



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA DE PUEBLA**



INSTITUTO DE FISIOLOGÍA

**EFECTO DE LA PRIVACIÓN MATERNA Y LA
CRIANZA ARTIFICIAL SOBRE LA MORFOLOGÍA
DENDRÍTICA DEL SISTEMA LÍMBICO DE
RATAS**

Tesis para obtener el grado de

Maestría en Ciencias Fisiológicas

Presenta:

Q.F.B. Jose Alfredo Arellano Alamo

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. José Ramón Eguibar Cuenca

Heroica Puebla de Zaragoza a martes, 26 de junio de 2018

Financiado por el CONACYT a proyecto de grupo G3-181334 y los proyectos CONACYT, 243333 y 243247 para MCC y JRE, respectivamente. Por el cuerpo académico en Neuroendocrinología CA-BUAP-288 y por los proyectos VIEP-BUAP 2017. Jose Alfredo Arellano Alamo es becario de Maestría en Ciencias Fisiológicas por parte del CONACYT con número 594387.

“Se agradece a la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado por el apoyo otorgado para la conclusión de esta tesis dentro del Programa II. Investigación y Posgrado. Aseguramiento de la calidad en el Posgrado. Indicador establecido en el Plan de Desarrollo Institucional 2013-2017”.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres Marciana Alamo y Alfredo Arellano, a mi hermana Sarahi, a toda mi familia y amistades.

A Andrea Tuxpan por estar ahí en las buenas y en las malas.

Al Dr. José Ramón Eguibar y la Dra. Carmen Cortés por brindarme la oportunidad de realizar mis estudios de posgrado en el Laboratorio de Neurofisiología de Conducta y Control Motor.

Al Dr. Gonzalo Flores Álvarez y al Dr. Israel Camacho Abrego por brindarme la oportunidad de realizar la colaboración en el Laboratorio de Neuropsiquiatría.

Al Dr. Angel Ismael Melo por darme la oportunidad de realizar este proyecto en el laboratorio del Centro de Investigación de Reproducción Animal (CIRA).

Muchas gracias a los compañeros del Laboratorio de Neurofisiología de Conducta y Control Motor: a la M.C. Aracely Ugarte, Adriela, Angeles, Ángeles Carrasco, Lily, Paty, Carlos, Rubén y Juan Ibarra por su amistad y apoyo incondicional.

**NUNCA ES DEMASIADO EL AGRADECIMIENTO, A QUIEN NO TE
ABANDONO EN TUS PEORES MOMENTOS.**

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	3
1.1 Conductas sociales en roedores.....	3
1.2 Desarrollo de las conductas sociales.....	3
1.3 La conducta materna.....	6
1.4 Efecto del cuidado materno sobre el desarrollo de la progenie.....	8
1.5 Modelos animales de crianza artificial.....	9
1.5.1 La fórmula láctea.....	12
1.5.2 Separación materna total.....	13
1.6 Efecto del sistema de crianza artificial sobre el estrés	18
1.7 Sistema somatosensorial.....	20
1.7.1 Los receptores táctiles	21
1.7.2 La transmisión de señales táctiles en las fibras nerviosas periféricas	23
1.7.3 Las vías sensitivas	25
1.7.4 La transmisión por el sistema de la columna dorsal-lemnisco medial.....	27
1.8 Anatomía y morfología neuronal	29
1.8.1 Las dendritas	29
1.8.2 Las espinas dendríticas.....	29
1.8.3 Cambios en la morfología dendrítica	31
1.8.4 Contracción de las espinas dendríticas	32
1.9 La red glial	33
1.9.1 La microglía	33
1.9.2 La oligodendroglía.....	34
1.9.3 La glía de las neuronas con antígeno 2	34
1.9.4 La astroglia	35
1.9.5 La sinapsis tripartita	36
1.9.6 La glía y su actividad neurogénica.....	37
1.9.7 El soporte trófico de las neuronas	39
1.10 El sistema límbico.....	40

1.10.1 El Hipocampo	40
1.10.2 El hipocampo dorsal	41
1.10.3 El Hipocampo ventral	42
1.10.4 El núcleo Accumbens.....	42
1.10.5 La amígdala.....	44
2. ANTECEDENTES	45
3. JUSTIFICACIÓN.....	46
4. HIPÓTESIS	47
5. OBJETIVOS	48
5.1 Objetivo general.....	48
5.2 Objetivos particulares	48
6. METODOLOGÍA.....	48
6.1 Desarrollo experimental.....	48
6.2 Grupos experimentales	49
6.3 Sistema de crianza artificial.....	52
6.4 Preparación de la fórmula láctea	53
6.5 Perfusión cardíaca	55
6.6 Extracción de los cerebros y tinción de Golgi-Cox	56
6.7 Análisis morfológico mediante la técnica de Sholl y densidad de espinas dendríticas.....	58
6.8 Análisis estadístico	60
7. RESULTADOS	61
7.1 Efectos de la crianza artificial a los 21 días postnatales.....	61
7.2 Efectos de la crianza artificial a los 90 días postnatales.....	68
7.3 Resumen de resultados	74
8. DISCUSIÓN.....	74
8.1 Efectos de la crianza artificial a los 21 días postnatales.....	74
8.2 Efectos de la crianza artificial a los 90 días postnatales.....	81
9. CONCLUSIONES	91
10. PERSPECTIVAS	91
11. BIBLIOGRAFÍA.....	92

RESUMEN

En muchas especies de mamíferos la conducta parental, principalmente de la madre hacia los hijos influye en su desarrollo. La conducta materna es tan importante para las crías porque ella, junto con los hermanos de camada, es la primera fuente de estimulación sensorial y social después del parto. Los roedores son especies altriciales que nacen en un estado inmaduro, están ciegos, sordos e incapaces de regular su temperatura corporal. Están limitados en su coordinación motora y en la obtención de sus propios alimentos. El cuidado materno cubre estas necesidades mediante el amamantamiento, el acarreo de las crías hacia el nido, el lamido corporal y ano-genital. La estimulación que reciben las crías por parte de la madre es fundamental para la maduración del sistema nervioso central. Entre estos estímulos, el lamido materno es particularmente influyente y esencial ya que ayuda en la micción y en la defecación de las crías, así como en el desarrollo neural, metabólico y del comportamiento en la edad adulta. Además, las señales entre los hermanos han sido identificadas como influyentes para el desarrollo neuronal.

La separación materna total con crianza artificial nos permite evaluar los efectos de la conducta materna en un ambiente con control de la temperatura ambiental, la humedad, la nutrición y la estimulación a las crías.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar los efectos de la separación materna y crianza artificial en regiones del circuito límbico en ratas machos.

