Sandra L. Rugerio Rojas por su apoyo entusiasta en varios procedimientos realizados en este trabajo y también con Ángeles Dorantes Nieto; ambas me han mostrado una gran solidaridad y amistad, lo cual considero un tesoro invaluable.

Al M.V.Z. Omar Isidro Maldonado y a Ángel Armando Reyes Morgan por el manejo y cuidado de los animales empleados en este trabajo.

A mis padres: Salvador y Gumercy, quienes me criaron en la cultura del esfuerzo y a quienes debo mucho de lo que soy.

A mi sobrino Santiago: la espontaneidad de tu infancia siempre me reconforta.

A mis amigos de la carrera: Fernando, Larisa, Adriana, Connie, Max, Francisco, Martín y Fernanda por una amistad jocosa y por compartir las andanzas individuales en el proceso de creación de la tesis de licenciatura.

A mi hermana Palmira y a su esposo Edgar por la atención y apoyo que han mostrado en mi preparación académica, gracias.

A mi tía Lilia; gracias por tanto todos estos años.

Uno de los motivos más fuertes que llevan a los hombres al arte y a la ciencia es el escape de la vida cotidiana con su crudeza dolorosa y la tristeza desesperada; de las trabas de los propios deseos en la cambiante vida de uno.

Albert Einstein

## Lista de abreviaturas

ABL: amígdala basolateral  
AHA: área hipotalámica anterior  
AM: amígdala media  
APM: área preóptica media.  
ATV: área tegmental ventral  
B: bípara  
CM: conducta materna  
CPF: corteza prefrontal  
CPFm: corteza prefrontal media  
DA: dopamina  
EEM: error estándar de la media  
HD: hipotálamo dorsal  
HHA: eje hipotálamo-hipófisis-adrenal  
HLC : hormona liberadora de corticotropina  
HY: high-yawning  
LAM: laberinto acuático de Morris  
LSM: laberinto seco de Morris  
LTM: lóbulo temporal medio  
LY: low-yawning  
MCP: memoria de corto plazo  
MLP: memoria de largo plazo  
MT: memoria de trabajo  
N: nulípara  
NA: núcleo accumbens  
NMDA: N-metil-d-aspartato  
NVLET: núcleo ventral del lecho de la estría terminal.  
ON: óxido nítrico  
P: primípara  
PCA: prueba de campo abierto  
PRO: prueba de reconocimiento de objetos

PRUO: prueba de reubicación de objetos

GPV: globo pálido ventral

RG: receptor a glucocorticoides

RM: receptor a mineralocorticoides

SD: Sprague-Dawley



<b>1 RESUMEN</b>	10
<b>2 INTRODUCCIÓN</b>	12
2.1 Conducta materna	12
2.2 Memoria de corto y largo plazo	16
2.2.1 Circuitos neurales de la memoria	17
2.2.2 Memoria de reconocimiento	19
2.2.3 Neuroquímica de la memoria	19
2.3 Pruebas para evaluar la memoria	21
2.4 Efectos de la maternidad sobre la memoria	22
2.5 El estrés en la maternidad	24
2.6 Pruebas para evaluar el estrés	26
2.7 Efectos del estrés en la memoria	27
<b>3. ANTECEDENTES</b>	31
3.1 Sublínea de alto y de bajo bostezo	31
<b>4. JUSTIFICACIÓN</b>	33
<b>5. HIPÓTESIS</b>	33
<b>6. OBJETIVO GENERAL</b>	33
6.1 Objetivos particulares	33
<b>7. METODOLOGÍA</b>	34
7.1 Animales	34
7.2 Apareamiento	34
7.3 Pruebas	35
7.3.1 Prueba de campo abierto	36
7.3.2 Prueba de reconocimiento de objetos	37
7.5 Análisis estadístico	39
7.5.1 Prueba de campo abierto	39
7.5.2 Prueba de reconocimiento de objetos	39
<b>8. RESULTADOS</b>	40
8.1 Determinación del efecto de la experiencia materna en la respuesta al estrés de las sublíneas LY, HY y la cepa Sprague-Dawley	40
8.2 Descripción de las características de la memoria de corto y largo plazo	

en las hembras de la sublínea HY y LY_____	48
8.2.1 <i>Latencia de acercamiento al primer objeto</i> _____	48
8.2.2 <i>Memoria de corto y largo plazo de las sublíneas HY, LY y la     cepa Sprague-Dawley</i> _____	51
8.2.3 <i>Efecto del número de experiencias maternas sobre la memoria     en las hembras de las sublíneas HY, LY y la cepa Sprague-Dawley</i> __	52
<b>9. DISCUSIÓN</b> _____	58
<b>10. CONCLUSIONES</b> _____	67
<b>11. REFERENCIAS</b> _____	68

## 1. Resumen

La conducta materna se define como un conjunto de comportamientos desempeñados por la madre, los cuales aseguran la sobrevivencia de sus crías. Se ha considerado que la maternidad solo beneficiaba a las crías en su maduración fisiológica y cognitiva. Sin embargo; actualmente se sabe que la madre también se beneficia a partir de esta experiencia presentando una mejora en su memoria y una disminución de la respuesta a los estresores.

Se sabe que el mejoramiento de la memoria a causa de la maternidad es consecuencia de las fluctuaciones hormonales que ocurren durante la preñez, el parto y la lactancia, así como una mayor neurogénesis en el hipocampo y los estímulos somato-sensoriales y olfativos provenientes de las crías hacia su madre.

La disminución del estrés en la hembra con experiencia materna coincide con una regulación a la baja del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal regulando la respuesta del organismo ante estresores, el cual es benéfico para desempeñarse adecuadamente en las actividades demandantes que supone el cuidado de sus crías.

En pruebas de campo abierto, el laberinto en cruz elevado y la caja luz-oscuridad, la sublínea de alto bostezo (HY de sus siglas en inglés; high-yawning) ha sido caracterizada como más activa y ansiosa que la sublínea de bajo bostezo LY (de sus siglas en inglés; low-yawning) y la cepa Sprague-Dawley. En la conducta materna las hembras HY acarrear a sus crías al nido más rápido, realizan re-acarrees y acarrees atípicos, construyen nidos de menor calidad y presentan mayor latencia para lamer la región ano-genital y corporal de sus crías en comparación con lo obtenido por las hembras LY y SD.

Considerando las modificaciones en la conducta materna de la sublínea HY y su fenotipo estresable, el objetivo de este trabajo fue determinar si la experiencia materna y el genotipo de cada sublínea tienen efectos sobre la memoria de corto y largo plazo y la respuesta al estrés en hembras nulíparas, primíparas y bíparas en tres grupos de ratas: HY, LY y SD.

Se formaron nueve grupos experimentales considerando la sublínea (HY, LY y SD) y la experiencia materna (nulíparas primíparas y bíparas), para la evaluación de la respuesta al estrés a través de la prueba de campo abierto y la evaluación de la memoria de corto y largo plazo por medio de la prueba de reconocimiento de objetos (PRO).

Los resultados obtenidos muestran que la sublínea HY al recorrer una mayor distancia en el campo abierto es más activa que las hembras LY y SD, de manera similar a lo reportado en los machos. También obtuvimos que la experiencia materna no tiene efecto sobre la disminución de los niveles de estrés de las sublíneas LY y HY.

Las pruebas de memoria mostraron que la cepa Sprague-Dawley presenta bajos niveles de exploración en comparación a las sublíneas HY y LY, de las cuales las hembras HY pasan más tiempo explorando un objeto nuevo al evaluar su memoria de corto y largo plazo.

## **2. Introducción**

La reproducción es una etapa de gran importancia en la vida de cualquier organismo, este fenómeno asegura la supervivencia de determinado arreglo de genes y de los fenotipos que de ellos surgen (Knobil y Neill, 2006). Como consecuencia de la reproducción se encuentra la maternidad, una conducta desarrollada por algunas especies, la cual involucra la inversión de una gran cantidad de energía y que varía entre todos los grupos de organismos, siendo los mamíferos uno de los grupos que poseen las conductas parentales más variadas y prolongadas (Feldman, 2016).

### **2.1 Conducta materna**

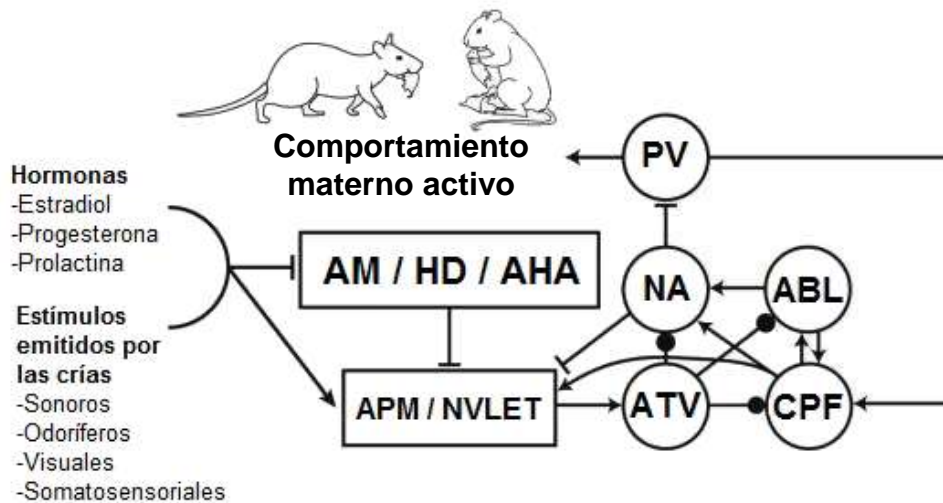
La conducta materna en la rata se define como los comportamientos que aparecen inmediatamente antes y después del parto y que son preparatorios a la llegada de las crías, en respuesta a su presencia o ante la amenaza de los congéneres mediante el despliegue de la agresión materna (Knobil y Neill, 2006). Las conductas preparatorias o pre-parto abarcan la construcción del nido, el aseo genital y del vientre de la hembra, mientras que en las conductas post-parto se presenta la placentofagia, el acarreo de las crías al nido, una posición de espalda arqueada para la alimentación de la descendencia (cifosis) y el lamido corporal y del área ano-genital de las crías (Rosenblatt, 1975). Para los roedores al ser mamíferos altriciales es decir que al momento de nacer no han madurado, el despliegue de la conducta materna (CM) es esencial para su sobrevivencia y maduración (Drury y cols., 2016).

La expresión de la conducta materna depende de factores hormonales, estímulos sensoriales, cambios mediados por plasticidad neuronal y de factores epigenéticos (Stolzenberg y Champagne, 2016). En la rata se requiere la secreción continua y creciente de progesterona para el mantenimiento de la gestación y crecimiento del embrión, posteriormente hacia el final de la preñez y poco antes del parto ocurre un incremento de los niveles de estrógenos y una disminución brusca de progesterona, debido a esto ocurre una liberación periférica de prolactina y oxitocina. Este perfil hormonal de la rata parturienta es necesario para que se despliegue rápidamente la conducta materna (Stolzenberg y Champagne, 2016; Lonstein y cols., 2015; Bridges,

2015). Otras moléculas que han sido implicadas en el inicio de esta conducta son los opioides, la hormona arginina-vasopresina y los neurotransmisores dopamina y serotonina (Bridges, 2015).

La señalización hormonal descrita con anterioridad regula el inicio de la conducta materna y tiene efectos sobre una red neural que controla este comportamiento, de las principales estructuras cerebrales que componen esta red son el área preóptica media (APM) en el hipotálamo y el núcleo ventral del lecho de la estría terminal (NVLET) (Numan y Stolzenberg, 2009; Lonstein y cols., 2015). Este sitio APM/NVLET no solo recibe las señales hormonales de la preñez y lactancia sino que también integra la información sensorial que las crías envían a su madre, ambos estímulos suprimen la señal inhibitoria que la amígdala media (AM), el hipotálamo dorsal (HD) y el área hipotalámica anterior (AHA) envían a la APM/NVLET (Numan y Stolzenberg, 2009).

Al mismo tiempo mediante estímulos sensoriales las crías, a través de la APM/NVLET, estimulan el área tegmental ventral (ATV) lo cual genera una liberación de dopamina (DA) en el núcleo accumbens (NA) la corteza prefrontal (CPF) y la amígdala basolateral (ABL). La neurotransmisión dopaminérgica en el NA inhibe al globo pálido ventral (GPV) lo cual promueve la expresión de los componentes activos de la conducta materna como el acarreo y el aseo, véase figura 1 (Numan, 2007; Lonstein y cols., 2015).



**FIGURA 1. Circuito neural para la realización del comportamiento activo materno.** Se muestran dos componentes activos de la conducta materna; el acarreo y aseo. Para que la hembra ejecute estas conductas los estímulos hormonales y los emitidos por las crías a su madre, por ejemplo los somatosensoriales, son integrados en el área preóptica media y el núcleo ventral del lecho de la estria terminal (APM/NVLET). Ambos estímulos suprimen la señal inhibitoria que la amígdala media (AM), el hipotálamo dorsal (HD) y el área hipotalámica anterior (AHA) envían a la APM/NVLET, al mismo tiempo estas regiones estimulan el área tegmental ventral (ATV), lo cual genera una liberación de dopamina (DA) en el núcleo accumbens (NA), la corteza prefrontal (CPF) y la amígdala basolateral (ABL). La neurotransmisión dopaminérgica en el NA inhibe al globo pálido ventral (GPV) lo cual promueve estos componentes activos de la conducta materna. Modificado de Lonstein y cols., 2015.

Pese al papel de las hormonas en el inicio de la conducta materna, el mantenimiento de este comportamiento es independiente de ellas (Numan y Stolzenberg, 2009). Las crías constituyen un factor clave en el mantenimiento de esta conducta, ya que son una fuente importante de estímulos para la madre. La primera interacción entre la hembra parturienta y las crías es inmediatamente después del parto cuando ocurre la placentofagia (Kristal y cols., 2012). Posteriormente cuando la madre lame y frota con el hocico a su progenie (señales somatosensoriales) se produce un incremento en el tiempo que la hembra permanece sobre la camada hasta alcanzar la posición de cifosis; que es la posición de espalda arqueada para amamantar (Lonstein y cols., 2015). Las señales auditivas que recibe la madre de sus crías son vocalizaciones

ultrasónicas que emiten cuando están fuera del nido las cuales permiten a la hembra ubicarlas para realizar el acarreo, amamantarlas y conocer la emocionalidad de sus crías la cual se refleja en la frecuencia con la que emiten estas vocalizaciones ultrasónicas (VUS): cuando la madre está aislada de las crías, estas últimas incrementan la emisión de las VUS en comparación a cuando su madre está con ellas (Shair y cols., 1999 y Ragan y Lonstein, 2014).

Los estímulos descritos con anterioridad representan una recompensa para la hembra, lo anterior ha sido confirmado a través de diferentes pruebas como el condicionamiento de lugar, donde una hembra suele elegir el espacio donde están presentes las crías, antes que el área donde se encuentra el alimento (Fleming y cols., 1994). También se ha descrito que la succión de las crías durante el amamantamiento genera una liberación central de oxitocina la cual incrementa la liberación de dopamina en el núcleo accumbens un componente del sistema de recompensa, lo cual estimularía a la madre a continuar amamantando a sus crías (Lonstein y cols., 2014; Ragan y Lonstein 2014).

Los múltiples estímulos sensoriales que recibe la hembra de sus crías lactantes tienen un rol en los cambios plásticos que experimenta el cerebro de la madre (Kinsley y cols., 2008). Ejemplo de ello es la memoria materna, esta se manifiesta cuando una hembra pasa por una segunda experiencia materna y realiza un mejor desempeño en el cuidado de sus crías en comparación con su primera camada (Lonstein y cols., 2015; Kinsley y cols., 2008; Bridges, 2016). También se ha descrito que en los días postnatales dos y ocho se observa una disminución en la proliferación neuronal en el giro dentado del hipocampo, no obstante esta situación se revierte cuando se destetan las crías (día postnatal 28) donde las hembras primíparas muestran una mayor proliferación neuronal en esta misma zona en comparación con las hembras vírgenes (Leuner y cols., 2007).

Por mucho tiempo se consideró que la maternidad solo tenía efectos positivos en las crías ya que esta resultaba benéfica para su maduración fisiológica y cognitiva, sin embargo se ha descrito que las hembras que son madres presentan una mejora en la memoria de corto y largo plazo así como la memoria espacial (Kinsley y cols., 1999).

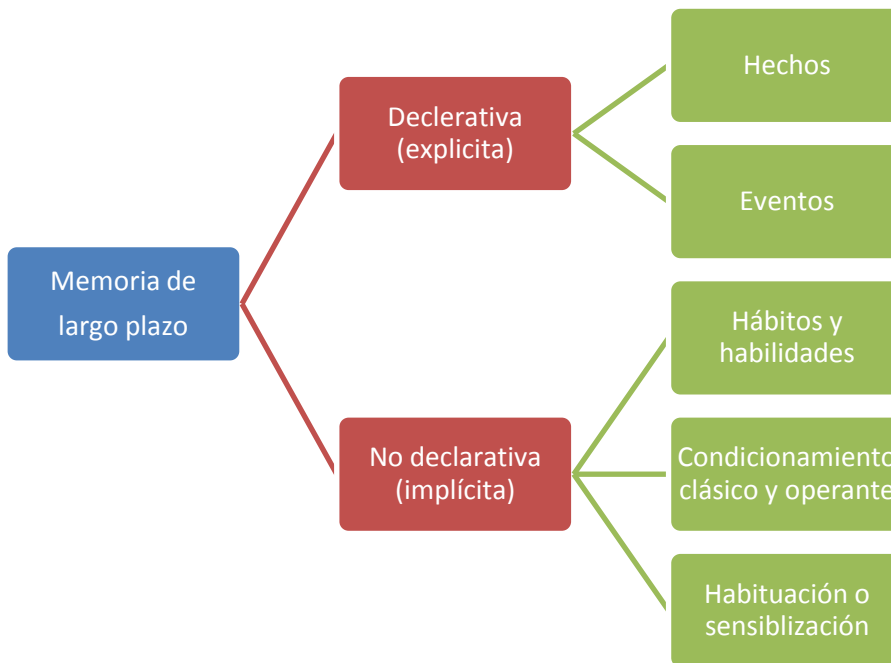


## **2.2 Memoria de corto y largo plazo**

Todos los organismos se encuentran en constante interacción con su ambiente, la respuesta que el individuo tenga a las fluctuaciones de su medio determina el comportamiento que este expresará. Los procesos de aprendizaje y memoria forman parte del mecanismo de respuesta a diferentes estímulos, siendo el primero la manera en la cual adquirimos información del entorno y la memoria a su vez es el proceso por el cual esa información adquirida es codificada, almacenada y después recuperada (Kandel y cols., 2000).

La memoria suele clasificarse en memoria de trabajo (MT), de corto (MCP) y largo plazo (MLP), la primera se refiere a una cantidad de información limitada que se puede mantener inconscientemente durante la ejecución de un comportamiento, discurso o razonamiento, algunas veces caracterizada como siete dígitos, cuatro objetos o un rostro. (Fuster, 1998, Jeneson y Squire, 2012; Sapiurka y cols. 2016). La memoria de corto plazo es la capacidad de mantener cierta cantidad de información (mayor que la MT) accesible por un periodo de tiempo corto (Cowan, 2008, Eriksson y cols., 2015), por otro lado: la memoria de largo plazo se refiere a lo que podemos recordar del pasado cuando la información que se ha aprendido ya no ocupa la memoria de trabajo (Jeneson y Squire, 2016).

La memoria de largo plazo a su vez se divide en declarativa o explícita y no declarativa o implícita, la primera se refiere al recuerdo consciente de hechos y eventos, mientras que la memoria no declarativa o implícita involucra una colección de procedimientos (hábitos y habilidades), el condicionamiento clásico y operante, la habituación y la sensibilización (véase figura 2; Squire, 1986; Squire y Zola-Morgan, 1988; Squire y Zola-Morgan, 1991 y Kandel y cols., 2000).