Se utilizaron ratas machos Wistar neonatales pertenecientes a una camada ajustada (5 machos, 3 hembras), divididos en cuatro grupos (n=8): un grupo

control de ratas criadas por su madre y tres grupos sometidos al sistema de crianza artificial, uno táctil donde se le adiciono cinco estimulaciones, uno aislado el cual no recibió estimulación y un grupo social el cual se le acompaño con dos hermanos donantes. Se sacrificaron a los 21 días o a los 90 días postnatales, se extrajo el cerebro para posteriormente realizar cortes coronales los cuales se tiñeron con la técnica de Golgi-Cox. Se analizó con la técnica de Sholl la arborización dendrítica, el número de orden dendrítico y la longitud dendrítica total, así como la densidad de espinas dendríticas del hipocampo dorsal y ventral, la amígdala basolateral y el núcleo accumbens. Los grupos se compararon mediante un ANOVA de un factor seguido de una prueba de Tukey. Se consideró significativa una $P < 0.05$.

En ratas de 21 días postnatales se obtuvo un incremento significativo en todos los parámetros morfológicos analizados del hipocampo ventral, disminuyendo significativamente en la amígdala basolateral en el grupo aislado en comparación con el grupo control y el táctil. En ratas de 90 días postnatales se mantuvo el efecto obtenido a los 21 días postnatales en el hipocampo ventral, aumentando el número de orden dendrítico en el hipocampo dorsal, sin obtenerse diferencias significativas en la amígdala basolateral en el grupo aislado en comparación con el grupo control y táctil.

En conclusión, la privación de los estímulos maternos causa cambios en las estructuras dendríticas del sistema límbico, tales cambios se previenen con la estimulación artificial.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 CONDUCTAS SOCIALES EN ROEDORES

Las interacciones sociales que ocurren entre dos o más individuos de la misma especie son necesarias para la comunicación, la organización, la coexistencia y para garantizar la subsistencia y la perpetuación de la especie, estas conductas sociales se han clasificado en conductas agonistas y antagonistas (Lenz y cols., 2007).

Las conductas agonistas implican el acercamiento mutuo y otorgan a los participantes bienestar, por ejemplo, la conducta copulatoria (Lenz y cols., 2007), y la conducta maternal (Gonzales y cols., 2001; Melo y cols., 2009). Las conductas antagonistas comprenden acciones que generan la retirada de al menos uno de los participantes de la interacción, por ejemplo, la agresión ofensiva, la agresión materna (Melo y cols., 2009) y el aislamiento voluntario del grupo (Lovic y cols., 2011, Melo y cols., 2006, 2009). La expresión equilibrada de ambos tipos de conductas, en respuesta a los factores internos y ambientales, permite la interacción armoniosa de la comunidad. Sin embargo, la ejecución exagerada o débil de alguna de dichas conductas conlleva a una disrupción del equilibrio social.

1.2 DESARROLLO DE LAS CONDUCTAS SOCIALES

En algunas especies de mamíferos, incluyendo a los humanos y los roedores, el comportamiento de los padres hacia las crías en desarrollo influye en la organización de los sistemas neuronales y del comportamiento (Urgarte y cols.,

2011). Estos efectos son especialmente evidentes en especies altriciales, como los roedores, que nacen en un estado inmaduro, son ciegos, sordos, tienen limitada coordinación motora, y no pueden regular su temperatura corporal u obtener sus propios alimentos. Por lo que dependen totalmente de su madre para sobrevivir, continuar su crecimiento y desarrollo (Rosenblatt y Lehrman, 1963; Rees y cols., 2006). La madre, junto con otros compañeros de camada, es también la primera fuente de estimulación sensorial y social en el nido materno.

Durante y después del parto, la prole es expuesta a sus primeras experiencias sociales con su madre y sus hermanos. Durante el parto la rata madre lame el líquido amniótico e ingiere la placenta que cubre al cuerpo de las crías (Hudson y cols., 1999). Después del parto, la madre acarrea a las crías con el hocico hacia el nido, los re-agrupa, se coloca sobre ellos y adopta una postura de dorsiflexión para el amamantamiento (González-Mariscal y Melo, 2013). Mientras la madre adopta la postura de dorsiflexión, olfatea, lame los genitales y el cuerpo de las crías. Posteriormente, la madre intensifica la postura de dorsiflexión para realizar el amamantamiento durante la cual la madre entra en un estado de somnolencia (Stern y Mackinnon, 1976).

En los primeros 10 a 14 postnatales, las crías de los roedores se mantienen juntos a través de movimientos que les permiten mantener su temperatura corporal, termorregulación conductual (Alberts y Gubernick 1983). Cuando la temperatura corporal de las crías que se encuentran en el centro del “amontonamiento” se incrementa, y la de las crías que están en la periferia disminuye, se empiezan a mover “reptando” entre ellas para intercambiar posiciones (Bautista y Juárez.,

2005). Así, las crías que estaban dentro del amontonamiento quedan en la periferia y las que estaban en la periferia quedan en el centro (Alberts y Gubernick 1983). Aunque este tipo de movimientos no se considera como conductas sociales, se ha propuesto que el contacto piel con piel, y el roce entre ellas durante dichos movimientos tienen un papel importante en el desarrollo de las crías (Melo y cols., 2006). También se ha propuesto a estos movimientos como conductas sociales “quiescentes” o “pasivas” (Melo y cols., 2015) debido a que cuando ocurren después del amamantamiento, las crías manifiestan relajación y/o sedación que favorece el anabolismo proteico (Uvnäs-Moberg, 1997). A partir del día 10 al 14 postnatal, las crías empiezan a manifestar “conductas sincronizadas” o “acopladas” (Alberts y cols., 2007), que permiten que la conducta individual gradualmente influya en la conducta de la camada, lo cual revela lo que podría ser un componente básico en el desarrollo de las conductas cooperativas y finalmente de las conductas sociales. De manera interesante estas conductas se expresan junto con la conducta de competencia para la obtención del pezón durante el amamantamiento, lo cual permite de manera indirecta otro tipo de interacciones (Melo y cols., 2015).

Dentro de las experiencias más importantes se encuentra la interacción madre-cría; esta relación se presenta en la forma de vínculo afectivo (Harlow y cols., 1966), el cual es propiciado por la actividad de sistemas neuronales presentes en la cría y en la madre que es regulado a través de comportamientos maternos como las posturas de amamantamiento, el acicalamiento, las lamidas y las señales provenientes de la madre como el olor y las vocalizaciones (Hoffer, 1994).

Esta compleja interacción entre madre y cría tienen por objeto brindar seguridad a los recién nacidos y modular la actividad de sus sistemas neuroendocrinos que son básicos para el sostenimiento de la vida y que a largo plazo les permitirán desarrollar mecanismos para afrontar las futuras demandas socio-ambientales (Sullivan y cols., 2010).

Después del destete (período post-destete o hasta la pubertad) la mayoría de los mamíferos incluyendo los roedores, despliegan conductas de juego-lucha para desarrollar conductas adaptativas, siendo esenciales para el desarrollo de las conductas sociales (Sullivan y cols., 2010), ya que practican las conductas que necesitarán en la etapa adulta.

1.3 LA CONDUCTA MATERNA

La conducta materna de la rata es estereotipada y compleja, ya que consta de una gran variedad de comportamientos que son influenciados por numerosos aspectos sensoriales, hormonales y conductuales. La conducta materna consiste en la expresión de una serie de patrones motores y eventos somato-sensoriales por parte de la madre durante la gestación, el parto y la lactancia. La conducta materna consiste en el cuidado de la cría, su acarreo hacia el nido y el lamido en la región ano-genital y corporal a la cría (Urgarte y cols., 2011). Esto con la finalidad de proveer de nutrientes, protección, calor y estímulos sensoriales táctiles, auditivos, odoríferos y hormonales a través de la leche materna y la

interacción madre-hijo, necesarias para el crecimiento, el desarrollo y la maduración de la progenie. (Fleming y cols., 1992; Melo, 2015).

El inicio de la conducta materna es estimulado por las hormonas de la gestación: los estrógenos, la progesterona, la prolactina y la oxitocina. Después del parto, el mantenimiento de la conducta materna depende de los estímulos sensoriales que las crías proveen a la madre, indispensables para el establecimiento y mantenimiento de la conducta materna post-parto (Fleming, AS. y Rosenblatt, JS., 1974, González-Mariscal, G. y Poindron, P., 2002). Se ha reportado que los estímulos sensoriales y sociales que las crías experimentan durante este período crítico favorece su desarrollo y la maduración de diversos procesos endócrinos, neurales, sociales y conductuales. Se ha reportado que la calidad y cantidad de los estímulos que la madre provee a las crías favorece el desarrollo de la conducta materna, la agresividad, las conductas sociales y la respuesta al estrés cuando éstas son adultas (González-Mariscal y Melo, 2013; Melo y Toriz., 2013). Durante la interacción entre la madre y cría, los estímulos maternos participan en el desarrollo y resistencia inmunológica del recién nacido, aumentando la probabilidad que la cría sobreviva y asegurando que las funciones reproductivas sean exitosas en la edad adulta (Kinsley y Lambert, 2006).

En los humanos la conducta materna es más compleja y difícil de clasificar, pues su expresión no sólo depende de las hormonas durante la gestación, sino también de factores ejecutivos, cognitivos, afectivos, mentales y sociales, así como de experiencias tempranas, maternas e incluso socio-culturales (González-Mariscal, G. y Melo., 2013).

1.4 EFECTO DEL CUIDADO MATERNO SOBRE EL DESARROLLO DE LA PROGENIE

Se ha propuesto que las características fenotípicas de un organismo son modificadas por la experiencia sensorial y social durante la infancia, hipótesis que ha sido confirmada durante los últimos 15 años y cada vez es más claro que los estímulos sensoriales específicos de la madre en la etapa postnatal temprana participan en el desarrollo de los sistemas neuro-conductuales. Adicionalmente, los estímulos maternos y las señales sociales de la camada han sido identificados como influyentes en el desarrollo de toda la descendencia (Melo y cols., 2006; 2009, Segura y cols., 2014).

La exposición o no de un organismo en desarrollo, hacia los estímulos provenientes de las madres determinará las características endócrinas, cognitivas y sociales en la etapa juvenil y/o adulta. Los efectos positivos o negativos persisten indefinidamente tanto en la conducta como en los procesos fisiológicos (Melo y cols., 2013). Estos efectos pueden transmitirse de una generación a otra, esto es, tiene efectos transgeneracionales debido a una modificación epigenética. Por ejemplo, las crías de madres de bajo lamido muestran una reducida desmetilación del exón 17 del promotor del receptor para glucocorticoides, que se traduce en la disminución de la unión del activador transcripcional de crecimiento nervioso inducido por la proteína-A (Francis y cols., 1999).

1.5 MODELOS ANIMALES DE CRIANZA ARTIFICIAL

Para entender en que forma afecta la conducta materna en el desarrollo y el crecimiento de las crías, se han utilizado modelos animales para construir y examinar la influencia de los componentes específicos que la estimulación materna y otras variables del ambiente temprano (Fleming, A.S. y Rosenblatt, J.S., 1974; Melo, 2015).

Los primeros trabajos que estudiaron los efectos de la separación materna en ratas mostraron características conductuales como la ansiedad, la agresividad, la depresión y las conductas maternas anormales (Levine, 1991; Levine y Lewis, 1959; Weininger, 1954). Estos estudios iniciales proporcionaron la base para la investigación sobre los efectos a largo plazo de los principios de la privación social en ratas (Prycey y Feldon, 2003; Pryce y cols., 2001), implicando que las experiencias en la vida temprana con la madre afectarían la conducta materna y social hacia su descendencia (González y cols., 2001).

Gran parte de las evidencias en la estimulación materna en la vida temprana proviene de estudios sobre los efectos a largo plazo del contacto materno (Lehmanny Feldon, 2003; Lyons y cols., 2010). Entre los paradigmas de uso más frecuente en los roedores están la separación materna repetida, el destete precoz, la separación materna parcial y la separación materna total con la crianza artificial (Cirulli y cols., 2003; Matthews y Robbins; 2003; Melo, 2015;). En dichos procedimientos se altera el tiempo de permanencia de las crías con sus madres y se evalúa cómo esta separación afecta los desempeños en pruebas de funcionamiento neuroendocrino.

Se han reportado diferentes protocolos de separación, en los que se varía el tiempo de separación de las crías de la madre siendo una variable importante el número de días del procedimiento y la etapa del desarrollo en que se encuentran las crías. Dentro de estos protocolos, los más usados son los de separación materna temprana parcial o total y los de manipulación temprana.

La separación materna parcial consiste en separar a las crías del ambiente materno de 3 a 24 horas diarias en los primeros 10 a 14 días de vida. Por otra parte, la separación materna total consiste en separar a las crías totalmente del nido a partir del día tres al cuarto de vida, colocándolas y manteniéndolas dentro de un sistema de crianza artificial para proveerles de calor, protección y nutrientes hasta el destete (Levine, 2005, Macrí y cols., 2008). Se ha propuesto que en la separación materna total tiene mucha influencia el sexo, por lo que es frecuente que solamente se evalúen machos para evitar problemas de la variabilidad asociada con cambios hormonales en las etapas del ciclo estral.

El modelo de crianza artificial se originó a partir de la necesidad de reemplazar la fuente materna de nutrición. La técnica de la crianza artificial se introdujo por primera vez por Messer y cols., 1969 como una alternativa a la alimentación artificial de las crías de rata mediante intubación en los primeros días postnatales.