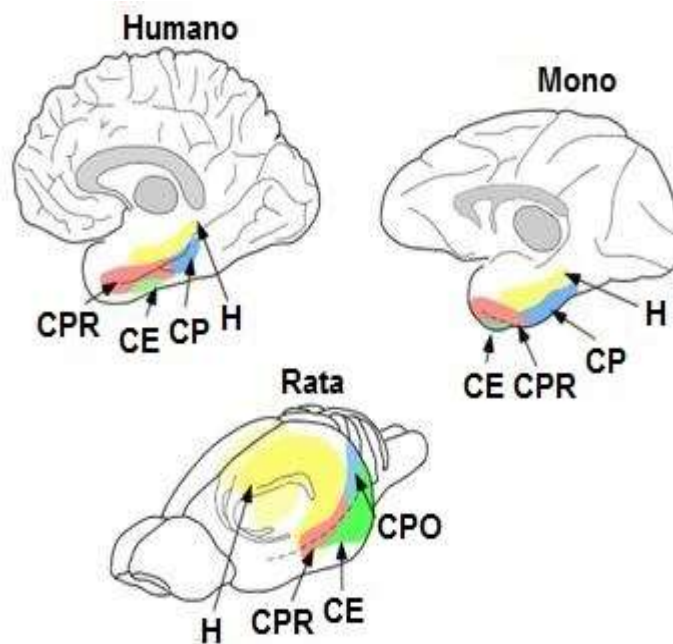
**FIGURA 2. Clasificación de la memoria de largo plazo.** La memoria de largo plazo se divide en declarativa la cual implica la verbalización de la memoria de hechos y eventos y la no declarativa en la cual no es necesaria la formación de una imagen en la memoria de trabajo, este proceso incluye los hábitos y habilidades (por ejemplo escribir o leer), el condicionamiento clásico y operante y la habituación y sensibilización. Modificado de Squire y Zola-Morgan, 1988.

### 2.2.1 Circuitos neurales de la memoria

La memoria no es una identidad única, más bien se compone de múltiples procesos y sistemas (Squire, 1992). En el cerebro de los mamíferos la memoria está organizada en un grupo de sistemas neurales que funcionan de manera simultánea con cierta independencia para procesar y almacenar información de los eventos que ocurren en la vida de un organismo (White y McDonald, 2002; McDonald y Hong, 2013). Estos sistemas neurales se caracterizan por presentar una estructura central con conexiones eferentes y aferentes, cada sistema recibe información la procesa en su forma particular en base a su arquitectura neural, almacena una parte dependiendo de las circunstancias e influencia el comportamiento (White y McDonald, 2002). En la rata se

han propuesto tres sistemas neurales para la memoria: el sistema del hipocampo, el del estriado dorsal y el de la amígdala (White y McDonald, 2002).

Particularmente el sistema neural del hipocampo se ubica en el lóbulo temporal medio (LTM), un reconocido sistema de memoria (Squire, 1986). Este sistema se compone del hipocampo y de las áreas corticales adyacentes: entorrinal, perirrinal y parahipocampal (Squire y Zola-Morgan, 1991; Sapiurka y cols. 2016). Estudios en humanos con lesiones en el hipocampo y las cortezas antes mencionadas, además de monos y ratas con lesiones en estas mismas regiones han mostrado que para estas tres especies el sistema de memoria del lóbulo temporal medio participa al menos en una función particular de la memoria (véase figura 3; Squire, 1992).



**FIGURA 3. Sistema de memoria del lóbulo temporal medio en el humano, mono y rata.** Se muestra el cerebro del humano, el mono y la rata, (H) hipocampo, (CE) corteza entorrinal, (CPR) corteza perirrinal, (CP) corteza parahipocampal y la (CPO) corteza postrinal. Modificado de Kerr y cols, 2007.

En humanos durante el aprendizaje y para el establecimiento de la memoria declarativa es de gran importancia la integridad del sistema del LTM. Con anterioridad se mencionó que la memoria declarativa consiste en la recuperación consiente de recuerdos es decir; es necesario tener una imagen en la memoria de trabajo; en humanos este proceso se relaciona con la verbalización de la memoria, tal condición excluiría a otras especies de presentar este tipo de proceso cognitivo. Sin embargo en monos y roedores un medio para evaluar la memoria declarativa es a través del reconocimiento de objetos, olores y espacios (Squire, 1992).

### **2.2.2 Memoria de reconocimiento**

La memoria de reconocimiento involucra la realización de juicios para determinar si un estímulo es familiar o nuevo (Barker y Warburton, 2009; Barker y Warburton, 2011; Pitsikas, 2015). Este tipo de memoria también se emplea para establecer asociaciones entre el estímulo, la ubicación en donde fue previamente encontrado y el orden temporal de los estímulos (Barker y Warburton, 2009). La corteza perirrinal es una estructura neural indispensable para la memoria de reconocimiento y la asociación del estímulo en el espacio, esta asociación también depende de la corteza prefrontal media (Barker y Warburton, 2009). Respecto de la participación del hipocampo en la memoria de reconocimiento existe controversia, hay autores que afirman la participación de todo el lóbulo temporal medio en este tipo de memoria (Broadbent y cols., 2010; Balderas y cols., 2015) y hay otros estudios que discrepan de esa afirmación (Barker y Warburton, 2011)

### **2.2.3 Neuroquímica de la memoria**

El sistema colinérgico ha sido propuesto como un regulador clave en los mecanismos de memoria y aprendizaje (Tinsley y cols., 2011). Se ha descrito que los dos tipos de receptores a acetilcolina; los muscarínicos (MAch) y los nicotínicos (NAch), tienen participación en los procesos cognitivos (Gold, 2003 y Colciago y cols., 2015). Los NAch influyen la orientación de la atención y la detección de señales, mientras que los MAch activan los circuitos para el procesamiento de la información adquirida (Hasselmo y Sarter, 2011). Particularmente se ha descrito que la señalización por

acetilcolina actúa de manera sinérgica con el sistema glutamatérgico en la regulación de la memoria de reconocimiento visual, también se ha descrito que la neurotransmisión colinérgica mediada por el receptor muscarínico interactúa con los receptores a glutamato: N-metil-d-aspartato (NMDA) mediando la memoria de reconocimiento de largo plazo, pero si la interacción ocurre con el receptor a kainato entonces se regula la memoria de reconocimiento de corto plazo (Barker y Warburton, 2009).

Otro mediador implicado en los procesos de memoria es el óxido nítrico (ON), la acción del ON sobre el aprendizaje y la memoria ocurre a través de sus donadores, moléculas que permiten la liberación continua de óxido nítrico a lo largo del tiempo. Los donadores del ON modulan la liberación de neurotransmisores con una función importante en la cognición como son glutamato, acetilcolina, GABA, a su vez estos donadores promueven la potenciación de largo plazo, la cual se considera el mecanismo electrofisiológico de la memoria (Pitsikas, 2015).

La corteza prefrontal media está ampliamente inervada por fibras dopaminérgicas (Puig y cols., 2014), involucrando al neurotransmisor dopamina en la regulación de la memoria de trabajo y otras funciones cognitivas superiores (Nelson y cols., 2011). La consolidación de la memoria de largo plazo involucra interacciones de la región CA1 del hipocampo y la corteza entorrinal, lo cual depende de la modulación a través de los receptores dopaminérgicos D<sub>1</sub>, los beta noradrenergicos y el receptor a serotonina-1A (Izquierdo y cols., 1998).

Los procesos de consolidación y recuperación de la memoria también presentan una regulación hormonal, se ha demostrado que el estradiol tiene efectos a corto y largo plazo en la morfología, fisiología y química neural (Colciago y cols., 2015). Particularmente la memoria de reconocimiento de objetos se ve beneficiada después de aplicar tratamientos agudos o crónicos con estradiol (Luine, 2016). Algunos de los mecanismos implicados en la regulación de la memoria y el aprendizaje por el estradiol involucran un incremento de las espinas dendríticas y la densidad de las sinapsis con estas espinas (Luine, 2014).

### 2.3 Pruebas para evaluar la memoria

El laberinto acuático de Morris (LAM), en sus diferentes variantes, es una prueba que evalúa la memoria espacial del sujeto a través de la localización de una plataforma oculta en una piscina con pistas visuales internas y externas y es la que se utiliza con más frecuencia (Morris, 1984; Darnaudéry y cols., 2007; Cost y cols., 2014; Bodensteiner y cols., 2006 y Lemaire y cols., 2006). A partir del LAM se desarrolló la versión seca de este laberinto: LSM (laberinto seco de Morris) el cual evalúa habilidades de forrajeo; una característica que involucra la memoria espacial (Love y cols., 2005). Otras pruebas que pueden ser empleadas para evaluar esta característica cognitiva son: el laberinto radial de ocho brazos (Pawluski y cols., 2006b) y la prueba de re-ubicación de objetos (PRUO) (Cost y cols., 2014).

Uno de los inconvenientes que conlleva la realización de las pruebas que evalúan la memoria es el estrés o la aversión que el laberinto genera a los animales; sobre todo en roedores, ésta situación puede aminorarse a través de esquemas de habituación previos a la ejecución de la prueba o por medio del empleo de pruebas basadas en la preferencia natural a lo novedoso que presentan los roedores. Ennaceur y Delacour, (1988) diseñaron una prueba basada en este comportamiento: la prueba de un ensayo o bien la prueba de reconocimiento de objetos (PRO).

Existen diferentes nombres para referirse a la PRO; prueba de preferencia de objeto novedoso (PON) o reconocimiento de un objeto nuevo (RON), cualquier denominación es válida (Akkerman y cols., 2012). Generalmente la prueba se realiza en una arena de campo abierto y se divide en dos fases: una de familiarización (E1) y otra de recuperación (E2) ambas de una misma duración, la cual varía de tres hasta diez minutos, entre ambas fases existe un periodo de pausa el cual es variable dependiendo de si se analiza la memoria de corto o largo plazo. En el primer caso la duración de la pausa oscila entre 3 y 30 minutos y para la memoria de largo plazo desde 6 hasta 24 horas (van Goethem y cols., 2012).

Durante E1 se presentan al roedor dos objetos idénticos para que los explore libremente, este comportamiento se considera cuando el animal acerca su nariz a una distancia igual o menor a 2 centímetros, posteriormente inicia el periodo de pausa y después comienza la fase E2, en la cual se presenta al roedor uno de los objetos que conoce y uno diferente (Ennaceur y Delacour, 1988; Akkerman y cols., 2012). Un mayor tiempo de exploración del objeto novedoso durante E2 indicaría que el sujeto recuerda el objeto familiar. La principal medida obtenida a partir de esta prueba es el tiempo de exploración, no obstante también se puede obtener la latencia de acercamiento a ambos objetos o solo al novedoso, índices y radios de discriminación, así como medidas relativas y absolutas de la exploración (Akkerman y cols., 2012).

## **2.4 Efectos de la maternidad sobre la memoria**

El cuidado parental es un evento natural inherente a la mayoría de las especies que altera los componentes motivacional, cognitivo y conductual sobre todo de la hembra. El grupo de Kinsley y cols., (1999) fue el primero en describir que la experiencia materna tiene beneficios sobre la memoria; mostrando que ratas multíparas (con más de dos partos) tenían un mejor desempeño en su memoria de trabajo espacial en comparación con hembras nulíparas (sin experiencia materna), esto al aplicarles la versión seca del laberinto de Morris (LSM; Kinsley y cols., 1999).

La explicación propuesta para este evento es que en condiciones naturales la hembra que ha parido debe realizar un forrajeo eficiente, un comportamiento que depende de la memoria espacial, lo cual reduce el tiempo que la madre pasa lejos de sus crías y minimiza la energía invertida durante el periodo de lactancia (Love y cols., 2005).

Varios autores han reportado esta mejora en la memoria espacial desde la primera experiencia materna. Pawluski y cols., (2006a) trabajando con hembras nulíparas, primíparas, hembras que solo experimentaron el parto, nulíparas sensibilizadas; las cuales son hembras sin experiencia sexual pero que han estado en contacto con crías y con multíparas 55 días después del destete y utilizando el

laberinto radial de ocho brazos, mostraron que la primera experiencia materna altera tanto la memoria de largo plazo, así como la de corto plazo incluso mucho tiempo después del destete y estos efectos no se deben a la preñez o a la maternidad por separado.

Pawluski y cols., (2006a) mencionan que también el contacto con las crías es importante para la mejora en la memoria. Lambert y sus colaboradores (2005), trabajando con hembras primíparas y nulíparas con y sin contacto con crías y al aplicarles el LSM, obtuvieron que las hembras que pasan por la preñez y la lactancia de su progenie (madres naturales) tienen mejores habilidades de forrajeo que las hembras que son separadas de sus crías al momento del parto y las nulíparas con o sin sensibilización (Lambert y cols., 2005).

Barha y cols., (2015) al evaluar el desempeño de hembras nulíparas y multíparas (más de 5 partos) en el LAM, mostraron que la memoria espacial de corto plazo presenta mejoría por efecto de varias experiencias reproductivas, mientras que la memoria espacial de largo plazo se ve afectada por la experiencia materna.

De manera similar Bodensteiner y cols., (2006) al trabajar con grupos de hembras nulíparas y preñadas probadas en el LAM no obtuvieron diferencias entre los grupos en la manera en la cual adquieren y recuerdan la ubicación de la plataforma oculta, lo cual indica que el estatus reproductivo no afecta la memoria de largo plazo. Por otro lado; en este mismo experimento se mostró que al cambiar la plataforma de posición en cada día del aprendizaje, las hembras preñadas no invierten más tiempo en el cuadrante donde se ubicó la plataforma con anterioridad, lo cual sugiere que la preñez mejora la memoria de corto plazo.

La memoria espacial no es la única que mejora por efecto de la maternidad, Macbeth y cols., (2008) aplicaron dos pruebas para evaluar la memoria. La de reconocimiento de objetos (PRO) y la de reubicación de objetos (PRUO) a grupos de hembras nulíparas y multíparas, encontrando que las hembras multíparas tienen un mayor radio de exploración que las nulíparas en el PRO. Sin embargo; estos autores no



observaron diferencias entre los grupos en el PRUO (prueba que evalúa la memoria espacial).

Paris y Frye (2008) aplicaron las pruebas de reconocimiento y reubicación de objetos a grupos de hembras multíparas de tres partos y nulíparas, mostrando que las hembras multíparas pasan un mayor tiempo explorando el objeto novedoso durante la recuperación de la memoria en el PRO en comparación a las nulíparas; adicionalmente evaluaron multíparas y nulíparas en dos fases del ciclo estral: diestro y estro, mostrando que las hembras con varias experiencias maternas y en estro pasan más tiempo con el objeto novedoso en comparación con las hembras en diestro. Cabe recalcar que la información sobre el ciclo estral como un factor que influye en el desempeño de una hembra en la PRO es contradictoria. Sutcliffe y cols., (2007) evaluaron el desempeño de hembras en las distintas etapas del ciclo estral en el PRO y con varios periodos de pausa, estos autores no obtuvieron diferencias significativas entre los grupos, lo cual indicaría que la etapa del ciclo estral no afecta la actividad exploratoria de las hembras y por ende su memoria.

## **2.5 El estrés en la maternidad**

La preñez y el periodo postparto se relacionan con fluctuaciones hormonales y cambios en la función y regulación endocrina (Brummelte y Galea, 2010). Se ha descrito que la sensibilidad y la regulación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA) está alterada durante la gestación y el periodo postparto tanto en humanos como en roedores (Brunton y cols., 2008). Al estar alterada la sensibilidad del eje HHA también se encuentra modificada la respuesta al estrés, el cual se define como una reacción biológica, psicológica y del comportamiento hacia un estímulo que interfiere con la homeostasis del organismo (Vermetten y Bremner, 2002).

En la preñez tardía se ha demostrado que se incrementan los niveles de un metabolito de la progesterona la alopregnanolona, previo al parto, este neuroesteroide suprime las respuestas al estrés del eje HHA para proteger a las crías de los efectos programadores de los glucocorticoides. En este mecanismo la alopregnanolona mejora la neurotransmisión del ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) en el cerebro medio

periacueductal, considerado la vía común de los comportamientos de ansiedad y miedo, y en el núcleo paraventricular del hipotálamo en las neuronas que secretan hormona liberadora de corticotropina (HLC), disminuyendo la secreción de esta, a la vez ocurre una disminución en la sensibilidad a la HLC en la adenohipófisis (Neumann, 2003; Brunton y Russel, 2010; Lonstein y cols., 2014). También se ha descrito que existe una disminución en la capacidad de los glucocorticoides a unirse a sus receptores en el hipocampo durante las dos primeras semanas de lactancia (Hillner y cols., 2014). Esta desregulación del sistema HHA de la madre favorece a las crías ya que se considera que la hiperreactividad emocional puede alterar el cuidado materno (Lonstein y cols., 2014).

El mantenimiento de los niveles reducidos de ansiedad en una hembra primípara requiere de contacto reciente con las crías (Neumann, 2003; Lonstein y cols., 2014). Se ha mostrado que si a una hembra lactante se le retira su camada cuatro horas antes de que realice la prueba del laberinto en cruz elevado para evaluar su ansiedad, para este comportamiento la hembra primípara presenta características de una nulípara (Ragan y Lonstein, 2014). También se ha descrito que cuando una hembra virgen tienen contacto con crías al evaluar su comportamiento ansioso este presenta una disminución (Ferreira y cols., 2002).

La etapa de la maternidad en que las ratas hembras presentan una mayor disminución en los comportamientos ansiosos es durante la primera semana de lactancia. Lonstein (2005) evaluó a hembras lactantes en el laberinto en cruz elevado en diferentes días después del parto; 1, 7, 14 y 21 y las comparó con hembras vírgenes, sus resultados muestran que las hembras lactantes en el día 7 postparto pasan más tiempo y realizan más entradas a los brazos abiertos del laberinto lo cual se interpreta como niveles bajos de ansiedad (Lonstein, 2005). No obstante también se ha observado una disminución de la ansiedad en hembras después del destete, lo cual se describe a continuación.

El comportamiento de hembras nulíparas, primíparas y multíparas que se sometieron a estrés por restricción de movimiento fue analizado en la prueba de campo abierto por Wartella y cols., (2003). Estos autores reportaron que las hembras nulíparas

presentan una mayor incidencia de inmovilidad, congelamiento o “freezing” en el campo abierto en comparación a las hembras con una o más experiencias maternas. Con respecto al número de cruces por el cuadro central en el campo abierto las nulíparas efectuaron menos cruces en relación a las primíparas y las múltiparas. Los resultados anteriores indican que las hembras con experiencia materna exploran más el campo abierto, lo cual se relaciona con una reactividad al estrés disminuida (Wartella y cols., 2003).

En pruebas como el laberinto en cruz elevado se ha mostrado que después del destete las hembras con una y dos experiencias maternas pasan más tiempo en los brazos abiertos, y este comportamiento perdura hasta los 22 meses de edad (Love y cols., 2005). Al aplicar la prueba de la caja luz-oscuridad a hembras en la etapa postparto estas muestran una disminución de los comportamientos ansiosos en comparación con las hembras nulíparas, también en esta prueba al retirar a las crías por 4 horas las hembras primíparas incrementan su ansiedad (Miller y cols., 2011).

Brummelte y Galea (2010) aplicaron a ratas hembra una dosis baja (10mg/kg) y una alta (40 mg/kg) de corticosterona durante la preñez y en el periodo postparto y después evaluaron su conducta materna. Los resultados mostraron que las ratas primíparas expuestas a altos niveles de corticosterona después del parto presentan una disminución en el tiempo que pasan alimentando y aseando a sus crías, en comparación a las hembras que recibieron una concentración baja de corticosterona, lo cual indica que después del parto existe un periodo sensible a la acción de los glucocorticoides y que esta reacción altera el cuidado materno que la hembra provee a sus crías (Brummelte y Galea, 2010).

La disminución en la respuesta al estrés en las hembras con experiencia materna se considera indispensable para que la nueva madre pueda desempeñarse adecuadamente en el cuidado de sus crías, la búsqueda de alimento y la protección de su progenie ante depredadores (Neumann, 2003).

## **2.6 Pruebas para evaluar el estrés**

La prueba de campo abierto consiste en confrontar a un roedor con un espacio desconocido y muy amplio en relación al espacio en el que el animal suele vivir, en esta situación el sujeto espontáneamente prefiere la periferia (tigmotaxis) en lugar del centro del campo. El ensayo suele durar de 5 a 20 min y se evalúan distintos comportamientos como son: locomoción, frecuencia de apoyos y erguidos, aseo y la distancia recorrida (Prut y Belzung, 2003)

La prueba de la caja luz-oscuridad consiste en introducir a la rata en una caja rectangular que está dividida a la mitad en dos compartimentos, uno iluminado y uno oscuro, la división presenta una puerta que conecta ambos espacios. Los comportamientos que se evalúan para analizar la ansiedad del animal en esta prueba son el tiempo que la rata pasa en el compartimento iluminado, el número de transiciones entre las cámaras, la latencia para entrar a la cámara iluminada, la latencia para regresar a la caja iluminada (Miller y cols., 2011).

El laberinto en cruz elevado consiste en una cruz de madera o de lámina acrílica que se encuentra elevada de suelo aproximadamente de 70 a 90 cm con dos brazos abiertos y dos brazos cerrados. La prueba consiste en colocar a la rata en el centro con la cara hacia alguno de los brazos cerrados permitiendo la libre exploración de ambos brazos. La entrada a los brazos abiertos se asocia con concentraciones de corticosterona elevadas, un incremento de la inmovilidad y de la deposición de bolos fecales, lo cual es una señal de estrés (Hogg, 1996).