La crianza artificial se utiliza no sólo con el propósito de examinar variables nutricionales en la vida temprana, sino también para investigar el papel de la interacción madre-hijo y la influencia de los estímulos sociales en la vida temprana, incluyendo la estimulación materna sobre diversos aspectos del

desarrollo (Lovic y Fleming, 2015; Melo, 2015). Uno de los beneficios principales de este paradigma es que es posible investigar directamente el papel de cada una de las variables de forma individual o combinada que participan en la interacción madre-hijo; es decir, la capacidad de "volver a agregar" estímulos y/o fuentes de estímulos sensoriales individuales con el fin de poner a prueba su importancia en el desarrollo de sistemas conductuales específicos de las crías.

En el sistema de crianza artificial las crías se retiran de su madre en el día postnatal tres o cuatro y son criados en aislamiento social hasta después del día veintiuno postnatal, se alimentan artificialmente con un sustituto de leche a través de un catéter gástrico; permitiendo la privación crónica del cuidado materno sin comprometer la nutrición, y dar estimulación mediante lamidos artificiales realizados manualmente dos veces al día con un pincel fino, diseñado para simular el lamido corporal que provee la madre con el fin de estimular la micción y la defecación. Varias modificaciones de este procedimiento estándar de crianza artificial son posibles, incluyendo la manipulación del horario de alimentación, el ambiente, la temperatura y la humedad, así como la duración del aislamiento (Levy y cols., 2003; Melo y cols., 2006, 2009; Segura y cols., 2014). Alojándose las crías se alojan en recipientes de policloruro de vinilo (PVC) individualmente, que flotan en un baño María (36 a 40 °C).

El sistema de crianza donde las crías reciben solo dos estimulaciones anogenitales por día para inducir la micción y la defecación se le conoce como crianza artificial mínima o crianza aislada (Lenz y cols, 2008 Lovic y cols, 2006; Melo y cols., 2006). En cambio, al sistema de crianza donde las crías además reciben

estimulación en el dorso y en el vientre se le conoce como crianza artificial máximamente estimulada o crianza con estimulación táctil (Lovic y Fleming, 2015; Gonzalez y Cols., 2002; Melo y Cols., 2006).

1.5.1 La fórmula láctea

Las crías sometidas al sistema de crianza artificial son alimentadas con una fórmula que es preparada con leche evaporada Carnation, proteínas de soya, minerales y vitaminas a través de la cánula. Esta cánula puede ser implantada de dos maneras: por vía gastro-cutánea (Domínguez y Tomás, 2008; Hall, 1975), o por un implante en la mejilla de la cría (Lomanowska y cols, 2011). La primera permite un control preciso sobre la cantidad de fórmula láctea que se suministra a cada cría, ya que no pasa el alimento por la cavidad oral, pero el procedimiento implica anestesiarse totalmente la cría, además que la cánula no puede ser reinsertada si obstruye de forma permanente con la fórmula láctea. El segundo tipo de implante consiste en colocar un catéter en la mejilla, este solo requiere de anestesia local, es rápido y fácil de realizar, siendo fácilmente reemplazada en caso de que se requiera.

La preparación de la fórmula láctea fue desarrollada para parecerse a la leche de rata con respecto a su contenido de macronutrientes y de micronutrientes (Messer y cols., 1969). En su mayor parte, la fórmula láctea se basa en los productos lácteos de vaca disponibles en el mercado como lo es: la leche evaporada, el aceite vegetal, las vitaminas y los minerales para asemejar al contenido que

caracteriza a la leche de rata (Diaz y cols., 1981). Una diferencia notable entre formulaciones es la fuente de proteína añadida la formula láctea, en algunos estudios se ha utilizado la caseína de origen animal y proteína de suero (Lomanowskay cols, 2006; Ward Y cols., 2004). Otros autores han empleado la proteína de soya de origen vegetal (Burton y Cols., 2007; Lomanowska y cols, 2011; Lovic y cols., 2011), el beneficio de la proteína de soya es que incrementa la homogeneidad de la leche y la viscosidad evitando la obstrucción de las cánulas, también reduce el problema de inflamación abdominal en la rata, problema que se tiene a menudo con proteína de suero de leche (observaciones no publicadas). En general, las formulaciones de leche han demostrado ser satisfactorias y nutricionalmente similares a la leche de rata (Auestad y cols., 1989). Sin embargo, hay claras diferencias entre la fórmula láctea y la leche de rata, como la falta de hormonas y de factores de crecimiento, lo que sucede con las fórmulas para bebé en humanos (Brummelte y cols., 2010). Además, en la mayoría de los estudios donde se utiliza la formula láctea, la composición sigue siendo la misma a través del desarrollo de las crías, donde los niveles de macro y micronutrientes no cambian como lo reportado en animales alimentados por la madre (Godbole y cols., 1981; Nicholas y Hartmann, 1991).

1.5. 2 Separación materna total

La separación materna total y la crianza artificial tiene características que difieren de los anteriores paradigmas de experimentación temprana: 1) permite criar a la progenie dentro de un ambiente controlado sin la madre y sin los hermanos de

camada, sin el olor del nido y sin la leche materna; 2) las crías no son privadas de nutrientes; 3) es posible evaluar de manera específica la participación de cada uno de los estímulos sensoriales, los sociales y los hormonales involucrados durante este período crítico de desarrollo; 4) la temperatura corporal no se modifica ya que permanecen en un ambiente controlado.

Las ratas adultas que son sometidas a la separación materna total con crianza artificial presentan: déficit en la atención e hiperactividad; 2) déficit en el aprendizaje social; 3) déficit en la expresión de la conducta sexual masculina y en la conducta materna; 4) incremento en la respuesta al estrés; 5) incremento en la agresividad materna, así como la agresividad territorial en el macho; 6) incremento en la impulsividad; 8) altos niveles de depresión y ansiedad; 9) reducción en los niveles de sinaptofisina, en las moléculas de adhesión celular, en las proteínas para la elongación de los axones y en el factor neurotrófico derivado del cerebro en la corteza prefrontal y el núcleo accumbens.

Se ha reportado que la adición de estímulos sensoriales con una brocha de pelos de camello o sociales colocando crías de la misma edad dentro de los recipientes durante el aislamiento, previenen parcialmente algunos de los efectos negativos sobre la conducta materna (González y Fleming, 2002; González y cols., 2001; Lovic y Fleming, 2004; Novakov y Fleming, 2005), la conducta sexual (Akbari y cols., 2010; Lenz y cols., 2008) y otras conductas sociales (Melo y cols., 2006, 2009). También se ha reportado que la estimulación induce cambios en la función tiroidea y la actividad del sistema de la serotonina en el cerebro temprano en el período posparto e involucrados en estos efectos en el hipocampo a largo plazo

(Kenny y cols., 2013). Así como la actividad locomotora (González y cols., 2001; Lovic y cols., 2006), el estrés y la ansiedad (Burton y cols., 2006; González y cols., 2001; Lovic y Fleming, 20015).

Estudios muestran que la crianza artificial no afecta la motivación materna, sino más bien perjudica el "ajuste fino" de un número de aspectos relevantes de la conducta maternal (González y cols., 2001; Shams y cols., 2012). Esto se demuestra por el hecho de que las madres que fueron sometidas al sistema de crianza artificial son capaces de participar en todas las conductas maternas, sin embargo, pasan mucho menos tiempo realizando estos comportamientos comparadas con las ratas creadas por su madre (Afonso y cols, 2011; Fleming y cols., 2002; González y cols., 2001; Melo y cols., 2006, 2009; Shams y cols.,2012).

Los cerebros de las ratas jóvenes y adultos sometidos a crianza artificial tienen mayores niveles de marcadores de proteínas relacionadas con el número de neuronas y células de soporte astrogial en comparación con las ratas criadas por su madre (Chatterjee y cols., 2007). Sin embargo, las ratas sometidas a la crianza artificial tienen menores niveles de marcadores de proteínas de neuro-plasticidad y funcionalidad, incluyendo la integridad de la sinapsis, la comunicación célula-célula, la trayectoria de los axones, y la actividad de factores neurotróficos (Burton y cols., 2007; Chatterjee y cols., 2007). Los análisis de los cerebros de las crías artificialmente revelan una disminución en la poda neuronal y en la apoptosis, es importante destacar que estos efectos son parcialmente impedidos por la estimulación táctil con un pincel (Chatterjee y cols., 2007). La presencia materna es una fuente fundamental de estimulación durante el desarrollo del sistema

nervioso. Por el contrario, existen pruebas de que la crianza artificial reduce la complejidad de las dendritas neuronales que se observa en la edad adulta (Shams y cols., 2012).

Adicionalmente, los cerebros de estas ratas parecen contener más neuronas y células de soporte, pero no son funcionales en comparación con las ratas criadas por su madre. Estos efectos están probablemente relacionados con la reducida poda y la apoptosis de las neuronas de las áreas implicadas en las conductas anómalas en las ratas criadas artificialmente (Chatterjee y cols., 2007). En las neuronas del área media pre-óptica de las ratas criadas artificial tienen mayor arborización neuronal cerca del soma neuronal, en comparación con las ratas control (Shams y cols., 2012).

Por otra parte, se ha reportado que los periodos prolongados de separación de la madre están asociados con aumento de la apoptosis y con una disminución de la producción de factores neutróficos, como el factor derivado del cerebro y el factor de crecimiento neuronal que son responsables de los cambios en la citoarquitectura y en la reparación neuronal, aumentan la producción de nuevos brotes terminales y estimulan la sinaptogénesis. Se ha encontrado que el factor derivado del cerebro y el factor de crecimiento neuronal estimulan a los microtúbulos, la reparación celular y el crecimiento de las células musgosas en el hipocampo que se conectan con las células de la capa CA3. La disminución en la producción de los factores tróficos neuronales ocasiona atrofia y muerte de las células de la capa CA3 y de las células musgosas en el hipocampo (Shams y cols., 2012).

Existe evidencia de diferencias fisiológicas entre crianza artificial y crías con su madre en el crecimiento general de cuerpo, el crecimiento de órganos y en su metabolismo (Auestad y cols., 1989). En la mayoría de los estudios, las criadas artificialmente son más pequeñas que las crías creadas con su madre, después del destete se obtienen pesos similares a los animales criados con su madre, estas diferencias se atribuyen principalmente a la alimentación con la fórmula láctea. Los factores relacionados a la ausencia de contacto social en sí son probablemente más relevantes para los resultados en la edad adulta que en la crianza artificial (Burton y cols., 2006).

El paradigma de crianza artificial tiene una fuerte validez como un modelo animal de la atención institucional debido a que se replican muchos aspectos en los orfanatos, donde las necesidades básicas de la vida como el contacto social que es proporcionado por los cuidadores es normalmente limitado (Brett y cols., 2015). Además, también hay similitudes en los perfiles de comportamiento de las ratas criadas artificialmente y niños con una historia de la atención institucional temprano deficiente (Bruce y cols., 2009; Kreppner y cols., 2001; Nelson y cols., 2013; Roy y cols., 2004).

En madres humanas, existe evidencia de la transmisión intergeneracional de comportamientos afectivos y estilos de crianza (Champagne y Meaney., 2001). Además, en los seres humanos los padres también ofrecen experiencias hostiles, socioeconómicas, de la vivienda, el estado emocional de los padres que impactan en el comportamiento futuro del niño (Melo y Cols., 2009).

1.6 EFECTO DEL SISTEMA DE CRIANZA ARTIFICIAL SOBRE EL ESTRÉS

Se ha reportado que las perturbaciones de la relación madre-hijo en primates y roedores implican separaciones prolongadas o repetidas tienen consecuencias a largo plazo sobre la fisiología y el comportamiento de la progenie (Matthews y Robbins, 2003). Estos efectos incluyen tanto cambios a largo plazo sobre la reactividad al estrés, la ansiedad, la sensibilidad a los efectos de los fármacos psico-estimulantes, así como el comportamiento social y la respuesta después de estímulos gratificantes (Lovic y cols., 2006).

Sin embargo, hay pruebas de que los efectos a largo plazo de la separación de la madre no dependen totalmente de la exposición a niveles elevados de glucocorticoides (Ward y cols., 2004).

La crianza artificial de ratas después de siete días de ser sometidas ha mostrado niveles basales en suero sanguíneo de corticosterona, y en la respuesta a un factor estresante no eran significativamente elevados en comparación con ratas criadas por su madre (Gonzalez y cols., 2001). Adicionalmente, las ratas crías artificialmente exhiben una reducción profunda en la reactividad del estrés entre los 4 y 14 días posnatales, es decir, en el periodo de hiporreactividad al estrés (Levine 2001).

Posteriormente se encontró que la concentración media de corticosterona sérica se incrementa 30 minutos después del implante de cánulas en la mejilla. A las 24h después del comienzo de la crianza artificial, no hubo diferencias en los niveles basales de corticosterona circulantes entre ratas criadas artificialmente y el

control, en el día post-natal 12, las ratas criadas artificialmente continuaron mostrando bajos niveles de corticosterona basal y no mostraron incrementos en la capacidad de respuesta del eje hipotálamo-pituitaria-adrenal ante el estrés (Lomanowska y cols., 2011).

Como se observa en la figura 1, la concentración de corticosterona difirió significativamente con la edad, entre los grupos de canulación.