## **2.7 Efectos del estrés en la memoria**

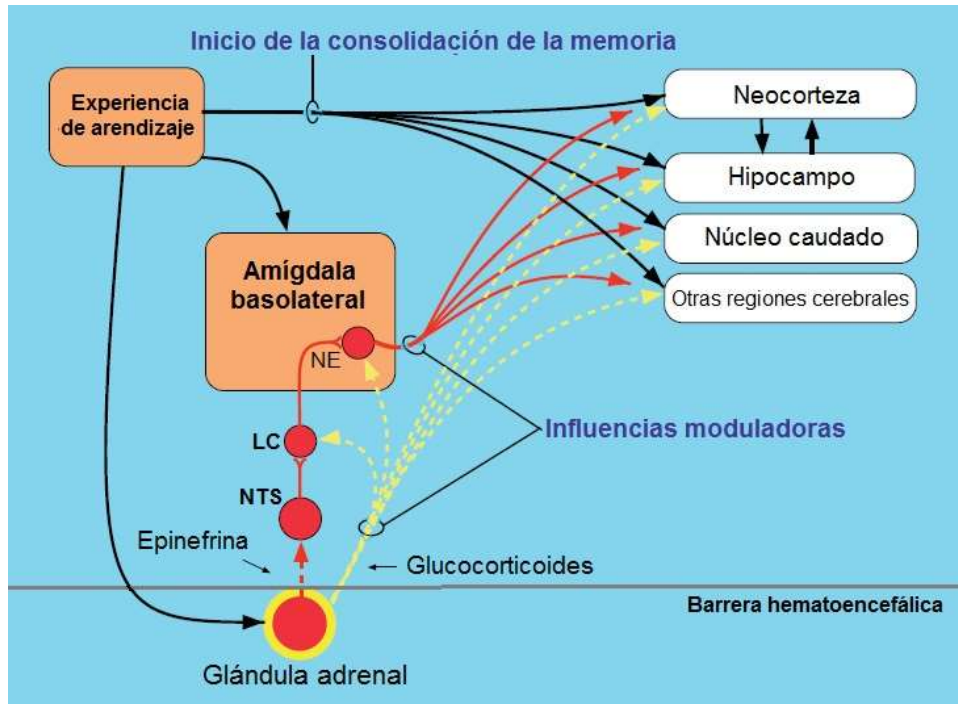
Los efectos del estrés como modulador de la memoria se vinculan a los cambios fisiológicos y endocrinos que ocurren en respuesta a los estresores (Schwabe y cols., 2010). Dos de los mecanismos que el organismo usa para restablecer la homeostasis después de un evento estresante son una respuesta rápida por medio del sistema nervioso autónomo secretando adrenalina y noradrenalina y una respuesta lenta por el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal a través de la secreción de glucocorticoides (Schwabe y cols., 2010; Joëls y Baram, 2009). Ambos tipos de moléculas participan en

distintas fases del proceso de memoria y aprendizaje: la adquisición de la información, la consolidación y la recuperación de la memoria (Schwabe y cols., 2010).

El efecto de los corticosteroides en el desempeño de la memoria se puede apreciar a través del rol específico de los dos tipos de receptores para estas hormonas: los receptores a glucocorticoides (RG) que presentan baja afinidad a estas hormonas y los receptores a mineralocorticoides (RM) que tienen diez veces más afinidad por los corticosteroides en comparación a los RG; ambos se expresan en el hipocampo uno de los componentes del sistema de memoria del lóbulo temporal, la activación de estos receptores depende del contexto del individuo (de Kloet y cols., 1999; Schwabe y cols., 2012). Ante un estímulo ambiental ocurre la secreción de corticosteroides y la activación de los RM lo cual permite la interpretación del estímulo y la selección de la respuesta conductual, posteriormente se activan los RG que están involucrados en la consolidación de la información aprendida (de Kloet y cols., 1999).

Los efectos benéficos del estrés en la consolidación y la recuperación de la memoria son particularmente fuertes para los estímulos con componente emocional que activa al sistema límbico (Schwabe y cols., 2012) La información adquirida durante el aprendizaje, el cual induce o se asocia con estrés, activa procesos de almacenaje tiempo-dependientes en diferentes regiones del cerebro como la neocorteza, el hipocampo, el núcleo caudado, entre otras, al mismo tiempo esta experiencia de aprendizaje estimula la secreción de adrenalina, noradrenalina y glucocorticoides de las glándulas adrenales, las primeras dos hormonas no pueden cruzar la barrera hematoencefálica pero a través de las vías aferentes del nervio vago que llegan al núcleo del tracto solitario (NTS) y el locus cerúleus (LC) estimulan las proyecciones noradrenérgicas hacia la amígdala basolateral. Por otro lado los glucocorticoides al poder cruzar la barrera hematoencefálica modulan el sistema noradrenergico en el NTS y LC estimulando a la amígdala basolateral, la cual estimula la consolidación de la memoria en las áreas de almacenamiento temporal, por ejemplo el hipocampo, la corteza prefrontal y el núcleo caudado a través del fortalecimiento de los contactos sinápticos para lograr la preservación de la información. De manera independiente los glucocorticoides interactúan con estas mismas regiones favoreciendo también la

consolidación de la memoria (McGaugh, 2000; de Quervain y cols., 2009; Roozendaal y McGaugh, 2011 y Schwabe y cols., 2012; véase figura 4).



**Figura 4. Consolidación de la memoria regulada por hormonas del estrés.** Al ocurrir una experiencia de aprendizaje la información obtenida se envía a regiones de almacenamiento temporal, por ejemplo el hipocampo, por otro lado esta experiencia ocasiona la secreción de hormonas del estrés como la epinefrina y los glucocorticoides, la primera estimula a la amígdala baso-lateral a través del núcleo del tracto solitario (NTS) y el locus cerúleo (LC) y a su vez modula a los sitios de almacenamiento temporal para la consolidación de la memoria. Lo glucocorticoides modulan el efecto de la epinefrina en la amígdala basolateral y también a las regiones de almacenamiento temporal para consolidar la memoria (Modificado de McGaugh, 2000)

La actividad de la noradrenalina en la consolidación de la memoria no solo recae en la estimulación de la amígdala, esta hormona también promueve la potenciación a largo plazo (PLP), proceso electrofisiológico que también se ve mejorado por la hormona liberadora de corticotropina (HLC) (Joëls y cols., 2006). El efecto de los glucocorticoides sobre la PLP es óptimo cuando los niveles de corticosteroides están medianamente elevados, es decir cuando los RM y algunos RG están activados (de Kloet y cols., 1999), este patrón de activación de los receptores debe ocurrir a la par

que el proceso de aprendizaje, ya que si el estresor se presenta previo a la adquisición de la información nueva, por ejemplo una hora, los efectos a largo plazo de los glucocorticoides no promueven la consolidación de la información sino su eliminación, uno de los mecanismos propuestos para que ocurra este efecto es que los glucocorticoides promueven la depresión a largo plazo en lugar de la PLP, lo cual interrumpe el fortalecimiento de los contactos sinápticos (Schwabe y cols., 2012; Joëls y cols., 2006).

Otro factor importante para que el estrés beneficie la consolidación es la cantidad secretada de glucocorticoides: dosis moderadas mejoran, mientras dosis altas son menos efectivas o pueden afectar la consolidación (de Quervain y cols., 2009). Sobre este punto se ha mostrado que dosis agudas de glucocorticoides afectan la recuperación de la memoria en pruebas como el laberinto acuático de Morris, particularmente cuando la recuperación se evalúa poco tiempo después del entrenamiento, no obstante si este elemento de la memoria se evalúa 24 horas después de este régimen agudo de glucocorticoides no se observan efectos negativos (de Quervain y cols., 1998). Lo cual indicaría que el efecto adverso de los glucocorticoides sobre la recuperación de la memoria depende del tiempo y la concentración.

Lo descrito con anterioridad muestra la importancia del tiempo en que el estrés ocurre para que favorezca la memoria. Por ejemplo si el estrés se genera previo al aprendizaje se puede afectar la codificación de la información adquirida (Swabe y cols., 2012, Joëls y cols., 2009). Cuando se induce estrés crónico a una rata a través de la inmersión en agua o la restricción de movimiento, las ratas muestran daño en la adquisición en la memoria de trabajo pero no en la memoria de referencia (Mizoguchi y cols., 2001). También se ha observado que al administrar un agonista a los receptores a glucocorticoides después de la recuperación de la memoria se observa un efecto amnésico en los sujetos (Parfitt y cols., 2012).

Los glucocorticoides no solo benefician la memoria que depende de las estructuras del sistema límbico como la amígdala o el hipocampo, las hormonas del estrés también mejoran la memoria de reconocimiento y la memoria para los procedimientos, procesos en donde se implica a la corteza prefrontal media (de

Quervaine y cols., 2009). El núcleo estriado dorsal también desempeña funciones mnemónicas, al administrar infusiones de corticosteroides directamente en este núcleo después de que las ratas realizaran un aprendizaje de evitación inhibitoria, se mejoró la memoria subsecuente para esa prueba (Schwabe y cols., 2012).

### **3. Antecedentes**

#### **3.1 Sublíneas de alto y bajo bostezo**

En el Instituto de Fisiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla se seleccionaron mediante cruzamientos endogámicos (hermanos con hermanas) dos sublíneas de ratas provenientes de la cepa Sprague-Dawley (SD), una de ellas tiene una alta frecuencia espontánea de bostezos, denominada HY (High-Yawning) con un promedio de 20 bostezos por hora y otra con un promedio de dos bostezos por hora denominada LY (Low-Yawning; Urbá-Holmgren y cols., 1990).

Ambas sublíneas se caracterizan por presentar diferencias en conductas altamente estereotipadas como son el aseo, la conducta sexual masculina y la conducta materna, también se ha mostrado que las ratas HY presentan un fenotipo más activo esto, mediante la prueba de campo abierto se mostró que las ratas HY, basado en el número de cuadro cruzados y la exploración vertical, presentan más actividad locomotora en comparación a las LY, por lo que las ratas HY son emocionalmente menos reactivas que las LY (Moyaho y cols., 1995).

A través de pruebas como el laberinto en cruz elevado y el campo abierto realizadas en machos se ha mostrado que las ratas HY son más ansiosas que las LY. En el laberinto en cruz elevado los machos LY permanecen más tiempo que la sublínea HY en los brazos abiertos, en el número de exploraciones espaciales (asomar la cabeza por debajo del nivel del laberinto) la sublínea LY realiza más este comportamiento mientras que las ratas HY entran un menor número de veces a los brazos abiertos y permanecen menos tiempo en ellos (Uribe, 2010). En el campo abierto las ratas HY pasan menos tiempo en el centro del campo abierto, deambulan menos en el centro y pasan más tiempo en las esquinas del campo abierto en comparación a la sublínea LY.



Los niveles de corticosterona fueron evaluados en las sublíneas HY y LY después de someterlas a estrés por restricción de movimiento, se obtuvo que la sublínea LY tiene un pico de liberación de corticosterona poco después de la restricción del movimiento el cual es de menor amplitud que en la sublínea HY, este pico disminuye conforme avanza el tiempo en ambas sublíneas pero en las HY tarda más tiempo en disminuir en comparación a las LY (Uribe, 2010).

Con respecto a la conducta materna de las sublíneas, Ugarte y cols., (2011) mostraron que las hembras HY presentan una organización diferente en el comportamiento materno en comparación con la sublínea LY y la cepa Sprague-Dawley. Las madres HY acarrear a sus crías al nido más rápido, realizan re-acarros y acarros atípicos, construyen nidos de menor calidad y presentan mayor latencia para lamer la región ano-genital y corporal de sus crías en comparación con las hembras LY y SD (Ugarte y cols., 2011). Resultados similares fueron obtenidos por Uribe (2015) que extendió el estudio de la conducta materna de la sublínea HY al realizar un modelo de adopción cruzada (del término en inglés: cross-fostering), el cual consistió en que madres primíparas de la sublínea HY y de la cepa Sprague-Dawley criaron a la prole de la hembra contraria, esto es madres HY criaron a SD y las SD criaron a HY. Los resultados mostraron que independientemente del genotipo de las crías, las madres HY pasan menos tiempo en el nido, ejecutan menos lamino corporal y ano-genital y más reacomodos en el nido con vocalizaciones audibles de las crías en comparación a las madres SD, lo cual muestra que aunque las crías no pertenezcan a su misma sublínea la conducta materna de las hembras HY sigue un patrón diferente.

La evaluación de la interacción de la conducta de caza y la materna en hembras primíparas de las sublíneas HY, LY y SD mostró que las hembras HY tuvieron latencias cortas en el inicio de la conducta de caza respecto del inicio de la conducta materna; mientras que las hembras LY desarrollaron primero la conducta materna y después la conducta de caza y las hembras SD tuvieron un buen desempeño en ambas conductas durante la lactancia, temprana, media y tardía (Coyolt, 2013).

Lo anterior nos dice que estos tres grupos de ratas presentan diferencias en su reactividad al estrés y sobre todo marcadas diferencias en el desempeño de su

conducta materna. Sin embargo; a la fecha en estas sublíneas de ratas son desconocidos los efectos de la maternidad sobre la memoria y la respuesta al estrés.

#### **4. Justificación**

La inserción de la mujer que es madre en la vida laboral ha incrementado sus actividades y colateralmente el estrés al que está expuesta, aunado a un incremento del tiempo de separación de sus hijos, y considerando que los efectos benéficos de la maternidad sobre la memoria y el estrés son dependientes de la adecuada interacción entre la madre y su descendencia es importante determinar las consecuencias que el comportamiento materno y la emocionalidad de las sublíneas HY y LY, tiene sobre su memoria y la respuesta al estrés, para proponer a las sublíneas como un modelo animal que permita estudiar este tipo de interacciones.

#### **5. Hipótesis**

La experiencia materna, al ser un evento que mejora la memoria y disminuye la reactividad al estrés, tendrá efectos positivos sobre la memoria de corto y largo plazo y la respuesta al estrés en hembras de las sublíneas HY, LY y serán diferentes a la cepa Sprague-Dawley.

#### **6. Objetivo general**

Determinar sí la experiencia materna y el fenotipo de la sublínea tienen efectos sobre la memoria de corto y largo plazo y en la respuesta al estrés en hembras nulíparas, primíparas y bíparas de las sublíneas de alto y bajo bostezo y de la cepa Sprague-Dawley.

##### **6.1 Objetivos particulares**

1. Describir las características de la memoria de corto y largo plazo de hembras de las sublíneas HY, LY y SD.
2. Determinar si el número de experiencias maternas mejora la memoria en las hembras de las sublíneas LY y HY y de la cepa Sprague-Dawley.

3. Determinar si la experiencia materna tiene efecto sobre la respuesta al estrés de las sublíneas LY, HY y de la cepa Sprague-Dawley SD.

## **7. Metodología**

### **7.1 Animales**

Se utilizaron ratas hembras de la cepa Sprague-Dawley (SD) y de las sublíneas de alto (HY) y bajo bostezo (LY) de 90 a 180 días de edad que fueron criadas y mantenidas hasta alcanzar la edad requerida en el bioterio del Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor perteneciente al Instituto de Fisiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Las ratas se mantuvieron con un ciclo de luz oscuridad de 12:12 (con encendido de la luz a las 0700 hrs) con temperatura controlada ( $22 \pm 1$  °C), humedad relativa entre 35-45 %, agua purificada y alimento balanceado para roedores (Purina Mills, EUA) *ad libitum*.

Al tener la edad para cada grupo las ratas fueron trasladadas del bioterio al cubículo de experimentación en el laboratorio de Neurofisiología de la Conducta y Control Motor, fueron mantenidas hasta el final del experimento en las condiciones de ciclo de luz, temperatura humedad y alimentación antes mencionadas.

Se formaron al azar nueve grupos experimentales todos ellos independientes ( $n=8$ ) considerando la sublínea: HY, LY y SD y a la experiencia materna: primíparas (P: 1 parto), bíparas (B: 2 partos) y nulíparas (N: sin experiencia materna), véase tabla 1, para la evaluación de la respuesta al estrés y de la memoria de corto y largo plazo.

**TABLA 1. Conformación de los diferentes grupos experimentales.**

<b>Sublínea</b>	<b>Experiencia materna</b>	<b>Grupos</b>
HY	Nulíparas	HYN
LY		LYN
SD		SDN
HY	Primíparas	HYP
LY		LYP
SD		SDP
HY	Bíparas	HYB
LY		LYB
SD		SDB

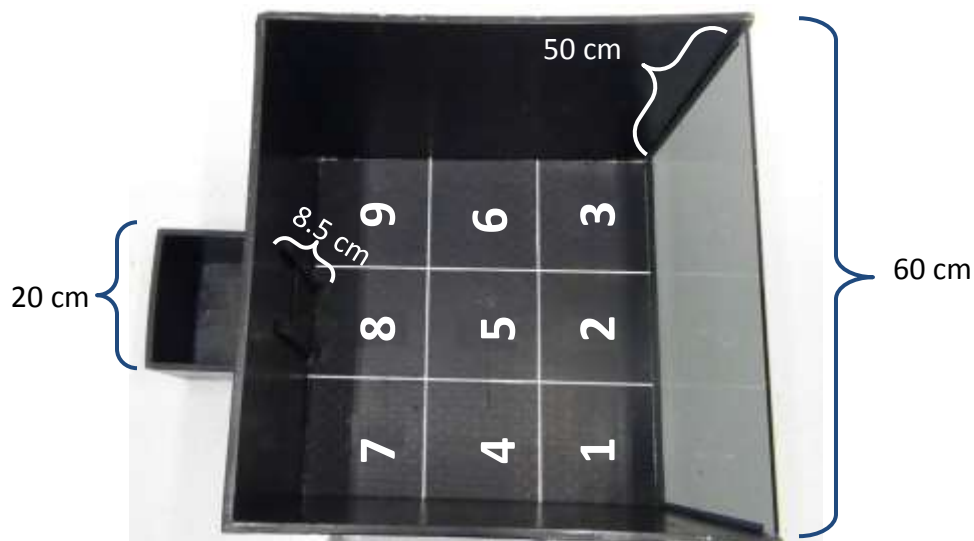
## **7.2 Apareamiento**

Para los grupos de hembras primíparas a los dos meses y medio de edad estas fueron apareadas con machos sexualmente expertos de su misma sublínea/cepa, en el día post-apareamiento se detectó la presencia del tapón vaginal, al confirmar su presencia ese día se denominó día gestacional uno, después del parto las camadas se ajustaron a ocho crías cuatro hembras y cuatro machos y estas permanecieron con la madre durante todo el periodo de lactancia, en el día postnatal 23 se realizó el destete. Las hembras del grupo bíparas experimentaron su primer apareamiento al igual que las primíparas a los dos meses y medio de edad y la segunda experiencia reproductiva fue a los cuatro meses y medio de edad. Las hembras con experiencia materna realizaron las pruebas de estrés y memoria una semana después del destete; las primíparas tuvieron una edad de 4 meses, las bíparas 6 meses y las nulíparas tres meses.

## **7.3 Pruebas**

### 7.3.1 Campo abierto

La evaluación de los niveles de estrés se realizó a través de la prueba de campo abierto, la cual se llevó a cabo en el cubículo de experimentación en un horario de 0900 a 1000 hr. bajo las siguientes condiciones: intensidad lumínica de 195 lux, temperatura controlada de  $22 \pm 1$  °C y humedad relativa de 35-45 %. La arena de campo abierto es de forma cuboidal de paredes y fondo de madera pintada de negro y una pared de cristal oscuro a través de la cual se realizaron las observaciones, el piso de la arena está dividido en nueve cuadros de 20X20 cm. En la parte posterior de la arena se ubica una puerta de 8.5 cm de altura que conduce a una caja de inicio de forma cubica de 20 cm de lado (figura 4).



**Figura 4. La arena de campo abierto.** Consiste en un cubo de madera pintado de negro con una caja de inicio adosada, entre ambos espacios existe una puerta de 8.5 cm de altura que permite el acceso al área abierta, cuyo fondo tiene una cuadrícula que permite medir la locomoción del animal y a través de la pared frontal de cristal se realizan las observaciones.