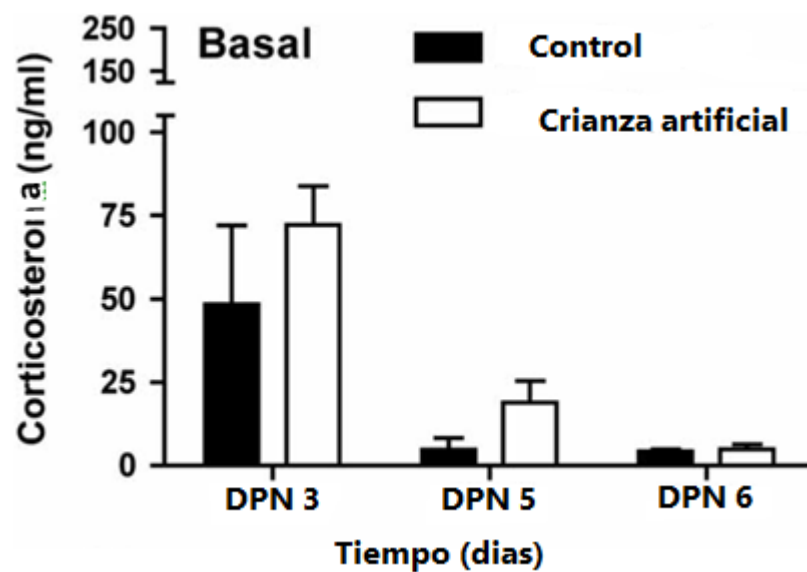


Figura 1. Determinación de la corticosterona en crías sometidas a crianza artificial y materna. Note que al inicio de la crianza existe una mayor concentración de corticosterona en ambos grupos, disminuyendo en el día 5 y 6 sin haber diferencias significativas entre la crianza artificial y la materna Lomanowska y cols., 2011.

las ratas lactantes exhiben un período de relajación del eje hipotalámico-hipófisis-suprarrenal a los cuatro y quince días postnatales respecto de los días catorce a quince días postnatales hay una reducción en la secreción de adrenocorticosteroides en respuesta a estresores experimentales como la administración exógena de la hormona adrenocorticotrófica (Sapolsky y Meaney,

1986). Este período, conocido como el período de hipersensibilidad al estrés es importante para el desarrollo normal del cerebro, ya que se ha demostrado que el alto nivel de glucocorticoides circulantes afecta al desarrollo neuronal. Adicionalmente, las manipulaciones tempranas desinhiben la respuesta al estrés durante el período de hipersensibilidad al estrés que conducen a alteraciones a largo plazo del eje hipotalámico-hipófisis-suprarrenal al estrés en las ratas adultas (Lehman y cols., 200, Meaney y cols., 1985).

1.7 SISTEMA SOMATOSENSORIAL

Durante mucho tiempo se ha establecido que las sensaciones táctiles son importantes para el adecuado apego de las crías hacia las madres, de tal manera que los bebés criados en orfanatos sin estar provistos de estas sensaciones táctiles a menudo mueren (Dentworth., 2015).

El tacto, la presión y la vibración suelen clasificarse como sensaciones independientes, aunque todas se detectan mediante los mismos tipos de receptores (Kandel y cols., 2001).

Existen tres diferencias principales: 1) la sensación de tacto en general deriva de la estimulación de los receptores táctiles situados en la piel o en los tejidos inmediatamente por debajo de ella; 2) la sensación de presión suele obedecer a la deformación de los tejidos profundos, y 3) la sensación de vibración resulta de la repetición de señales sensitivas con rapidez, pero recurre a algunos tipos de receptores que también emplean las de tacto y la presión (Kandel y cols., 2001).

1.7.1 Los receptores táctiles

Existen seis tipos de receptores táctiles diferentes, en primer lugar, algunas terminaciones nerviosas libres que están distribuidas por todas partes en la piel y en otros muchos tejidos que son capaces de detectar el tacto y la presión. En segundo lugar, es el corpúsculo de Meissner, que es una terminación nerviosa encapsulada alargada perteneciente a una gran fibra nerviosa sensitiva mielínica (de tipo A β ; Guyton y Hall., 2012).

En tercer lugar, en las yemas de los dedos y otras zonas que contienen una gran cantidad de corpúsculos de Meissner y también suelen albergar un número elevado de receptores táctiles de terminación bulbar como lo son: los discos de Merkel (Kandel y cols., 2001). A menudo los discos de Merkel se encuentran agrupados en un órgano receptor llamado receptor en cúpula de Iggo, que adopta una orientación ascendente contra la cara inferior del epitelio cutáneo. Esto hace que el epitelio sobresalga hacia fuera desde este punto, lo que crea una cúpula y configura un receptor sumamente sensible, todo el grupo de discos de Merkel está inervado por una sola fibra nerviosa mielínica grande (de tipo A β). Estos receptores, junto con los corpúsculos de Meissner, cumplen funciones importantes en la localización de las sensaciones táctiles en zonas específicas de la superficie del cuerpo y en la determinación de la textura de lo percibido (Costanzo, 2000).

En cuarto lugar, el leve movimiento de cualquier pelo sobre el cuerpo estimula una fibra nerviosa que se enrosca en su base. Por tanto, cada pelo junto a su fibra nerviosa basal se denomina órgano terminal de pelo, también constituyen receptores para el tacto. Es uno de los receptores que se adapta con rapidez y

como los corpúsculos de Meissner, detecta básicamente el movimiento de los objetos sobre la superficie del cuerpo, o su contacto inicial con el mismo (Guyton y Hall., 2012).

En quinto lugar, ubicados en las capas más profundas de la piel y también en los tejidos internos aún más profundos, son las terminaciones de Ruffini, que son terminaciones encapsuladas multirramificadas. Estas terminaciones se adaptan muy lentamente y, por consiguiente, resultan importantes para comunicar un estado de deformación continua en el tejido, como las señales de contacto intenso prolongado y de presión. Se encuentran en las cápsulas articulares y sirven para indicar el grado de rotación articular (Kandel y cols., 2001).

En sexto lugar, los corpúsculos de Pacini, se hallan inmediatamente por debajo de la piel y se encuentran en los tejidos de las fascias del organismo. Únicamente son estimulados por una compresión local rápida de los tejidos, debido a que se adaptan en unas pocas centésimas de segundo; todos estos tipos de receptores se pueden observar en la figura 2 (Guyton y Hall., 2012).

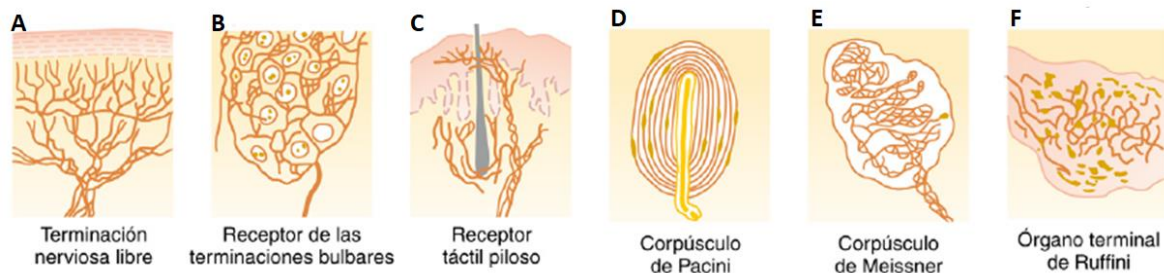


Figura 2. Tipos de receptores sensoriales somáticos. Los tipos de receptores presentes en el sistema somatosensorial son: A) las terminaciones nerviosas libres, B) los receptores bulbares o de Merkel, C) los receptores pilosos, D) los corpúsculos de Pacini, E) los corpúsculos de Meissner, y F) las terminaciones de Ruffini. Modificado de Guyton y Hall., 2012.

1.7.2 La transmisión de señales táctiles en las fibras nerviosas periféricas

Casi todos los receptores sensitivos especializados como los corpúsculos de Meissner, los receptores en cúpula de Iggo, los receptores pilosos de los folículos, los corpúsculos de Pacini, los discos de Merkel y las terminaciones de Ruffini, envían sus señales por fibras nerviosas de tipo A δ con una velocidad de transmisión entre 30 y 70 m/s. Por el contrario, los receptores táctiles de las terminaciones nerviosas libres envían sus señales sobre todo a través de pequeñas fibras mielínicas de tipo A β que conducen a una velocidad de 5 a 30 m/s.

Las terminaciones nerviosas libres para el tacto recurren a fibras amielínicas de tipo C con velocidades que oscilan desde 1 m hasta 4 o 5 m/s; en este caso, envían las señales hacia la médula espinal y hacia la parte inferior del tronco del encéfalo. Las fibras C son desmielinizadas y se especializan en la sensación de picazón y dolor (Dentworth., 2015).

Las fibras C se descubrieron en 1939, por el neurofisiólogo sueco Yngve Zotterman por medio de una técnica de microneurografía, que es un método que registrar la actividad eléctrica en fibras nerviosas individuales utilizando electrodos muy delgados, esto permitió evaluar las aferencias C táctiles en seres humanos. El primer informe comprensivo de tales fibras en una cara humana fue hecho en 1990 (Dentworth., 2015).

Las fibras aferentes C táctil son un tipo de fibras nerviosas que se encuentran en la piel con vellos en antebrazo o la espalda. Las aferencias C táctil están

perfectamente sintonizadas con la velocidad y temperatura de la piel cuando se realiza una caricia (Dentworth., 2015).

Cualquier cosa por debajo de 5 mN de presión sobre la piel se califica como tacto ligero o inocuo. En 1999, McGlone informo sobre un conjunto de estudios psicofísicos en los que robots cepillaban los antebrazos de las personas a 0,5, 5 o 50 centímetros por segundo. Los sujetos sometidos a estos estudios describieron que los estímulos a la velocidad de 5 cm/s eran los más agradables. En 2009, Johan Wessberg y Line S. Löken, determinaron por medio de microneurografía los resultados de los sujetos que habían sido estimulados por medio de los robots, reportando que los estímulos con velocidades de 5cm/s son más agradable y afectiva, estas estimulaciones son transmitidas por las fibras C táctiles.

Encontrando importantes resultados sobre las aferencias de C táctil, basado en estudios de un paciente que tenía una rara condición llamada neuropatía que la había dejado sin aferentes mielinizadas. Se estimuló cepillando en el antebrazo, pero no en la palma de la mano, observando en la resonancia magnética funcional una mayor actividad en la corteza insular (Olausson y cols., 2002, Forget y Lamarre, 1987, Cole y Sedgwick, 1992). Otro caso, se informa sobre una familia en el norte de Suecia con un trastorno hereditario que resulta en fibras nerviosas mielínicas normales, pero una pérdida sustancial de fibras C táctil no mielinizadas, las cuales son capaces de discriminar el tacto, pero no a los estímulos afectivos, además, presentan una disminución en la sensibilidad al dolor y a la temperatura (Olausson y cols., 2008).

Aunque las fibras C táctil no se han encontrado en la piel glabra, se han observado de forma clara en la mano y son estimulaciones agradables. Cuando se contrasta la activación cerebral de un cepillado lento en el antebrazo respecto de un cepillado lento en la palma de la mano hay una activación significativamente mayor de la corteza insular posterior y en la corteza orbitofrontal media anterior en la región de proyección del antebrazo (McGlone y cols., 2012), además el surco temporal posterior superior, la corteza prefrontal medial y la corteza cingulada dorsoanterior también han sido implicados en el procesamiento del tacto tipo C táctil (Lindgren y cols., 2012, Gordon y cols., 2013)

El tacto afectivo dado por las fibras C táctil puede constituir un dominio distinto del tacto normal, ya que no se caracteriza por sus funciones sensoriales-discriminativas, sino por su contexto social y emocional. Como tal, el contacto social puede basarse en un tipo de información funcionalmente y cualitativamente diferente al codificado por las aferentes A β , lo que requiere una organización funcional especializada en la periferia y el sistema nervioso central (Morrison y cols., 2010).

1.7.3 Las vías sensitivas

La disposición somatotópica sugiere que los aferentes de las fibras C táctil siguen la vía espinotalámica y se dirigen a la corteza insular posterior, como el área receptora cortical primaria (Craig, 2002).

Casi toda la información sensitiva procedente de los segmentos somáticos corporales entra en la médula espinal a través de las raíces dorsales de los nervios raquídeos por el sistema de la columna dorsal-lemnisco medial (Kandel y cols., 2001).

El sistema de la columna dorsal-lemnisco medial envía señales táctiles en sentido ascendente a través de las columnas dorsales de la médula espinal, hacia los núcleos Gracilis y cuneiforme en el bulbo raquídeo y a través del lemnisco medial a los núcleos ventro-posterolateral del tálamo y este a la corteza somatosensorial (áreas 1 al 4 de Brodmann; Guyton y Hall., 2012).

El sistema de la columna dorsal-lemnisco medial lleva información del tipo:

1. Sensaciones de tacto que requieren un alto grado espacial de localización del estímulo.
2. Sensaciones de tacto que requieren la transmisión de una fina graduación de intensidades.
3. Sensaciones fásicas, como las vibratorias.
4. Sensaciones que indiquen un movimiento contra la piel.
5. Sensaciones posicionales desde las articulaciones.
6. Sensaciones de presión relacionadas con una gran finura en la estimación de su intensidad.