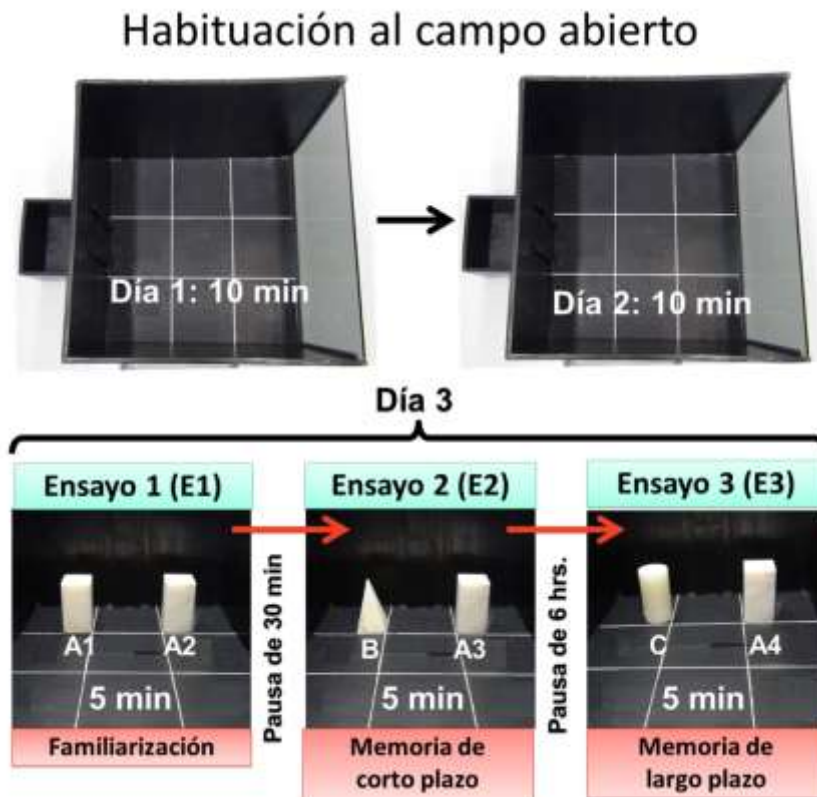
La prueba se desarrolló de la siguiente manera: se introdujo al sujeto en la caja de inicio, se abrió la puerta que conduce al campo abierto y se inició el cronómetro, la prueba tuvo una duración de 10 min. Se registraron las siguientes variables: latencia de entrada al campo abierto, el número de desplazamientos verticales: obtenido de la

suma del número de apoyos más el número de erguidos, la exploración horizontal: distancia recorrida (número de visitas a cada cuadro x 20 cm), el número de eventos de aseo, el número de inmovilidades, la latencia de entrada al cuadro central y número de visitas al cuadro central. La prueba de estrés corresponde a la primera habituación de la prueba de reconocimiento de objetos.

### **7.3.2 Reconocimiento de objetos**

Se evaluó la memoria de corto y largo plazo a través de la prueba de reconocimiento de objetos (PRO) propuesta por Ennaceur y Delacour (1988). El diseño consistió en lo siguiente: dos días previos a la realización de la prueba las hembras fueron habituadas a un campo abierto de forma cuboidal (60X60X50 cm) de paredes y fondo de madera pintada de negro y una pared de cristal oscuro al frente para la observación conductual.

La habituación del animal al campo abierto se realizó sin objetos, por dos días durante 10 min cada día. Al tercer día se realizó la prueba de PRO, en la fase de adquisición (Ensayo 1: E1) y la de recuperación de la memoria de corto y largo plazo (Ensayo 2: E2 y Ensayo 3: E3), respectivamente, tuvieron una duración de 5 min cada una y entre ellas hubo un periodo de pausa de 30 min y 6 hrs, respectivamente (ver figura 5). Los objetos utilizados fueron un prisma rectangular, una pirámide cuadrangular y un cilindro (8 cm de lado en base y/o diámetro y 15 cm de altura) de ónix blanco, todas las figuras contaron con un duplicado.



**Figura 5.** Esquema de desarrollo de la prueba de reconocimiento de objetos (PRO). A1 Y A2 representan dos objetos idénticos, B y C son los objetos novedosos de E2 y E3, respectivamente.

Durante E1 la hembra estuvo en contacto con dos objetos idénticos y se le permitió que los explorara libremente, se consideró como exploración si la hembra colocó su nariz a una distancia igual o menor a 2 cm (Ennaceur y Delacour, 1988), no se consideró como exploración si la rata se apoyó, movió o jugó con el objeto, también se evaluaron otras conductas como: el número de episodios de aseo, número de erguidos y apoyos y los episodios de inmovilidad que realizó el sujeto. Después de 30 min se procedió a E2, en el cual se cambió uno de los objetos y se permitió la libre exploración de la rata por cinco minutos evaluando las conductas antes mencionadas, seis horas después se ejecutó E3 en el cual el objeto novedoso de E2 fue remplazado

por un objeto desconocido para el sujeto. Entre cada ensayo los objetos empleados y el campo abierto se limpiaron con una solución limpiadora a base de los alcoholes: etílico e isopropílico para eliminar cualquier pista odorífera por feromonas dejada por el animal anterior.

El dato relevante obtenido fue el tiempo de exploración, utilizando los tres primeros minutos de E2 y E3 se obtuvo el radio de exploración ( $RE = \frac{\text{exploración del objeto novedoso en el E2}}{\text{el tiempo total de exploración}}$ , en E3  $b$  se sustituye por  $c$ ) También durante los tres primeros minutos de E2 se contabilizó el número de apoyos, erguidos, número de episodios de aseo e inmovilidad que presentó la rata y la latencia de aproximación a cualquier de los dos objetos. Cada fase del PRO fue video grabada (Sony Handycam HDR-PJ260V) y el comportamiento de cada sujeto fue analizado utilizando el programa The Observer XT v.12.0 (Noldus, Países Bajos) para Windows.

## **7.5 Análisis estadístico**

### **7.5.1 Prueba de campo abierto**

Para determinar si la experiencia reproductiva y la sublínea tienen efectos sobre los niveles de estrés en hembras de las sublíneas HY, LY y de la cepa SD, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de un factor, seguida de una prueba post hoc de Tukey, a partir de las variables: latencia de entrada al campo abierto, distancia recorrida, latencia de entrada al cuadro central, número de cruces por el cuadro central y exploración vertical: el número de erguidos más el número de apoyos. El número de episodios de aseo y de inmovilidad, se analizó por medio de un análisis de varianza de rangos Kruskal-Wallis seguido de la prueba U de Mann-Whitney. Para todos los análisis se consideró una diferencia significativa cuando  $P \leq 0.05$  y todas las pruebas estadísticas se realizaron por medio del paquete estadístico Sigma Plot versión 11 para Windows.

### **7.5.2 Prueba de Reconocimiento de Objetos**

La latencia de aproximación al primer objeto fue evaluada por medio de un análisis de varianza (ANOVA) de un factor seguida de la prueba de Tukey. A partir del tiempo de



exploración en el objeto novedoso se obtuvo el radio de exploración, el cual es un cociente del tiempo de exploración del objeto novedoso sobre el tiempo total de la prueba, que en este caso fueron los primeros tres minutos de los ensayos E2 y E3 (Ennaceur, 2005). Con el fin de determinar si la experiencia reproductiva tiene efectos sobre la memoria de corto y largo plazo se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de un factor a partir del radio de exploración (tiempo), el mismo análisis se realizó para el factor fenotipo, utilizando en ambos casos una prueba de post hoc de Tukey. Se consideró diferencia significativa cuando  $P \leq 0.05$ . Todas las pruebas estadísticas se realizaron por medio del paquete estadístico Sigma Plot versión 11 para Windows.

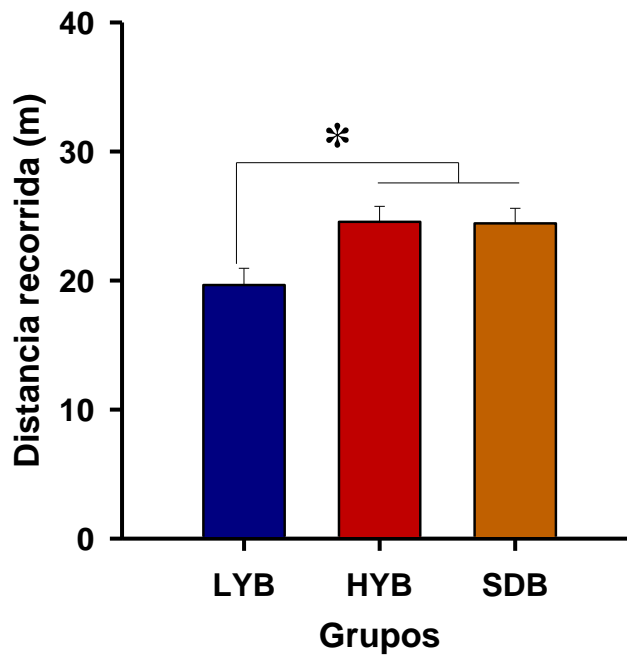
## **8. Resultados**

### **8.1 Determinación del efecto de la experiencia materna sobre la respuesta al estrés de las sublíneas LY, HY y la cepa Sprague-Dawley**

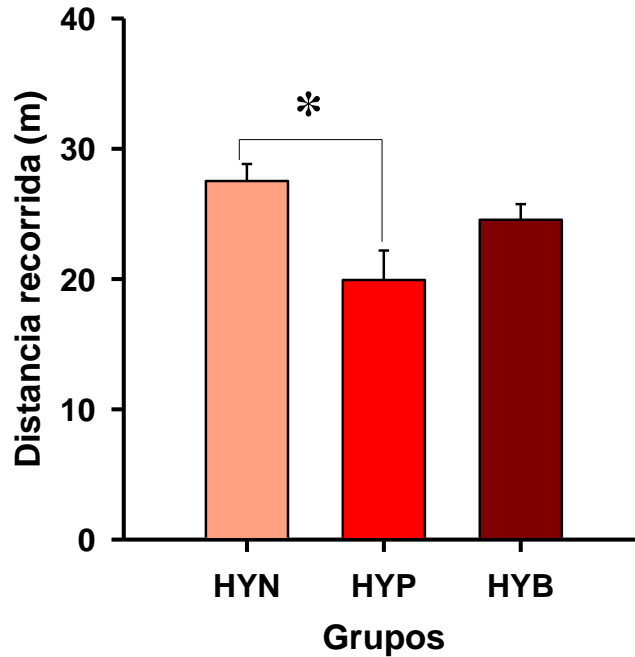
En la latencia de entrada al campo abierto los diferentes grupos analizados no mostraron una distribución normal, por lo que se realizaron pruebas no paramétricas para el análisis de esta variable. En las condiciones nulípara y primípara no se obtuvieron diferencias significativas ( $P > 0.05$ , véase tabla 2.) Se obtuvieron diferencias significativas entre los grupos de ratas para las hembras bíparas (Kruskal-Wallis  $H=6.63$ ,  $P < 0.05$ , seguida de la prueba U de Mann-Whitney  $U=12$ ,  $P < 0.05$ ) Las hembras HY bíparas emplearon más tiempo en entrar al campo abierto respecto de las SD con dos experiencias reproductivas véase tabla 2. Al comparar a hembras de un mismo grupo, LY, HY y SD, pero con diferente condición reproductiva no se observaron diferencias significativas ( $P > 0.05$ , véase tabla 2.)

En la distancia recorrida no se obtuvieron diferencias significativas en las condiciones nulípara y primípara ( $P > 0.05$ , véase tabla 2.) Para las hembras bíparas se obtuvieron diferencias significativas; siendo las HY y las SD las que recorren una mayor distancia en comparación a las LY (ANOVA  $F_{(2),(21)}=5.23$ ;  $P < 0.05$ , prueba post hoc de Tukey  $q=4.01$ ,  $P < 0.05$  y  $q=3.90$ ,  $P < 0.05$ , respectivamente, véase la figura 6) En el grupo HY se obtuvieron diferencias significativas, siendo las hembras nulíparas las que recorren una mayor distancia respecto de las primíparas (ANOVA  $F_{(2),(21)}=5.33$ ;  $P < 0.05$ ,

prueba post hoc de Tukey  $q=4.58$   $P<0.05$  véase figura 7) En el caso de los grupos LY y SD no se obtuvieron diferencias significativas ( $P>0.05$ , véase la tabla 2).



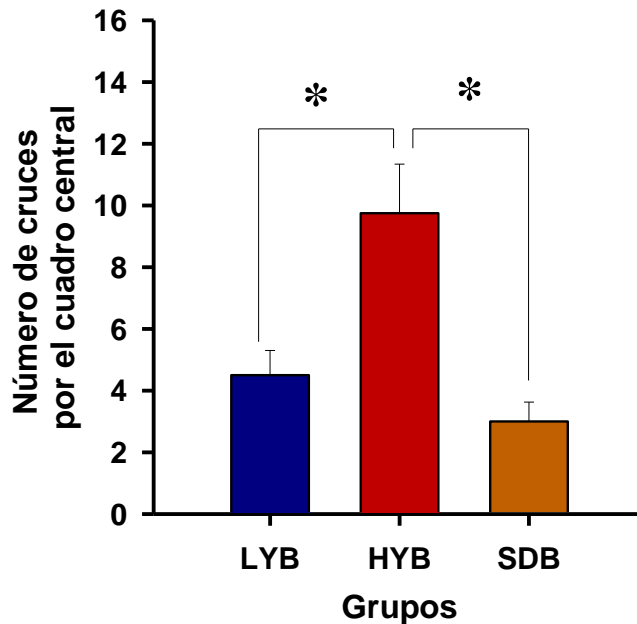
**Figura 6. Distancia recorrida en el campo abierto por las hembras bíparas de la sublíneas HY, LY y de la cepa SD. Las hembras LY bíparas recorren una distancia significativamente menor respecto de las HY y SD (ANOVA  $F_{(2),(21)}=5.23$ ;  $P<0.05$ , seguido de la prueba post hoc de Tukey  $q=4.01$ ,  $P<0.05$  y  $q=3.90$ ,  $P<0.05$ )**



**Figura 7. Distancia recorrida en el campo abierto efectuada por las hembras de la sublínea HY en tres condiciones reproductivas.** El grupo de hembras nulíparas (HYN) recorre una distancia (m) significativamente mayor respecto de las primíparas (HYP; ANOVA  $F_{(2),(21)}=5.33$ ;  $P<0.05$ , seguido de la prueba post hoc de Tukey  $q=4.58$   $P<0.05$ ). La hembras HY bíparas también recorren una distancia menor que las nulíparas y mayor que las primíparas, sin ser significativamente diferente ( $P>0.05$ )

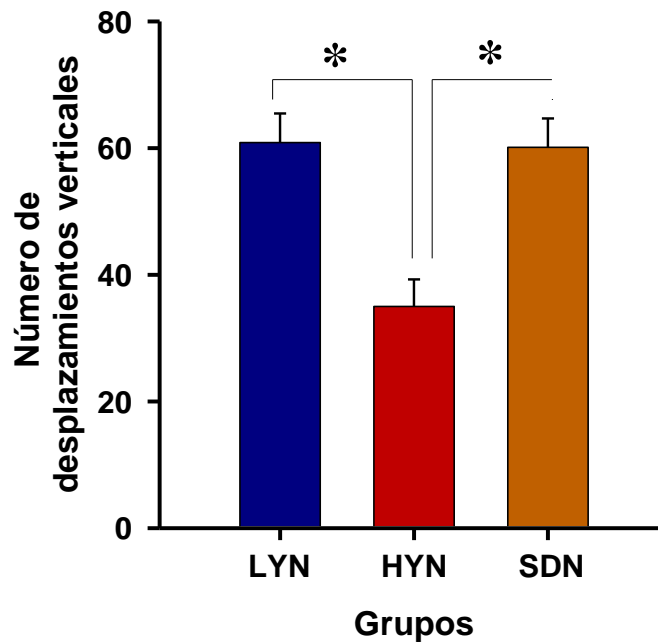
En la variable latencia de entrada al cuadro central no se obtuvieron diferencias significativas entre las condiciones reproductivas; nulípara, primíparas y bípara ni entre los grupos LY, HY y SD (Kruskal-Wallis  $P>0.05$ , véase la tabla 2)

Para el número de cruces por el cuadro central no se obtuvieron diferencias significativas en las condiciones nulípara y primípara ( ANOVA  $P>0.05$ , véase la tabla 2) En las hembras bíparas se observaron diferencias significativas, siendo las hembras HY las que realizan más cruces por el cuadro central respecto de las LY y SD; (ANOVA  $F_{(2),(21)}=10.57$ ;  $P<0.001$ , prueba post hoc de Tukey  $q=4.8$ ,  $P<0.05$  y  $q=6.19$   $P<0.05$ , respectivamente véase la figura 8.) En el caso de los grupos LY, HY y SD no se obtuvieron diferencias significativas ANOVA  $P>0.05$ , véase la tabla 2.

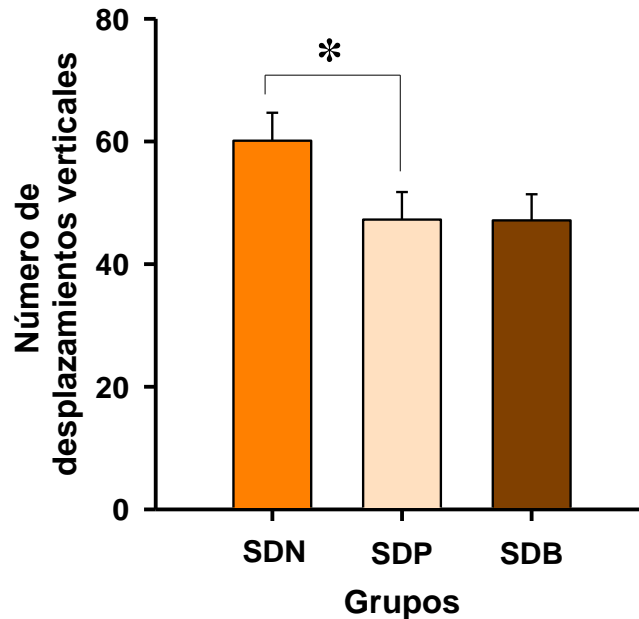


**Figura 8. Número de cruces por el cuadro central del campo abierto efectuados por los tres grupos de hembras bíparas de la sublíneas HY, LY y de la cepa SD.** Las hembras HY bíparas (HYB) realizan un número significativamente mayor de cruces por el cuadro central del campo abierto en comparación con las bíparas LY y SD (ANOVA  $F_{(2),(21)}=10.57$ ;  $P<0.001$ , seguido de la prueba post hoc de Tukey  $q=4.8$ ,  $P<0.05$  y  $q=6.19$   $P<0.05$ , respectivamente).

El número de desplazamientos verticales mostró diferencias significativas en la condición nulípara; las hembras LY y SD efectúan mayor número de desplazamientos verticales en comparación a las hembras HY, (Kruskal-Wallis  $H=12.65$ ,  $gl= 2$ ,  $P=0.002$ , prueba post hoc de Tukey  $q=4.4$ ,  $P<0.05$  y  $q=4.3$ ,  $P<0.05$ , respectivamente véase la figura 9) En las condiciones primípara y bípara no se obtuvieron diferencias significativas (ANOVA de 1 factor  $P>0.05$ , véase la tabla 2) Para esta misma variable se obtuvieron diferencias significativas en el grupo SD siendo las hembras SD nulíparas las que realizan más desplazamiento vertical que las SD primíparas y bíparas (Kruskal-Wallis  $H=4.75$ ,  $gl=2$ ,  $P=0.093$  seguido de la prueba U de Mann-Whitney  $U=12$ ,  $P=0.038$ , véase la figura 10) En el caso de los grupos LY, y HY no se obtuvieron diferencias significativas (ANOVA de 1 factor  $P>0.05$ , véase la tabla 2).



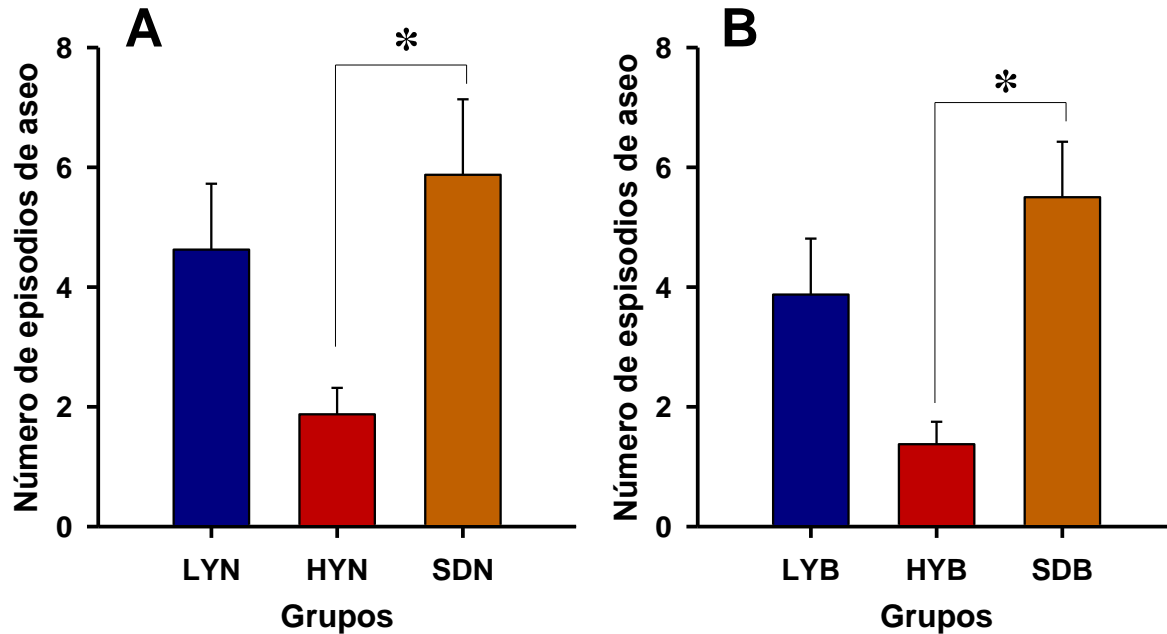
**Figura 9. Número de desplazamientos verticales en el campo abierto efectuados por los tres grupos de ratas hembras nulíparas.** Las nulíparas HY realizaron un número significativamente menor de desplazamientos verticales respecto de las LY y SD (Kruskal-Wallis  $H=12.65$ ,  $gl= 2$ ,  $P=0.002$ , prueba post hoc de Tukey  $q=4.4$ ,  $P<0.05$  y  $q=4.3$ ,  $P<0.05$ , respectivamente).



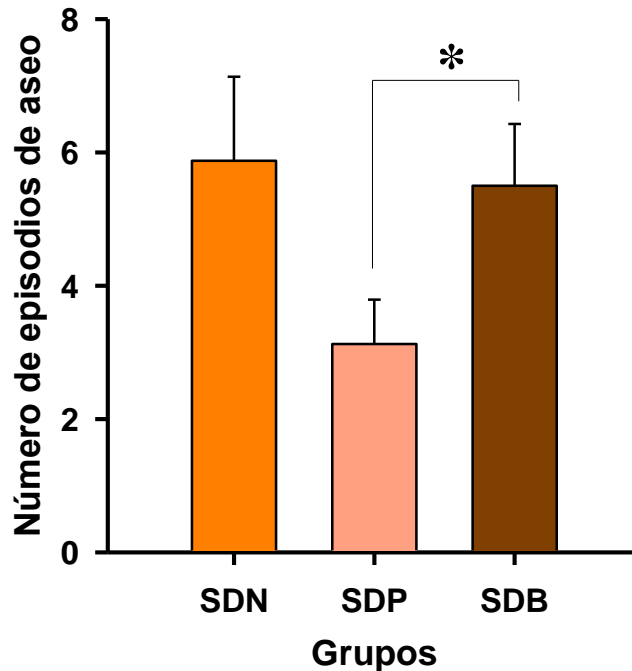
**Figura 10. Número de desplazamientos verticales efectuados en el campo abierto por las hembras de la cepa SD de tres condiciones reproductivas diferentes.** Las hembras nulíparas realizan significativamente más desplazamientos verticales que las primíparas (Kruskal-Wallis  $H=4.75$ ,  $gl=2$ ,  $P=0.093$  seguido de la prueba U de Mann-Whitney  $U=12$ ,  $P=0.038$ ). Las hembras bíparas SD también recorren una menor distancia que las nulíparas pero sin ser significativamente diferente ( $*P>0.05$ ).

El número de episodios de aseo mostró diferencias significativas en las hembras nulíparas, las hembras HY presentan un menor número de episodios de aseo en comparación con las hembras SD nulíparas: Kruskal-Wallis  $H=7.27$ ,  $gl=2$ ,  $P<0.05$ ; Tukey  $q=3.6$ ,  $P<0.05$  (figura 11A). Las hembras primíparas no mostraron diferencias significativas (Kruskal-Wallis  $P>0.05$ , véase la tabla 2.) En las hembras bíparas también las HY tienen un menor número de episodios de aseo en comparación con las hembras SD ; Kruskal-Wallis  $H=10.38$ ,  $gl=2$   $P=0.006$ , prueba post hoc de Tukey  $q=4.4$ ,  $P<0.05$ , véase figura 11B) El grupo SD mostró diferencias significativas entre las primíparas y las bíparas, siendo las hembras con dos experiencias maternas quienes realizan más episodios de aseo que las SD primíparas (Kruskal-Wallis  $H=4.74$ ,  $gl=2$ ,  $P=0.093$ ; prueba U de Mann-Whitney  $P=0.05$  véase figura 12). Para los grupos LY y HY

no se obtuvieron diferencias significativas con la prueba de rangos Kruskal-Wallis  $P>0.05$ , véase la tabla 2.



**Figura 11. Número de episodios de aseo efectuados en el campo abierto por las A) hembras nulíparas y B) bíparas de las sublíneas HY, LY y de la cepa SD de tres condiciones reproductivas.** Las hembras SD tanto nulíparas como bíparas realizan más episodios de aseo respecto de las HY (Kruskal-Wallis  $H=7.27$ ,  $gl=2$ ,  $P<0.05$  seguido de la prueba post hoc de Tukey  $q=3.6$ ,  $P<0.05$  y Kruskal-Wallis  $H=10.38$ ,  $gl=2$   $P=0.006$  seguido de la prueba post hoc de Tukey  $q=4.4$ ,  $P<0.05$ , respectivamente). Las hembras LY nulíparas y bíparas realizan menos episodios de aseo que las hembras SD y más que las HY sin sr significativamente diferente ( $P>0.05$ ).



**Figura 12. Número de episodios de aseo efectuados en el campo abierto por las hembras de la cepa SD en tres condiciones reproductivas.** Las hembras SD bíparas realizan más episodios de aseo que las hembras primíparas (Kruskal-Wallis  $H=4.74$ ,  $gl=2$ ,  $P=0.093$  seguido de la prueba U de Mann-Whitney  $P=0.05$ ). Las hembras SD nulíparas también realizan más episodios de aseo que las primíparas sin ser significativamente diferente ( $*P>0.05$ )

En el número de veces que el sujeto se quedó inmóvil no se observaron diferencias significativas entre las condiciones nulípara, primípara y bípara y tampoco entre los grupos LY, HY y SD (Kruskal-Wallis  $P>0.05$  véase tabla 2) Para el número de bolos fecales no se obtuvieron diferencias significativas entre las condiciones nulípara, primípara y bípara y tampoco entre los grupos LY, HY y SD (Kruskal-Wallis  $P>0.05$  véase tabla 2).



**Tabla 2.** Determinación de las variables obtenidas en el campo abierto en hembras de las sublíneas de alto y bajo bostezo y de la cepa SD en las tres condiciones reproductivas evaluadas: nulíparas, primíparas y bíparas

Variable Grupo	Latencia de entrada al campo abierto (seg)	Distancia recorrida (m)	Latencia de entrada al cuadro central (seg)	Número de cruces por el cuadro central	Número de desplazamientos verticales	Episodios de Aseo	Episodios de Inmovilidad
<b>LYN</b>	19.±9.8	22.3±1.8	41.5±11.8	6.6±1.4	60.8±4.5	4.6±1.1	0.8±0.7
<b>HYN</b>	20.5±3.5	27.5±1.3	128.5±82.8	6.7±1.7	35±4.2	1.8±0.4	1±0.3
<b>SDN</b>	14.7±3.1	27.2±1.9	109.3±47.8	6±1.6	60.1±4.5	5.8±1.2	0.6±0.4
<b>LYP</b>	15.3±7.1	18.7±2.3	95.7±72.6	6.3±1.5	49±8.3	4.1±1	1.6±1.4
<b>HYP</b>	12.3±3	19.9±2.2	10.9±4.8	6.3±1.	31.8±7	2.3±0.5	2.6±1.2
<b>SDP</b>	13.1±3.2	23.3±2.6	27.8±7.7	4.3±0.8	47.2±4.4	3.1±0.6	0.6±0.4
<b>LYB</b>	14.7±2.2	19.6±1.2	108.4±47.5	4.5±0.8	48.3±4.2	3.8±0.9	3.1±1.4
<b>HYB</b>	15.8±3	24.5±1.1	37.1±10.5	9.7±1.5	48.8±6.4	1.3±0.3	2.6±1.2
<b>SDB</b>	7±2.1	24.4±1.1	193.8±68.1	3±0.6	47.1±4.2	5.5±0.9	0.2±0.1

N=nulípara, P= primípara y B= bípara.

Se presenta para cada variable la media ± el error estándar de la media de n=8 por cada grupo experimental.

## 8.2 Descripción de las características de la memoria de corto y largo plazo de hembras nulíparas de las sublíneas HY y LY y de la cepa SD.

### 8.2.1 Latencia de acercamiento al primer objeto

La latencia de acercamiento al primer objeto a lo largo de las pruebas (E1, E2 y E3) en la prueba de reconocimiento de objetos mostró diferencias significativas entre las hembras nulíparas HY y LY en E1 (U de Mann-Whitney  $U=12$ ,  $P<0.05$ ), las hembras HY nulíparas tardan más tiempo en acercarse al objeto en comparación a las hembras LY (véase figura 13). En las hembras primíparas y bíparas no se obtuvieron diferencias significativas para la latencia de aproximación al primer objeto (Kruskal-Wallis  $P>0.05$ ) no obstante el comportamiento de los tres grupos de bíparas para esta variable es similar, véase tabla 3.

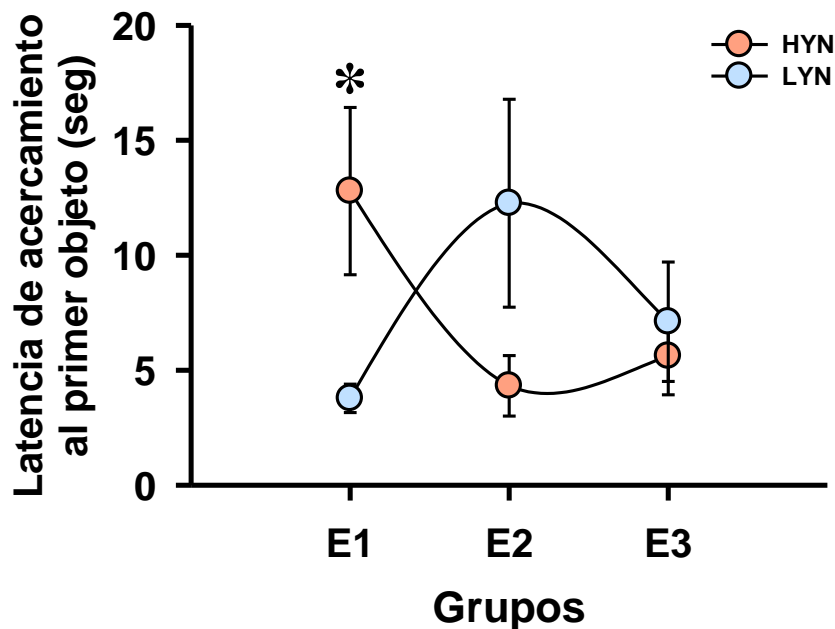
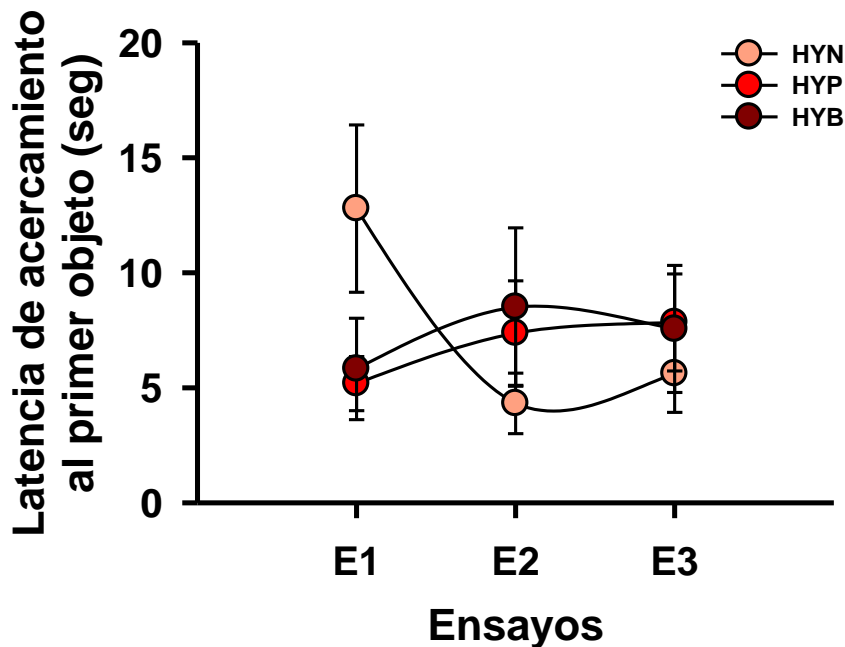


Figura 13. Latencia de acercamiento a cualquier objeto en las sublíneas LY y HY nulíparas durante la prueba de reconocimiento de objetos. Las hembras HY tienen una latencia de aproximación al objeto (en E1) mayor en comparación a las LY (U de Mann-Whitney  $U=12$ ,  $P<0.05$ ). También conforme avanzan los ensayos de la prueba de reconocimiento de objetos disminuye la latencia de acercamiento a los objetos en las hembras HY, sin ser significativamente diferente ( $P>0.05$ ).

La latencia de acercamiento al primer objeto no presentó diferencias significativas para la sublínea HY (Kruskal-Wallis  $P>0.05$ ) Sin embargo se observa que las hembras HY nulíparas tardan más tiempo en E1 para acercarse a explorar el objeto y conforme transcurren los ensayos esta latencia disminuye, mientras que las hembras primíparas y bíparas tienen latencias cortas similares en E1, pero estas se incrementan en E2 y E3 (véase figura 14 y tabla 3)



**Figura 14. Latencia de acercamiento al primer objeto durante la prueba de reconocimiento de objetos en la sublínea HY con tres condiciones reproductivas.** En las hembras HY nulíparas la latencia de aproximación al objeto disminuye conforme se realizan los ensayos dos y tres, sin ser significativamente diferentes ( $P>0.05$ ). Mientras que en las primíparas y bíparas ocurre lo contrario, entre estas dos condiciones reproductivas las latencias a lo largo de la prueba son similares.

El grupo LY en la condición primípara presentó diferencias significativas en la latencia de acercamiento al primer objeto a lo largo de la PRO, siendo mayor en el E3 en comparación a E1 (Kruskal-Wallis  $H=6.140$ ,  $gl=2$ ,  $P<0.05$ , prueba post hoc de Tukey  $q=3.45$ ,  $P<0.05$ ) En este grupo no se obtuvieron diferencias significativas en las bíparas

y las nulíparas, ambos grupos presentaron latencias cortas en E1, las cuales se incrementan en E2 y disminuyen de nuevo en E3 (véase figura 14 y tabla 3)

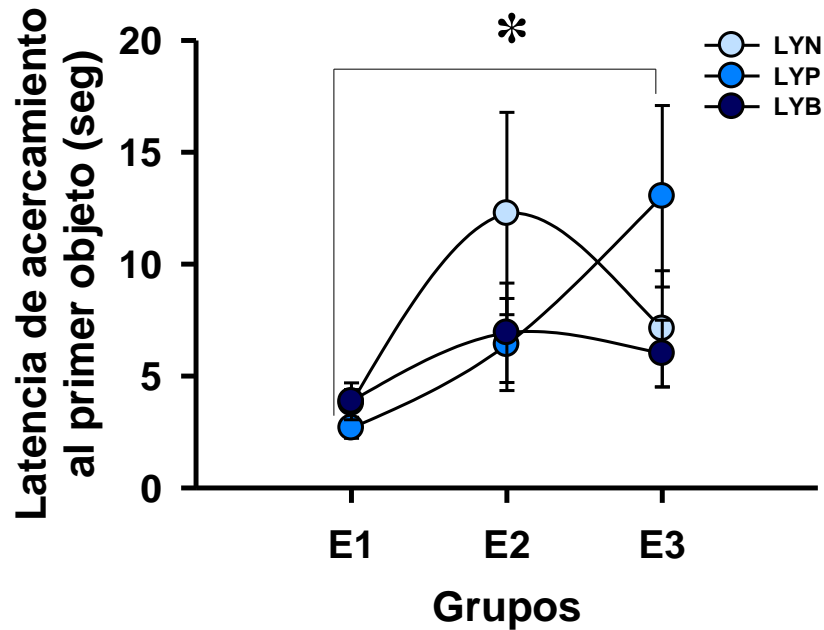


Figura 15. Latencia de acercamiento a cualquier objeto en la sublínea LY con tres condiciones reproductivas: LYN: nulíparas, LYP: primíparas y LYB: bíparas. Se obtuvo que las LY primíparas en el ensayo 3 tardan más tiempo en acercarse al objeto respecto de E1  $*(P<0.05)$  En los grupos LY nulípara y bípara no se obtuvieron diferencias significativas.

La latencia de aproximación al primer objeto presentó diferencias significativas en la cepa SD en la condición primípara; ya que la latencia en el ensayo dos es diferente de E1 y E3 (Kruskal-Wallis  $H=7.955$ ,  $gl=2$ ,  $P<0.05$  prueba post hoc de Tukey  $q=3.55$   $P>0.05$  y  $q=3.35$   $P>0.05$ , respectivamente) Cabe señalar que en el grupo SD nulíparas se observa una latencia corta en E1 y está va aumentando conforme ocurren E2 y E3 (véase tabla 3) En condición bípara para la cepa SD no se obtuvieron diferencias significativas en la latencia para acercarse a cualquiera de los objetos (Kruskal-Wallis  $P>0.05$ , véase tabla 3)

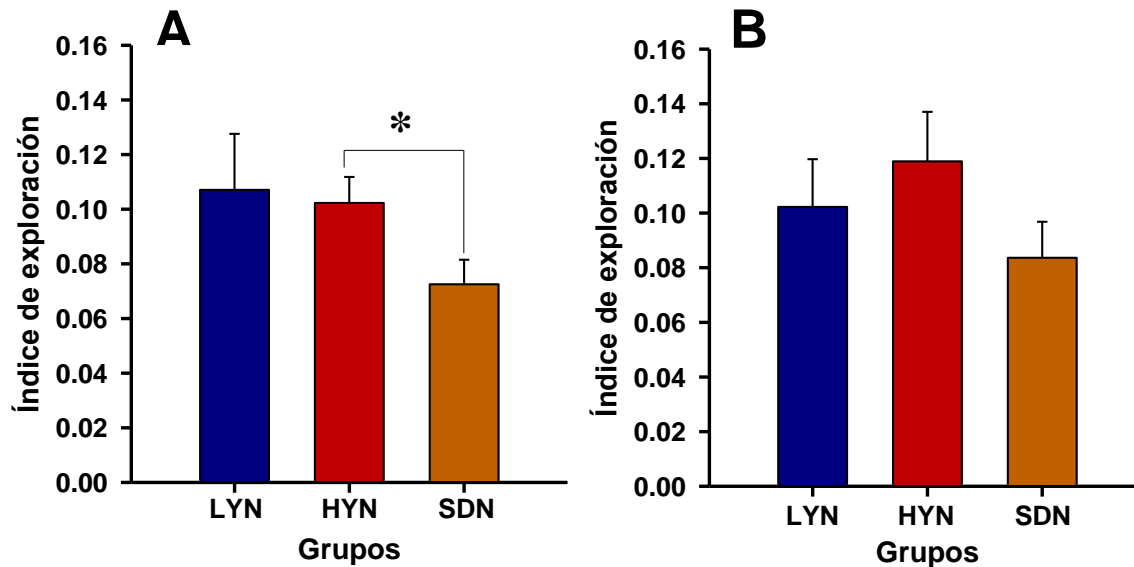
**Tabla 3. Latencia de acercamiento a cualquier objeto de las sublíneas LY y HY y de la cepa SD con tres condiciones reproductivas: nulíparas, primíparas y bíparas.**

Variable	Latencia de acercamiento al primer objeto		
	Grupo	E1	E2
<b>LYN</b>	3.7±0.6	12.2±4.5	7.1±2.5
<b>LYP</b>	2.6±0.4	6.4±2	13±4
<b>LYB</b>	3.8±0.8	6.9±2.2	6±1.4
<b>HYN</b>	12.7±3.6	4.3±1.3	5.6±1.6
<b>HYP</b>	5.1±1.1	7.3±2.2	7.8±2.1
<b>HYB</b>	5.8±2.2	8.5±3.4	7.5±2.7
<b>SDN</b>	6.4±3.1	6.9±3.5	12.13±5.8
<b>SDP</b>	7.3±2	2.5±0.3	5.7±0.9
<b>SDB</b>	3.9±0.6	7.7±4.6	7±0.8

Las siglas N, P y B hacen referencia a las condiciones reproductivas: nulípara, primípara y bípara, respectivamente. Se muestra la media ± el error estándar de la media de n=8 ratas por grupo.

### **8.2.2 Memoria de corto plazo y largo plazo de las sublíneas HY, LY y de la cepa Sprague-Dawley.**

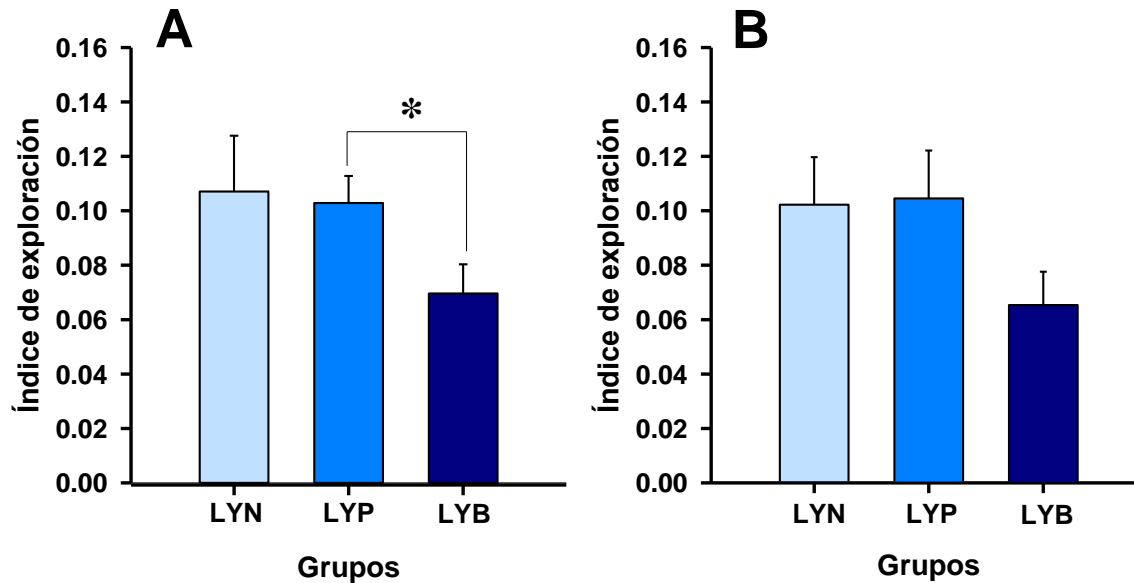
Las hembras de 90 a 105 días de edad de la sublíneas HY y LY exploraron significativamente más el objeto novedoso en la fase de memoria de corto plazo en comparación a las SD, siendo significativamente diferente los grupos HY y SD (Kruskal-Wallis  $H=3.345$ ,  $P=0.188$  (esto no es significativo), seguido de la U de Mann-Whitney  $U=13$ ,  $P=0.05$ , véase figura 16 A) En la memoria de largo plazo se encontró que la sublínea HY exploró más el objeto novedoso que las hembras LY y SD, sin que alcanzaran diferencias significativas (Kruskal-Wallis  $P>0.05$ , véase figura 16 B)



**Figura 16 Memoria de A) corto y B) largo plazo de las sublíneas HY, LY y de la cepa SD.** Nótese que en la memoria de corto plazo las hembras de las sublíneas HY y LY presentan radios de exploración similares y que son mayores que el de las SD, siendo significativa la diferencia entre la sublínea HY y la cepa SD  $(P < 0.05)$ . En la memoria de largo plazo la sublínea HY tiene un radio de exploración más grande en comparación a las hembras LY y SD sin ser significativamente diferente.

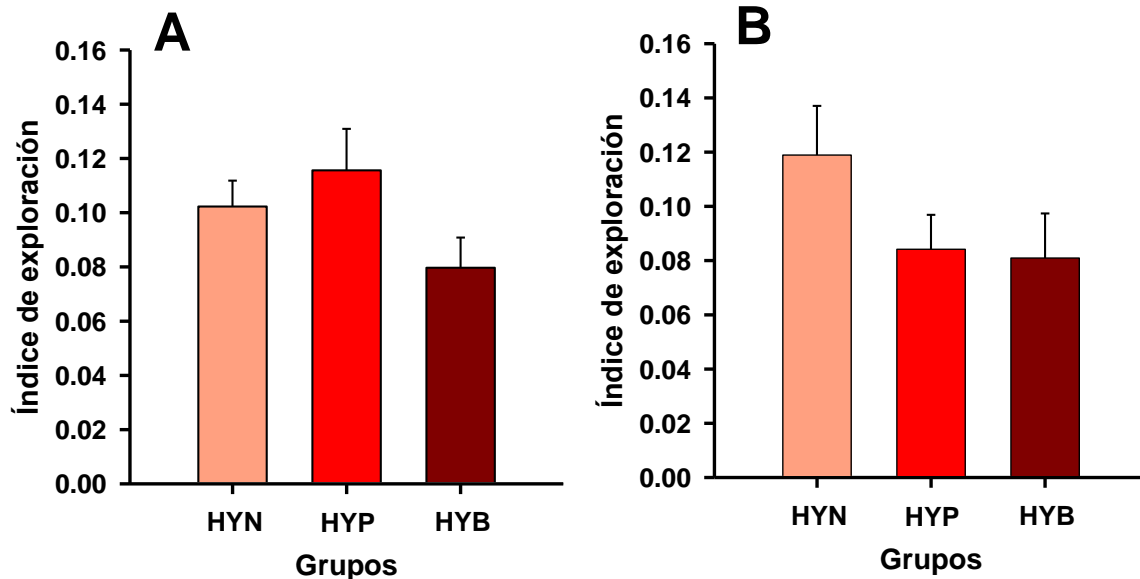
### 8.2.3 Efecto del número de experiencias maternas sobre la memoria en las hembras de las sublíneas LY y HY y de la cepa Sprague-Dawley.

La memoria de corto plazo de la sublínea LY mostró un efecto debido a la experiencia materna, las hembras bíparas exploraron menos el objeto novedoso en comparación a las primíparas (Kruskal-Wallis  $H=3.260$ ,  $P=0.196$ , seguido de una U de Mann-Whitney  $U=12$ ,  $P < 0.05$  véase figura 17 A) Para esta sublínea en la memoria de largo plazo no se obtuvieron diferencias significativas (Kruskal-Wallis  $P > 0.05$ ) Sin embargo las hembras bíparas exploraron menos el objeto novedoso en comparación con las primíparas y nulíparas véase figura 17 B.



**Figura 17 Memoria de A) corto y B) largo plazo en hembras nulíparas, primíparas y bíparas de las sublínea LY.** Nótese que en la memoria de corto plazo las hembras LY bíparas tienen un menor radio de exploración en comparación a las primíparas ( $P < 0.05$ ), en la memoria de largo plazo este comportamiento de las LY bíparas se mantiene sin ser significativamente diferente.

La sublínea HY no presentó diferencias significativas entre los grupos con diferente experiencia reproductiva en la memoria de corto plazo y largo plazo (Kruskal-Wallis  $P > 0.05$ ) No obstante se observa una tendencia en la que las hembras HY bíparas muestran una disminución de la actividad exploratoria en ambos tipos de memoria. En la memoria de largo plazo las HY primíparas experimentan una disminución de la exploración del objeto novedoso con respecto a la memoria de corto plazo sin ser significativamente diferentes (Kruskal-Wallis  $P > 0.05$  véase figura 18 A y B)

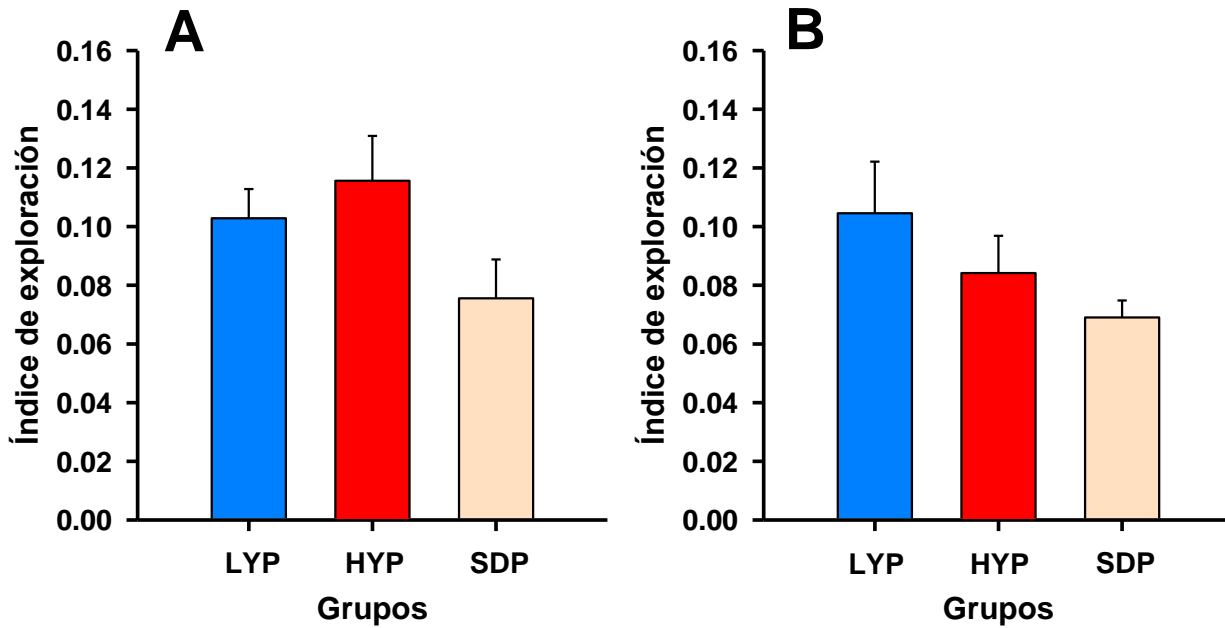


**Figura 17. Memoria de A) corto y B) largo plazo en hembras nulíparas, primíparas y bíparas de la sublínea HY.** En la memoria de corto plazo las primíparas HY muestran un radio de exploración mayor que las nulíparas y las bíparas, no obstante en la memoria de largo plazo son las hembras nulíparas quienes tienen el radio de exploración más grande.

Las hembras SD no mostraron cambios significativos en su memoria de corto y largo plazo por efecto de las experiencias maternas sucesivas, (Kruskal-Wallis  $P > 0.05$ )

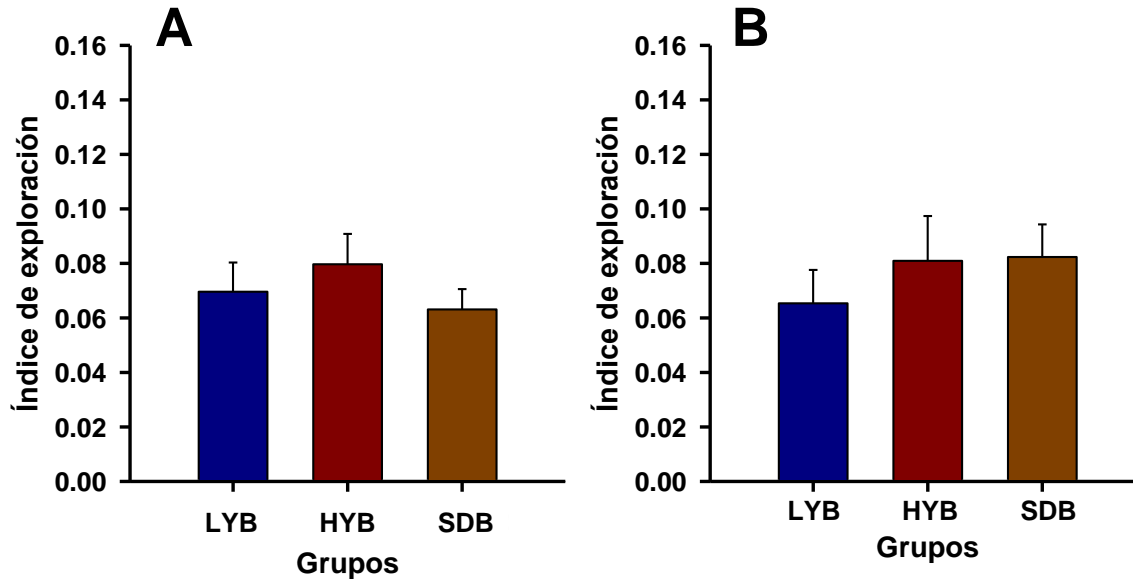
Al comparar ambas sublíneas HY, LY y la cepa Sprague Dawley en la condición primípara no se obtuvieron diferencias significativas (Kruskal-Wallis  $P > 0.05$ ) Sin embargo, se observa una disminución de la exploración que realizan las hembras SD primíparas del objeto novedoso en la memoria de corto plazo, en cuanto a la memoria de largo plazo el grupo HYP también disminuye su exploración así como el grupo SDP (véase figura 18).





**Figura 18. Memoria de A) corto y B) largo plazo en hembras primíparas de las sublíneas HY, LY y de la cepa SD.** En la memoria de corto plazo las primíparas HY muestran un radio de exploración mayor que las LY y las SD, no obstante en la memoria de largo plazo son las hembras LY primíparas quienes tienen el radio de exploración más grande.

Al comparar la memoria de corto y largo plazo en las hembras bíparas de las sublíneas HY, LY y de la cepa SD no se obtuvieron diferencias (Kruskal-Wallis con  $P > 0.05$ ) Sin embargo, en la memoria de corto plazo son las HY quienes realizan la mayor exploración del objeto novedoso, mientras que en la memoria de largo plazo son las hembras LY quienes disminuyen su exploración (véase la figura 19)



**Figura 19 Memoria de A) corto y B) largo plazo en hembras bíparas de las sublíneas HY, LY y de la cepa SD.** Las hembras HY bíparas tienen un mayor radio de exploración en la memoria de corto y largo plazo. En la figura B se puede observar que las hembras SD presentan un radio de exploración muy semejante a las hembras HY.

Con respecto a los otros comportamientos evaluados durante la PRO, se obtuvo que las hembras HY bíparas presentan una diferencia en el número de episodios de aseo durante E1, E2 y E3 (Kruskal-Wallis  $H=14.051$ ,  $P<0.001$ , la prueba post hoc de Tukey mostró que diferencias entre E1 y E3, así como de E3 y E2 ( $q=3.77$ ,  $P<0.05$  y  $q=4.47$   $P<0.05$ , respectivamente, véase tabla 4)

En cuanto a la exploración vertical se obtuvo que el grupo LYB realiza un diferente número de desplazamientos verticales a lo largo de la PRO siendo en E2 donde efectúa una mayor exploración vertical (Kruskal-Wallis  $H=685$ ,  $gl=2$ ,  $P<0.05$ , post hoc de Tukey  $q=3.2$ ,  $P<0.05$ , véase tabla 4) Para esta misma variable también se obtuvieron diferencias significativas en el grupo SD bíparas (Kruskal-Wallis  $H=5.109$ ,  $gl=2$ ,  $P=0.078$  seguido de la U de Mann-Whitney  $U=13$   $P=0.05$ ) la cual mostró que este grupo realiza mayor exploración vertical en E2 que en las otras fases de la PRO (véase tabla 4)

En el número de episodios de inmovilidad no se obtuvieron diferencias entre las sublíneas y las SD y tampoco se obtuvo un efecto debido al número de partos en esta variable (Kruskal-Wallis  $P > 0.05$ , véase Tabla 4).

**Tabla 4. Comportamientos evaluados durante la prueba de reconocimiento de objetos: Número de aseos, exploración vertical y número de veces que ocurrió la inmovilidad.**

Variable Grupo/	Aseo			Exploración vertical			Inmovilidad		
	E1	E2	E3	E1	E2	E3	E1	E2	E3
<b>LYN</b>	1.3±0.5	1±0.3	1.2±0.3	12.6±1.1	17.2± 1.3*	12.6± 1.4	0	0	0
<b>LYP</b>	1.5±0.7	1±0.5	1.8±0.7	10.5±1.6	11.8± 1.9	6.7± 1.4	1±0.2	0	0
<b>LYB</b>	0.8±0.2	0.6±0.3	0.5±0.2	12.3±1	14.8± 1.8	12.5± 1.4	0	0	0
<b>HYN</b>	12.7± 3.6	4.3±1.3	5.6±1.6	15.7±2.1	13.6± 2.2	11.7± 2	0	0	0
<b>HYP</b>	5.1±1.1	7.3±2.2	7.8±2.1	9±0.6	11.1± 1.2	9.3± 1.5	0	1± 0.3	0
<b>HYP</b>	0.3±0.2	0.1±0.1	1.8± 0.3*	18.7±3.4	24±4.7	19.2± 4.7	1±0.1	0	0
<b>SDN</b>	1.5±0.3	1.3±0.5	2±0.5	11.5±1.6	13.2± 2.2	7.7± 1.8	0	0	0
<b>SDP</b>	1.3±0.4	1.5±0.3	0.8±0.4	9.5±1.4	16.3± 2.5	11.1± 2.7	0	0	0.3± 0.2
<b>SDB</b>	2.1±0.3	2±0.5	1.50± 0.4	10±1.4	15.8± 2.4*	10.8± 1.2	1±0.1	0	0

Las siglas N, P y B hacen referencia a las condiciones reproductivas: nulípara, primípara y bípara, respectivamente.

Se muestra la media ± el error estándar de la media de n=8 ratas por grupo.

## 9. Discusión

El campo abierto es un prueba que a través de parámetros como la defecación, la actividad locomotora y el tiempo que el sujeto pasa en el cuadro central del campo abierto es capaz de evaluar la emocionalidad de la rata al estar en un espacio desconocido y cuyas dimensiones exceden los límites de su vivienda habitual (Denenberg, 1969). Las hembras HY de 90 días de edad presentaron una latencia de entrada al campo abierto mayor en comparación a la sublínea LY y la cepa SD, lo cual concuerda con los resultados obtenidos por Uribe (2010) para esta variable en los machos. La distancia que recorrieron las hembras nulíparas SD fue mayor en comparación a lo efectuado por las HY y LY, respecto a la exploración vertical las hembras HY realizaron un menor número de desplazamientos verticales en relación a las hembras LY y SD, estos resultados coinciden con lo obtenido por Ugarte (2006).

En estudios previos del laboratorio Moyaho y cols., (1995) propusieron que los machos de la sublínea HY son menos reactivos emocionalmente basado en que recorren una mayor distancia y realizan más desplazamientos verticales en comparación con la sublínea LY, lo que difiere de los resultados obtenidos aquí para las hembras, posiblemente estos hallazgos estén relacionado con la fase del ciclo estral en la que estuvieron algunas o la mayoría de las integrantes del grupo HYN el día de la prueba de campo abierto, se ha mostrado que durante la fase de estro las hembras deambulan más, tienen más erguidos, pasan menos tiempo inmóviles y permanecen más tiempo en el cuadro central del campo abierto que cuando se encuentran en diestro (Masur y cols., 1980 y Pivina y cols., 2011).

Está ampliamente reportado en la literatura que una o más experiencias maternas disminuyen la respuesta al estrés en las hembras, Wartella y cols., (2003) empleando el campo abierto mostraron que las hembras nulíparas pasan más tiempo cerca de las paredes del campo en comparación a las hembras primíparas. Love y cols., (2005) evaluando la ansiedad de hembras nulíparas, primíparas y múltiparas en el laberinto en cruz elevado mostraron que las hembras con una experiencia materna realizan más entradas a los brazos abiertos del laberinto que las nulíparas y múltiparas. Los resultados obtenidos muestran que en la sublínea LY muestra una tendencia a la

disminución de la latencia de entrada al campo abierto conforme incrementa su experiencia materna, lo cual sugiere que esta experiencia reproductiva y la interacción con las crías induce en las hembras LY a explorar más rápido un espacio desconocido.

En la distancia recorrida, el número de cruces por el cuadro central, la exploración vertical y el número de episodios de aseo en las hembras LY muestran una disminución de estos parámetros conforme se incrementa su experiencia reproductiva, además de un incremento en la latencia para cruzar el cuadro central. Las tres primeras variables se relacionan con la exploración del espacio, cuya disminución es indicativo de un estado emocional o ansioso, Silva y cols., (1997) introdujeron a un campo abierto hembras vírgenes y en el sexto día de lactancia en el campo abierto, evaluando su locomoción y emocionalidad, mostraron que las hembras lactantes no presentaron el fenotipo menos ansioso ya que recorrieron una menor distancia en el campo abierto, los autores atribuyeron estos resultados a que el parámetro de la locomoción no es lo suficientemente sensible a la ansiedad postparto reducida de las hembras.

La sublínea LY tuvo una tendencia al aumento de los episodios de inmovilidad conforme se incrementó su experiencia materna, esta variable puede ser indicativa de un estado de depresión postparto para el caso de las hembras LY. Galea y cols., (2001) desarrollaron un modelo de depresión inducido por hormonas, a ratas ovariectomizadas les administraron progesterona y estradiol simulando el perfil hormonal de la preñez, estas ratas presentaron mayor inmovilidad en la prueba de nado forzado y anhedonia en el consumo de sacarosa. No obstante no todas las hembras con experiencia materna, que experimentan el perfil hormonal de la preñez, padecen de depresión postparto. Brummelte y Galea (2016) indican que una hembra con signos de depresión previo a la experiencia materna puede ser más susceptible a padecer depresión postparto inducida por estas fluctuaciones hormonales. Para tratar de aclarar este supuesto una estrategia podría ser aplicar a las hembras LY pruebas conductuales para evaluar si presentan comportamientos depresivos, como la prueba de desesperanza aprendida, previo al apareamiento y en el postparto de que pasen por la experiencia materna.

Las hembras HY conforme cambian su condición de nulíparas hacia primíparas para después ser bíparas presentaron una disminución de la latencia de entrada al campo abierto, una reducción en la latencia de entrada al cuadro central y un incremento del número de desplazamientos verticales en el campo abierto, lo cual coincide con un fenotipo menos ansioso en estas hembras HY conforme incrementa su experiencia materna, resultados similares a lo obtenido por Wartella y cols. (2003) quienes mostraron que la exploración vertical, el número de cuadros cruzados y el número de visitas al cuadro central en el campo abierto incrementan conforme incrementa la experiencia reproductiva. Sin embargo una de las variables relevantes al evaluar el estrés en el campo abierto es la distancia que recorren los sujetos, en este parámetro las hembras HY mostraron una disminución de la distancia que recorren conforme aumenta su experiencia materna lo cual sugiere que las experiencias maternas no redujeron su estrés. No obstante Masur y cols., (1980) mostraron que al envejecer una hembra disminuye la locomoción que realiza en el campo abierto, por lo que es posible que las bíparas de seis meses de edad utilizadas en este experimento presentaron la disminución en la distancia recorrida con respecto a las nulíparas y primíparas, de tres y cuatro meses y medio respectivamente, producto de la disminución natural de este parámetro. Por lo tanto se requiere hacer una evaluación basal del comportamiento en el campo abierto de las hembras HY a los seis meses y compararlo con las hembras bíparas de esa edad.

Al comparar los diferentes grupos de ratas pertenecientes a una misma condición reproductiva y considerando solo las variables: distancia recorrida, número de cruces por el cuadro central y exploración vertical que son los parámetros reportados en la literatura con más frecuencia (Wartella y cols., 2003; Zuluaga y cols., 2005 y Ferreira-Harb y cols., 2011) se obtuvo que la distancia recorrida y el número de cruces por el cuadro central en las hembras primíparas HY es similar a las LY pero inferior a las hembras SD, mientras que para el número de desplazamientos verticales las hembras HY muestran un descenso y las LY y SD son similares. Este comportamiento parece indicar que una experiencia materna no es suficiente para generar el estado de menor ansiedad en las hembras como ha sido reportado con anterioridad (Young y Cook, 2004; Lonstein, 2005; Miller y cols., 2011). Ragan y Lonstein (2014) pre-seleccionaron

dos fenotipos de ratas en base a su comportamiento en la caja luz-oscuridad: las más y las menos ansiosas, ambos grupos de ratas tuvieron la experiencia materna y posteriormente se evaluó su ansiedad a través del laberinto de cruz elevado, los autores mostraron que para las ratas más ansiosas la experiencia materna no modificó su ansiedad, ya que pasaron menos tiempo en los brazos abiertos, incluso cuando estuvieron en contacto reciente con sus crías, lo cual se considera que es un potente estímulo para la reducción de los niveles de estrés y ansiedad en la madre (Ragan y Lonstein, 2014).

Los autores del experimento anterior concluyen que en hembras que presentan una característica innata de mayor susceptibilidad al estrés o a la ansiedad es menos probable que al contacto con sus crías durante la lactancia les genere menor ansiedad durante el postparto (Ragan y Lonstein, 2014). En este sentido Neumann y cols., 2005 trabajando con las ratas criadas para el comportamiento ansioso alto y bajo (de sus siglas en inglés: high (HAB) and low (LAB) anxiety-related behaviour) mostraron que la interacción con las crías no disminuyó la ansiedad en las ratas HAB proponiendo que la susceptibilidad al estrés, determinada genéticamente, genera efectos negativos en las adaptaciones neuroendocrinas del postparto.

La sublínea HY ha sido caracterizada con un fenotipo más sensible a estresores en base a que pasan menos tiempo en los brazos abiertos del laberinto en cruz elevado y a su secreción de corticosterona, y su aclaramiento plasmático es más lento, después de un estímulo estresante (Uribe, 2010). Además de su comportamiento materno caracterizado por el acarreo de sus crías al nido más rápido, re-acarreos y acarreos atípicos, construcción de nidos de menor calidad y una mayor latencia para lamer a sus crías en la región ano-genital y corporal en comparación con las hembras LY y SD (Ugarte y cols., 2011). Este fenotipo estresable innato y el contacto deficiente con sus crías puede ser la causa de que la primera experiencia materna no haya disminuido el estrés y ansiedad en la sublínea HY.

Después del segundo parto las hembras HY muestran valores similares a los de las hembras SD en cuanto a la distancia recorrida y a la exploración vertical, siendo similares a lo mostrado por la sublínea LY. El número de cruces por el cuadro central

aumenta en comparación a las hembras LY y SD, por lo que parece que es necesaria una segunda experiencia materna para que el fenotipo ansioso innato de la sublínea sea sensible a los efectos de la maternidad (Neumann y cols., 2005 y Ragan y Lonstein, 2014).

El número de bolos fecales y la micción durante la prueba de campo abierto se correlacionan con una mayor reactividad emocional ya que es un índice de actividad simpática (Prut y Belzung, 2003). Las hembras de las sublíneas HY, LY y de la cepa SD no mostraron diferencias en su frecuencia de defecación, tampoco por efecto de la experiencia materna. De manera natural las hembras presentan menor defecación que los machos (Mazur y cols., 1980), por lo que esta variable tiene correspondencia con la respuesta fisiológica de cada sexo a la exposición a un ambiente abierto, iluminado y ansiogénico como lo es un campo abierto.

Con respecto a la prueba de reconocimiento de objetos se obtuvo que las hembras HY nulíparas presentan una latencia de acercamiento al primer objeto mayor con respecto a las LY. Este comportamiento también se presenta cuando se compara a las hembras de su misma sublínea con una o dos experiencias maternas. Ennaceur y cols., (2009) sugieren que los animales que se aproximan a un objeto novedoso en un ambiente familiar son menos ansiosos que los que permanecen en un área protegida; por ejemplo en las esquinas de un campo abierto o lejos del objeto novedoso. Los machos de la sublínea HY con anterioridad fue caracterizada como más ansiosa en comparación a la sublínea LY, este fenotipo pudo ser el responsable de la mayor latencia en las ratas HY para acercarse al primer objeto en E1, pero cuando el estímulo ya fue conocido (etapas E2 y E3) la latencia disminuyó lo que indicaría que las hembras HY aprenden que el objeto novedoso no representa un estímulo aversivo.

Al evaluar la memoria se obtuvo que las hembras HY nulíparas de tres meses de edad tuvieron una mejor memoria de corto plazo en comparación con las SD y una tendencia a presentar una mejor memoria de largo plazo que las SD y LY, esto basado en la exploración que realizan hacia un objeto novedoso, este resultado puede deberse a que se ha reportado que la neurotransmisión colinérgica en la sublínea HY es mayor respecto de las ratas LY y SD (Urbá-Holmgren y cols., 1993; Eguibar datos no



publicados). A través de estrategias farmacológicas y lesiones en áreas cerebrales de sinápsis colinérgicas se ha establecido el rol preponderante del neurotransmisor acetilcolina en el aprendizaje y la memoria (Blokland, 1996), sin embargo la acetilcolina también tiene una función relevante en la regulación del bostezo, Urbá-Holmgren, y cols., (1990) sugieren que la regulación del bostezo está sujeta a influencias dopaminérgicas inhibitorias y colinérgicas excitatorias, además estos autores proponen que debido a la alta frecuencia de bostezo, 22 bostezos por hora, la sublínea HY puede tener una actividad colinérgica mayor en comparación a la sublínea LY, este efecto puede ser directo y general intrínseco al sistema colinérgico en su conjunto o más particular restringido a las vías dopaminérgicas que también regulan el bostezo (Holmgren, y cols., 1990).

Datos que apoyan el supuesto anterior son que al administrar pilocarpina, un agonista a receptores muscarínicos, la sublínea HY requiere de una dosis menor para presentar una frecuencia de bostezo mayor a la de la sublínea LY. Conforme se incrementa la dosis de pilocarpina las ratas HY realizan más bostezos que la sublínea LY (Urbá-Holmgren y cols., 1993). Otro acercamiento a la actividad colinérgica de la sublínea HY está en las glándulas de Harder, la actividad de estas estructuras se encuentra regulada por fibras nerviosas de diferente naturaleza con predominio de las colinérgicas (Buzell, 1996). En la sublínea HY la actividad secretora de las glándulas de Harder es más alta que en las ratas LY, medido a través de la densidad óptica (Aguilar, 1991).

La producción de acetilcolina de la sublínea HY y la de la cepa Sprague-Dawley fue medida mediante cromatografía líquida de alta eficiencia, se obtuvo que las ratas macho HY producen más acetilcolina en el núcleo basal de Meynert, la principal fuente de acetilcolina en la corteza cerebral (Richardson y DeLong, 1988), el hipocampo y la corteza prefrontal en comparación de las ratas machos SD (Eguibar datos no publicados). Siendo el hipocampo y la corteza prefrontal dos estructuras fundamentales en el proceso de memoria (Yoon y cols., 2008).

Integrando los datos anteriores con los resultados obtenidos de la memoria de corto plazo y largo plazo en la PRO en hembras de tres meses de edad, se puede

inferir que el desempeño cognitivo de la sublínea HY es resultado de una mayor actividad colinérgica, lo cual apoya lo propuesto por Holmgren y cols., (1990) de que la elevada actividad colinérgica en la sublínea HY puede ser generalizada y no particular a la regulación del bostezo. Una estrategia para evaluar esta propuesta sería introducir a sujetos de la sublínea HY a pruebas de memoria diferentes como el laberinto acuático de Morris y el laberinto de ocho brazos radiales y después de la etapa de entrenamiento administrar antagonistas colinérgicos (Hasselmo, 2006), al estar incrementada su actividad colinérgica se esperaría que los efectos negativos sobre la memoria no fueran tan pronunciados en comparación con la sublínea LY o la cepa SD.

Otra posibilidad que puede explicar la mejor memoria de las hembras HY es la modulación de la consolidación de la memoria por la secreción de glucocorticoides. Los recuerdos consolidados regularmente están basados en experiencias significativas o con carga emocional (Roosendaal, 2000), con anterioridad se ha descrito que ante un estímulo emocional la secreción de glucocorticoides y catecolaminas aumenta y esto a su vez estimula a la amígdala baso-lateral y otras regiones como el hipocampo y la neocorteza las cuales favorecen la transformación de la memoria de trabajo en memoria de corto y largo plazo: es decir consolidan la información aprendida (McGaugh, 2000; Joëls y cols., 2006; de Quervain y cols., 2009; Roosendaal y McGaugh, 2011 y Schwabe y cols., 2012).

Considerando la respuesta emocional que un espacio desconocido, abierto e iluminado puede generar en un roedor Okuda y cols. (2004) diseñaron un experimento en el cual aplicaron la prueba de reconocimiento de objetos a ratas que habían y no habían sido habituadas al campo abierto, posterior a la familiarización de los objetos se les administró corticosterona. Estos autores obtuvieron que 24 horas después de la familiarización las ratas que no fueron habituadas al campo abierto presentaron la mayor retención de la información, y por ende una mejor memoria, en comparación con las ratas habituadas, los autores proponen que el efecto de los glucocorticoides en la memoria depende de la emocionalidad durante la codificación inicial (Okuda y cols.2004).

Uribe (2010) al aplicarles estrés por restricción de movimiento a machos HY mostró que estos sujetos tuvieron un pico inicial de liberación de corticosterona el cual se sostuvo conforme transcurrió el tiempo, adicionalmente en la sublínea HY, y algo obtenido para las hembras nulíparas de este experimento, es que presentan glándulas adrenales más grandes en comparación a la sublínea LY y SD (datos no presentados), ambos factores sugieren que posiblemente la sublínea HY secrete más glucocorticoides. También se ha mostrado que hembras vírgenes expuestas a estrés crónico, y por ende a una constante secreción de corticosteroides, presentan una mejora en la memoria de trabajo en comparación a sujetos que no han sido estresados (Pawluski y cols., 2006a). Lo anterior abre a la posibilidad que debido a su fenotipo más sensible a estresores y pese a haber sido habituadas al campo abierto durante dos días consecutivos previo a la prueba las hembras HY nulíparas de este experimento pudieron haber presentado una respuesta emocional aversiva ante los objetos idénticos presentados durante la fase de familiarización lo cual produjo una mayor liberación de glucocorticoides y adrenalina como moduladores para la consolidación de su memoria y que al momento de la recuperación de la memoria (fase E2) esta información ya consolidada les ayudara a recordar mejor.

Una estrategia para evaluar lo anterior podría ser la medición de los niveles de corticosterona en ratas HY con y sin habituación previa después de que la rata interactúe con los objetos idénticos o a través de inmunohistoquímica para evaluar la expresión en el hipocampo de los dos tipos receptores a glucocorticoides: el de mineralocorticoides (RM) y el de glucocorticoides (RG), los últimos se consideran con mayor actividad moduladora ante situaciones altamente emocionales, ya que son menos sensibles a los glucocorticoides y solo se activan cuando la concentración de esta hormona es alta (de Kloet y cols., 1999), lo cual ocurriría ante una situación muy aversivo o estresante.

En las hembras LY de tres meses de edad se observó un desempeño similar al de la sublínea HY en la PRO en la memoria de corto plazo y una leve disminución de la exploración en la memoria de largo plazo con respecto de las hembras HY, pero mejor que en la sublínea SD, este desempeño cognitivo de la sublínea LY puede deberse a su

secreción de estrógenos. Jacome y cols., (2010) señalan que la administración crónica, subcrónica y aguda de estrógenos mejora la función cognitiva en hembras ovariectomizadas, evento que es validado por los experimentos de Luine (2016) e Inagaki y cols., (2010). En un estudio preliminar donde se evaluaron distintas hormonas incluido el estradiol en las hembras nulíparas de los tres grupos de ratas empleados en estos experimentos (datos no mostrados) se obtuvo que las hembras LY presentan una mayor secreción de estradiol en comparación a la sublínea HY y a la cepa SD (43.72 vs. 20.271 vs. 22.3 pg/ ml respectivamente). Estos resultados indican que el estradiol puede ser el responsable del desempeño de las hembras LY de tres meses en la PRO.

La experiencia materna generó una tendencia a mejorar la memoria de corto plazo de las hembras HY primíparas en comparación con las nulíparas no así para la condición bíparas, en la memoria de largo plazo las ratas primíparas y bíparas muestran una disminución en la exploración con respecto de las nulíparas. Pawluski y cols., (2006a) obtuvieron resultados similares al introducir a ratas Sprague-Dawley nulíparas, primíparas y múltiparas de dos partos en el laberinto de ocho brazos radiales, en la memoria de trabajo y de largo plazo las hembras primíparas fueron mejores que las múltiparas, los autores atribuyen a que es la primera experiencia materna el evento más relevante en la función cognitiva de las hembras y no tanto las experiencias consecutivas. No obstante está reportado en la literatura que al incrementar las experiencias maternas es aún mejor la memoria en las hembras (Kinsley y cols., 1999; Gatewood y cols., 2005).

En la sublínea LY se observó que dos experiencias maternas afectan negativamente la memoria de corto y largo plazo en comparación a las nulíparas y primíparas. Pawluski y cols., (2006) indican que una vez que la reproducción es exitosa y las crías son separadas de la madre, las experiencias maternas subsecuentes son menos demandantes ya que la madre ha aprendido los comportamientos maternos esenciales para la sobrevivencia de sus crías, por lo que en con el aumento de la experiencia materna los requerimientos cognitivos de la madre no son tan demandantes en comparación a su primera experiencia materna. Lo anterior sugiere que para las hembras LY bíparas podría ser que en su segunda experiencia materna los cambios

neurales que ocurren con la adquisición inicial de los comportamientos maternos cuando son primíparas no sean tan marcados.

Al comparar el efecto de la experiencia materna entre grupos de ratas se muestra que entre las primíparas las hembras HY son las que realizaron más exploración del objeto novedoso durante la memoria de corto plazo, pero seis horas después en la memoria de largo plazo la situación se invierte y son las LY las que muestran un mejor desempeño.

En el caso de las bíparas las hembras HY presentan un ligero incremento de la exploración en comparación a las hembras LY y SD durante la memoria de corto plazo mientras que en la memoria de largo plazo esta tendencia deja de ser visible. Pawluski y cols. (2006) evaluaron a hembras nulíparas, primíparas y bíparas, estas últimas fueron consideradas como múltiparas, en el laberinto de ocho brazos radiales y también analizaron su cuidado materno, obteniendo una correlación positiva entre la duración del lamido y la postura de espalda arqueada y el número de errores de memoria de largo plazo cometidos durante la prueba: en las primíparas y múltiparas mientras más dura el lamido y el amamantamiento se comete un mayor número de errores en el laberinto, en una parte de las múltiparas este efecto es aún más marcado. Ugarte (2006) mostró que las hembras LY y SD pasan más tiempo lamiendo a sus crías en comparación a las madres HY, este antecedente y los resultados de Pawluski y cols. (2006) podrían explicar porque las hembras LY bíparas exploran menos que las hembras HY de la misma condición reproductiva.

## **9. Conclusiones**

1. El número de experiencias maternas incrementa la respuesta al estrés en la sublínea LY en comparación a las hembras HY y SD.
2. Una segunda experiencia materna es necesaria para que la sublínea HY presente una disminución ante el estrés similar a la cepa SD.
3. A los tres meses de edad la sublínea HY presenta el mejor desempeño en la memoria de corto y largo plazo en comparación a las hembras LY y SD.

4. La experiencia materna modifica negativamente la memoria de las hembras LY en comparación a las HY y SD.
5. En las hembras HY la maternidad resulta en una mejoría en la memoria a corto plazo.

## 10. Referencias

Aguilar, M.S.L. y Urbá-Holgreem, R. (1991). La glándula de Harder en la cepa de ratas Sprague-Dawley sublíneas HY y LY. Tesis de Licenciatura en Químico Fármaco Biólogo en la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 55 p.

Akkerman, S., Prickaerts, J., Steinbusch, H. W. y Blokland, A. (2012). Object recognition testing: statistical considerations. *Behavioural Brain Research*, 232: 317-322.

Balderas, I., Rodríguez-Ortiz, C. J. y Bermudez-Rattoni, F. (2015). Consolidation and reconsolidation of object recognition memory. *Behavioural Brain Research*, 285: 213-222.

Barha, C. K., Lieblich, S. E., Chow, C. y Galea, L. A. (2015). Multiparity-induced enhancement of hippocampal neurogenesis and spatial memory depends on ovarian hormone status in middle age. *Neurobiology of Aging*, 36: 2391-405.

Barker, G. R. y Warburton, E. C. (2009). Critical role of the cholinergic system for object-in-place associative recognition memory. *Learning & Memory*, 16: 8-11.

Barker, G. R. y Warburton, E. C. (2011). When is the hippocampus involved in recognition memory? *The Journal of Neuroscience*, 31: 10721-10731.

Blokland, A. (1996). Acetylcholine: a neurotransmitter for learning and memory? *Brain Research Reviews*, 21: 285-300.

Bodensteiner, K. J., Cain, P., Ray, A. S. y Hamula, L. A. (2006). Effects of pregnancy on spatial cognition in female Hooded Long-Evans rats. *Hormones and Behavior*, 49: 303-314.

Bridges, R. S. (2015). Neuroendocrine regulation of maternal behavior. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 36: 178-196.

Broadbent, N. J., Gaskin, S., Squire, L. R. y Clark, R. E. (2010). Object recognition memory and the rodent hippocampus. *Learning & Memory*, 17: 5-11.

Brummelte, S. y Galea, L. A. (2016). Postpartum depression: Etiology, treatment and consequences for maternal care. *Hormones and Behavior*, 77: 153-166.

Brummelte, S. y Galea, L. A. (2010). Chronic corticosterone during pregnancy and postpartum affects maternal care, cell proliferation and depressive-like behavior in the dam. *Hormones and Behavior*, 58: 769-779.

Brunton, P. J. y Russell, J. A. (2010). Endocrine induced changes in brain function during pregnancy. *Brain Research*, 1364: 198-215.

Brunton, P. J., Russell, J. A. y Douglas, A. J. (2008). Adaptive responses of the maternal hypothalamic-pituitary-adrenal axis during pregnancy and lactation. *Journal of Neuroendocrinology*, 20: 764-776.

Burgess, N., Maguire, E. A. y O'Keefe, J. (2002). The human hippocampus and spatial and episodic memory. *Neuron*, 35: 625-641.

Burwell, R. D. y Furtak, S. C. (2008). Recognition memory: can you teach an old dogma new tricks? *Neuron*, 59: 523-525.

Buzzell, G. R. (1996). The Harderian gland: perspectives. *Microscopy Research and Technique*, 34: 2-5.

Colciago, A., Casati, L., Negri-Cesi, P. y Celotti, F. (2015). Learning and memory: steroids and epigenetics. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 150: 64-85.

Cost, K. T., Lobell, T. D., Williams-Yee, Z. N., Henderson, S. y Dohanich, G. (2014). The effects of pregnancy, lactation, and primiparity on object-in-place memory of female rats. *Hormones and Behavior*, 65: 32-39.

Cowan, N. (2008). What are the differences between long-term, short-term, and working memory? *Progress in Brain Research*, 169: 323–338.

Coyolt, A., Cortes, M. C. (2013). Evaluación de la elección entre la conducta materna y la conducta de caza en la sublínea de rata de alto y bajo bostezo de la cepa Sprague-Dawley. Tesis de Licenciatura en Bióloga en la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 73 p.

Darnaudéry, M., Perez-Martin, M., Del Favero, F., Gomez-Roldan, C., Garcia-Segura, L. M. y Maccari, S. (2007). Early motherhood in rats is associated with a modification of hippocampal function. *Psychoneuroendocrinology*, 32: 803-812.

de Kloet, E. R., Oitzl, M. S. y Joëls, M. (1999). Stress and cognition: are corticosteroids good or bad guys? *Trends in Neurosciences*, 22: 422-426.

Denenberg, V. H. (1969). Open-field behavior in the rat: what does it mean? *Annals of the New York Academy of Sciences*, 159: 852-859.

de Quervain, D. J. F., Roozendaal, B. y McGaugh, J. L. (1998). Stress and glucocorticoids impair retrieval of long-term spatial memory. *Nature*, 394:787-790.

de Quervain, D. J. F., Aerni, A., Schelling, G. y Roozendaal, B. (2009). Glucocorticoids and the regulation of memory in health and disease. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 30: 358-370.

Drury, S. S., Sánchez, M. M., y González, A. (2016). When mothering goes awry: challenges and opportunities for utilizing evidence across rodent, nonhuman primate



and human studies to better define the biological consequences of negative early caregiving. *Hormones and Behavior*, 77: 182-192.

Ennaceur, A. y Delacour, J. (1988). A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data. *Behavioural Brain Research*, 31: 47-59.

Ennaceur, A., Michalikova, S., Bradford, A., & Ahmed, S. (2005). Detailed analysis of the behavior of Lister and Wistar rats in anxiety, object recognition and object location tasks. *Behavioural Brain Research*, 159: 247-266.

Ennaceur, A., Michalikova, S. y Chazot, P. L. (2009). Do rats really express neophobia towards novel objects? Experimental evidence from exposure to novelty and to an object recognition task in an open space and an enclosed space. *Behavioural Brain Research*, 197: 417-434.

Eriksson, J., Vogel, E. K., Lansner, A., Bergström, F. y Nyberg, L. (2015). Neurocognitive Architecture of Working Memory. *Neuron*, 88: 33-46.

Feldman, R. (2016). The neurobiology of mammalian parenting and the biosocial context of human caregiving. *Hormones and Behavior*, 77: 3-17.

Ferreira, A., Pereira, M., Agrati, D., Uriarte, N. y Fernández-Guasti, A. (2002). Role of maternal behavior on aggression, fear and anxiety. *Physiology & Behavior*, 77: 197-204.

Fleming, A. S., Korsmit, M. y Deller, M. (1994). Rat pups are potent reinforcers to the maternal animal: Effects of experience, parity, hormones, and dopamine function. *Psychobiology*, 22: 44-53.

Flores, Á., Saravia, R., Maldonado, R. y Berrendero, F. (2015). Orexins and fear: implications for the treatment of anxiety disorders. *Trends in Neurosciences*, 38: 550-559.

Floresco, S. B., Seamans, J. K. y Phillips, A. G. (1997). Selective roles for hippocampal, prefrontal cortical, and ventral striatal circuits in radial-arm maze tasks with or without a delay. *The Journal of Neuroscience*, 17: 1880-1890.

Galea, L. A., Wide, J. K. y Barr, A. M. (2001). Estradiol alleviates depressive-like symptoms in a novel animal model of post-partum depression. *Behavioural Brain Research*, 122: 1-9.

Garelick, M. G. y Storm, D. R. (2005). The relationship between memory retrieval and memory extinction. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102: 9091-9092.

Gold, P. E. (2003). Acetylcholine modulation of neural systems involved in learning and memory. *Neurobiology of learning and memory*, 80: 194-210.

Hasselmo, M. E. (2006). The role of acetylcholine in learning and memory. *Current Opinion in Neurobiology*, 16: 710-715.

Hasselmo, M. E. y Sarter, M. (2011). Modes and models of forebrain cholinergic neuromodulation of cognition. *Neuropsychopharmacology*, 36: 52-73.

Hillner, K. M., Neumann, I. D., Couillard-Despres, S., Aigner, L. y Slattery, D. A. (2014). Lactation-induced reduction in hippocampal neurogenesis is reversed by repeated stress exposure. *Hippocampus*, 24: 673-683.

Hogg, S. (1996). A review of the validity and variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 54: 21-30.

Izquierdo, I., Medina, J. H., Izquierdo, L. A., Barros, D. M., de Souza, M. M. y e Souza, T. M. (1998). Short-and long-term memory are differentially regulated by monoaminergic systems in the rat brain. *Neurobiology of Learning and Memory*, 69: 219-224.

Jeneson, A. y Squire, L. R. (2012). Working memory, long-term memory, and medial temporal lobe function. *Learning & Memory*, 19: 15-25.

Joëls, M., Pu, Z., Wiegert, O., Oitzl, M. S. y Krugers, H. J. (2006). Learning under stress: how does it work? *Trends in cognitive sciences*, 10: 152-158.

Joëls, M. y Baram, T. Z. (2009). The neuro-symphony of stress. *Nature Reviews Neuroscience*, 10: 459-466.

Kandel, E. R., Kupfermann, I. e Iversen, S. (2000). Learning and Memory. En Kandel, E. R., Schwartz, J. H. y Jessell, T. M. *Principles of neural science*. New York: McGraw-Hill.1228-1229 p.

Kerr, K. M., Agster, K. L., Furtak, S. C. y Burwell, R. D. (2007). Functional neuroanatomy of the parahippocampal region: the lateral and medial entorhinal areas. *Hippocampus*, 17: 697-708.

Kinsley, C. H., Madonia, L., Gifford, G. W., Tureski, K., Griffin, G. R., Lowry, C., Williams, J., Collins, J., McLearie, H. y Lambert, K. G. (1999). Motherhood improves learning and memory. *Nature*, 402: 137-138.

Kinsley, C. H., Bardi, M., Karelina, K., Rima, B., Christon, L., Friedenber, J., y Griffin, G. (2008). Motherhood induces and maintains behavioral and neural plasticity across the lifespan in the rat. *Archives of Sexual Behavior*, 37: 43-56.

Kristal, M. B., DiPirro, J. M. y Thompson, A. C. (2012). Placentophagia in humans and nonhuman mammals: Causes and consequences. *Ecology of Food and Nutrition*, 51: 177-197.

Lambert, K. G., Berry, A. E., Griffin, G., Amory-Meyers, E., Madonia-Lomas, L., Love, G. y Kinsley, C. H. (2005). Pup exposure differentially enhances foraging ability in primiparous and nulliparous rats. *Physiology & Behavior*, 84: 799-806.

Lemaire, V., Billard, J. M., Dutar, P., George, O., Piazza, P. V., Epelbaum, J., Le Moal, M. y Mayo, W. (2006). Motherhood-induced memory improvement persists across lifespan in rats but is abolished by a gestational stress. *European Journal of Neuroscience*, 23: 3368-3374.

Leuner, B., Mirescu, C., Noiman, L. y Gould, E. (2007). Maternal experience inhibits the production of immature neurons in the hippocampus during the postpartum period through elevations in adrenal steroids. *Hippocampus*, 17: 434-442.

Lonstein, J. S. (2005). Reduced anxiety in postpartum rats requires recent physical interactions with pups, but is independent of suckling and peripheral sources of hormones. *Hormones and Behavior*, 47: 241-255.

Lonstein, J. S., Maguire, J., Meinschmidt, G., & Neumann, I. D. (2014). Emotion and mood adaptations in the peripartum female: complementary contributions of GABA and oxytocin. *Journal of Neuroendocrinology*, 26: 649-664.

Lonstein, J. S., Lévy, F. y Fleming, A. S. (2015). Common and divergent psychobiological mechanisms underlying maternal behaviors in non-human and human mammals. *Hormones and Behavior*, 73: 156-185.

Love, G., Torrey, N., McNamara, I., Morgan, M., Banks, M., Hester, N. W., Lambert, K. G. y Kinsley, C. H. (2005). Maternal experience produces long-lasting behavioral modifications in the rat. *Behavioral Neuroscience*, 119: 1 084–1096

Luine, V. N. (2014). Estradiol and cognitive function: past, present and future. *Hormones and Behavior*, 66: 602-618.

Luine, V. (2016). Estradiol: mediator of memories, spine density and cognitive resilience to stress in female rodents. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 160: 189-195.

Macbeth, A. H., Scharfman, H. E., MacLusky, N. J., Gautreaux, C. y Luine, V. N. (2008). Effects of multiparity on recognition memory, monoaminergic

neurotransmitters, and brain-derived neurotrophic factor (BDNF). *Hormones and Behavior*, 54: 7-17.

McDonald, R. J. y Hong, N. S. (2013). How does a specific learning and memory system in the mammalian brain gain control of behavior? *Hippocampus*, 23: 1084-1102.

McGaugh, J. L. (2000). Memory--a century of consolidation. *Science*, 287: 248-251.

McIntyre CK, Roozendaal B. (2007). Adrenal Stress Hormones and Enhanced Memory for Emotionally Arousing Experiences. En Bermúdez-Rattoni F. *Neural Plasticity and Memory: From Genes to Brain Imaging*. Boca Raton, Florida: CRC Press/Taylor & Francis. 265-284 p.

Masur, J., Schutz, M. T. y Boerngen, R. (1980). Gender differences in open-field behavior as a function of age. *Developmental Psychobiology*, 13: 107-110.

Miller, S. M., Piasecki, C. C. y Lonstein, J. S. (2011). Use of the light-dark box to compare the anxiety-related behavior of virgin and postpartum female rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 100: 130-137.

Mizoguchi, K., Yuzurihara, M., Ishige, A., Sasaki, H. y Tabira, T. (2001). Effect of chronic stress on cholinergic transmission in rat hippocampus. *Brain Research*, 915: 108-111.

Morris, R. (1984). Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *Journal of Neuroscience Methods*, 11: 47-60.

Moyaho, A., Eguibar, J. R. y Diaz, J. L. (1995). Induced grooming transitions and open field behaviour differ in high-and low-yawning sublines of Sprague-Dawley rats. *Animal Behaviour*, 50: 61-72.

Nelson, A. J., Cooper, M. T., Thur, K. E., Marsden, C. A. y Cassaday, H. J. (2011). The effect of catecholaminergic depletion within the prelimbic and infralimbic medial prefrontal cortex on recognition memory for recency, location, and objects. *Behavioral Neuroscience*, 125:396-403.

Neumann, I. D. (2003). Brain mechanisms underlying emotional alterations in the peripartum period in rats. *Depression and Anxiety*, 17: 111-121.

Numan, M. (1974). Medial preoptic area and maternal behavior in the female rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 87: 746-759.

Numan, M., Fleming, A. S. y Levy, F. (2006). Maternal Behavior. En Neill, J. D. *Physiology of Reproduction*, Volumen 2. San Diego, California: Elsevier Academic Press.

Numan, M. (2007). Motivational systems and the neural circuitry of maternal behavior in the rat. *Developmental Psychobiology*, 49: 12-21.

Numan, M. y Stolzenberg, D. S. (2009). Medial preoptic area interactions with dopamine neural systems in the control of the onset and maintenance of maternal behavior in rats. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 30: 46-64.

Parfitt, G. M., Barbosa, Â. K., Campos, R. C., Koth, A. P. y Barros, D. M. (2012). Moderate stress enhances memory persistence: Are adrenergic mechanisms involved? *Behavioral Neuroscience*, 126: 729-734.

Paris, J. J. y Frye, C. A. (2008). Estrous cycle, pregnancy, and parity enhance performance of rats in object recognition or object placement tasks. *Reproduction*, 136: 105-115.

Pawluski, J. L. y Galea, L. A. M. (2007). Reproductive experience alters hippocampal neurogenesis during the postpartum period in the dam. *Neuroscience*, 149: 53-67.

Pawluski, J. L., Vanderbyl, B. L., Ragan, K. y Galea, L. A. (2006a). First reproductive experience persistently affects spatial reference and working memory in the mother and these effects are not due to pregnancy or 'mothering' alone. *Behavioural Brain Research*, 175: 157-165.

Pawluski, J. L., Walker, S. K. y Galea, L. A. (2006b). Reproductive experience differentially affects spatial reference and working memory performance in the mother. *Hormones and Behavior*, 49: 143-149.

Pitsikas, N. (2015). The role of nitric oxide in the object recognition memory. *Behavioural Brain Research*, 285: 200-207.

Pivina, S. G., Shamolina, T. S. y Ordyan, N. E. (2011). Age-Related Peculiarities in Steroid Hormone Secretion and Behavior in Prenatally Stressed Female Rats in Novel Environment. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 151: 392-395.

Prut, L. y Belzung, C. (2003). The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *European Journal of Pharmacology*, 463: 3-33.

Puig, M. V., Antzoulatos, E. G. y Miller, E. K. (2014). Prefrontal dopamine in associative learning and memory. *Neuroscience*, 282: 217-229.

Ragan, C. M. y Lonstein, J. S. (2014). Differential postpartum sensitivity to the anxiety-modulating effects of offspring contact is associated with innate anxiety and brainstem levels of dopamine beta-hydroxylase in female laboratory rats. *Neuroscience*, 256: 433-444.

Rooszendaal, B. y McGaugh, J. L. (2011). Memory modulation. *Behavioral Neuroscience*, 125: 797-824.

Rosenblatt, J. S. (1975). Prepartum and postpartum regulation of maternal behavior in the rat. *Parent-infant Interaction*, 33: 17-37.

Sapiurka, M., Squire, L. R. y Clark, R. E. (2016). Distinct roles of hippocampus and medial prefrontal cortex in spatial and nonspatial memory. *Hippocampus*, 26: 1515-1524.

Schwabe, L. y Wolf, O. T. (2010). Learning under stress impairs memory formation. *Neurobiology of Learning and Memory*, 93:183-188.

Schwabe, L., Wolf, O. T. y Oitzl, M. S. (2010). Memory formation under stress: quantity and quality. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 34: 584-591.

Schwabe, L., Joëls, M., Roozendaal, B., Wolf, O. T. y Oitzl, M. S. (2012). Stress effects on memory: an update and integration. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 36: 1740-1749.

Shair, H. N., Masmela, J. R., Brunelli, S. A. y Hofer, M. A. (1997). Potentiation and inhibition of ultrasonic vocalization of rat pups: Regulation by social cues. *Developmental Psychobiology*, 30: 195-200.

Silva, M. R. P., Bernardi, M. M., Nasello, A. G. y Felicio, L. F. (1997). Influence of lactation on motor activity and elevated plus maze behavior. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 30: 241-244.

Squire, L. R. (1986). Mechanisms of memory. *Science*, 232:1612-1619.

Squire, L. R. y Zola-Morgan, S. (1988). Memory: brain systems and behavior. *Trends in Neurosciences*, 11: 170-175.

Squire, L. R. (1992). Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. *Psychological Review*, 99:195-231.

Stolzenberg, D. S. y Champagne, F. A. (2016). Hormonal and non-hormonal bases of maternal behavior: The role of experience and epigenetic mechanisms. *Hormones and Behavior*, 77: 204-210.

Sutcliffe, J. S., Marshall, K. M. y Neill, J. C. (2007). Influence of gender on working and spatial memory in the novel object recognition task in the rat. *Behavioural Brain Research*, 177: 117-125.

Tinsley, C. J., Fontaine-Palmer, N. S., Vincent, M., Endean, E. P., Aggleton, J. P., Brown, M. W. y Warburton, E. C. (2011). Differing time dependencies of object recognition memory impairments produced by nicotinic and muscarinic cholinergic antagonism in perirhinal cortex. *Learning & Memory*, 18: 484-492.



Ugarte, A., Eguibar, J.R. y Melo, A. (2006). Conducta maternal y respuesta al estrés de ratas criadas por madres de alto y bajo bostezo. Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias Biológicas en la Universidad Autónoma de Tlaxcala, 64-67 p.

Ugarte, A., Eguibar, J. R., Cortés, M., León-Chávez, B. A. y Melo, A. I. (2011). Comparative analysis of maternal care in the high-yawning (HY) and low-yawning (LY) sublines from Sprague–Dawley rats. *Developmental Psychobiology*, 53: 105-117.

Urbá-Holmgren, R., Trucios, N., Holmgren, B., Eguibar, J. R., Gavito, A., Cruz, G. y Santos, A. (1990). Genotypic dependency of spontaneous yawning frequency in the rat. *Behavioural Brain Research*, 40: 29–35.

Urbá-Holmgren, R., Santos, A., Holmgren, B., & Eguibar, J. (1993). Two inbred rat sublines that differ in spontaneous yawning behavior also differ in their responses to cholinergic and dopaminergic drugs. *Behavioural Brain Research*, 56: 155-159.

Uribe, C.A. y Eguibar, J.R. (2010). Determinación de las respuestas conductuales ante situaciones de estrés en ratas de alto bostezo y bajo bostezo de la línea Sprague-Dawley. Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias Fisiológicas en la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 45, 55 p.

Uribe, C.A. y Eguibar, J.R. (2015). Efecto del cuidado materno sobre las respuestas de estrés de la descendencia de las sublíneas HY y LY de la cepa Sprague-Dawley. Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias Fisiológicas en la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 74 p.

van Goethem, N. P., Rutten, K., van der Staay, F. J., Jans, L. A., Akkerman, S., Steinbusch, H. W., Blokland, A., van't Klooster, J. y Prickaerts, J. (2012). Object recognition testing: rodent species, strains, housing conditions, and estrous cycle. *Behavioural Brain Research*, 232: 323-334.

Vermetten, E. y Bremner, J. D. (2002). Circuits and systems in stress. I. Preclinical studies. *Depression and Anxiety*, 15: 126-147.

Wartella, J., Amory, E., Macbeth, A., McNamara, I., Stevens, L., Lambert, K. G. y Kinsley, C. H. (2003). Single or multiple reproductive experiences attenuate neurobehavioral stress and fear responses in the female rat. *Physiology & Behavior*, 79: 373-381.

White, N. M. y McDonald, R. J. (2002). Multiple parallel memory systems in the brain of the rat. *Neurobiology of Learning and Memory*, 77: 125-184.

Yang, S. T., Shi, Y., Wang, Q., Peng, J. Y. y Li, B. M. (2014). Neuronal representation of working memory in the medial prefrontal cortex of rats. *Molecular Brain*, 7: 1-13.

Young, B. J. y Cook, C. J. (2004). Stress-induced modification of anxiety in rats is dependent on reproductive status. *Physiology & Behavior*, 80: 569-575.