1.7.4 La transmisión por el sistema de la columna dorsal-lemnisco medial

Al penetrar en la médula espinal a través de las raíces dorsales de los nervios raquídeos, las grandes fibras mielínicas procedentes de los mecanorreceptores especializados se dividen casi de inmediato para dar lugar a una rama medial y una rama lateral. La rama medial gira primero en este sentido y después hacia arriba por la columna dorsal, siguiendo su proyección a través de esta vía durante todo su trayecto hasta el encéfalo. La rama lateral penetra en la asta dorsal de la sustancia gris medular y a continuación se divide muchas veces para suministrar terminales que hagan sinapsis con las interneuronas locales en sus porciones intermedia y anterior (Guyton y Hall., 2012). Las interneuronas locales cumplen a su vez tres funciones: 1) una parte fundamental de ellas se ramifican en las columnas dorsales de la médula espinal, después ascienden hacia el encéfalo; 2) muchas de las fibras son muy cortas y acaban a nivel local en la sustancia gris de la médula espinal para producir los reflejos locales de esta estructura, 3) otras dan origen a los fascículos espinocerebelosos (Kandel y cols., 2001).

Las fibras nerviosas que penetran en las columnas dorsales siguen su trayecto sin interrupción hasta la zona dorsal del bulbo raquídeo, donde hacen sinapsis en los núcleos de la columna dorsal. Desde aquí, las neuronas de segundo orden se decusan de inmediato hacia el lado opuesto del tronco del encéfalo y continúan ascendiendo a través de los lemniscos mediales hasta el tálamo. En su recorrido por el tronco del encéfalo, otras fibras nuevas procedentes de los núcleos sensitivos del nervio trigémino se incorporan a cada lemnisco medial; estas fibras desempeñan las mismas funciones sensitivas para la cabeza que las fibras de la

columna dorsal para el cuerpo. En el tálamo, las fibras del lemnisco medial terminan en la zona talámica de relevo sensitivo, llamada complejo ventrobasal. Desde este punto, las fibras nerviosas de tercer orden proyectan, hacia la circunvolución poscentral de la corteza cerebral (Costanzo, 2000) que recibe el nombre de área sensitiva somática I ver figura 2.

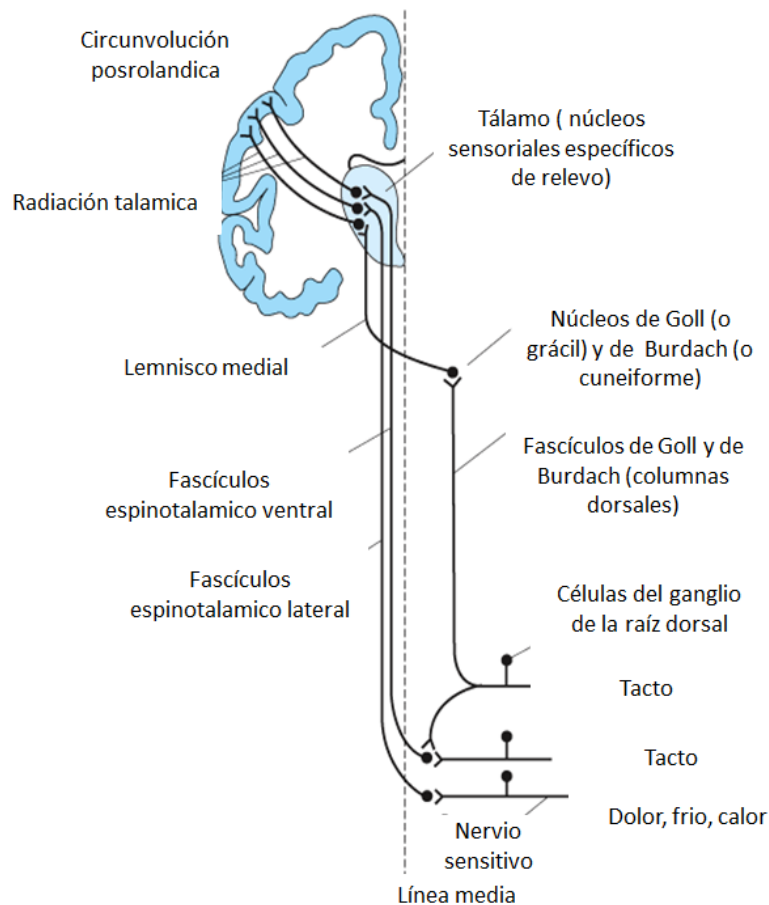


Figura 3. Vía de la columna dorsal-lemnisco medial, esencial para la recepción de la somatopatía. La figura muestra como los estímulos táctiles puede llegar por medio de la vía de la columna dorsal-lemnisco medial hasta la corteza somatosensorial y producir movimientos efectores, modificado de Guyton y Hall., 2012.

1.8 ANATOMÍA Y MORFOLOGÍA NEURONAL

En los roedores, el equilibrio entre el tamaño y la función de algunas áreas neuronales como lo son: el hipotálamo y la corteza cerebral (Numan e Insel, 2003), están implicadas en la regulación de la conducta maternal, además se sabe que la conducta materna puede afectar al desarrollo de los sistemas neuronales y conductuales (Keverne, 2001).

1.8.1 Las dendritas

Las dendritas son extensiones del cuerpo de la neurona especializada en recibir y procesar impulsos sinápticos. Inicialmente Santiago Ramón y Cajal consideró que las dendritas son receptores de superficie de las neuronas, sin embargo, se sabe en la actualidad que las dendritas pueden ser objeto de salida de información. La complejidad dendrítica puede reflejar que la neurona puede hacer contactos con axones de muchas neuronas, esto depende de los patrones de arborización axonal y de la dirección de los axones. En regiones donde las dendritas toman una orientación característica, esta orientación de los axones tiene un impacto significativo en las conexiones (Harris 1993).

1.8.2 Las espinas dendríticas

En las espinas de las dendritas se realiza la sinapsis con las diferentes neuronas, las espinas más grandes tienen sinapsis más eficaces esto es la base de una

transmisión sináptica fuerte (Sorra y Harris, 2000). Además, la morfología de las espinas juega un papel importante en la plasticidad sináptica.

La actividad sináptica puede desencadenar aumentos intracelulares de calcio que están compartimentadas dentro de cada espina (Fiala y cols., 1998). En consecuencia, el incremento del ion calcio activan las quinasas y las fosfatasa para desencadenar la denominada plasticidad sináptica (Thiels y Klann, 2001).

Las pequeñas protuberancias dendríticas, tales como espinas simples y filopodios, tienen citoesqueletos basados en actina en lugar de los microtúbulos. Los citoesqueletos de actina pueden facilitar las modificaciones en las espinas dendríticas debido los rápidos cambios en los niveles de calcio intracelular (Sorra y Harris, 2000).

Existen dos tipos principales de sinapsis, las sinapsis simétricas y las asimétricas. Las sinapsis asimétricas se caracterizan por vesículas presinápticas redondas 30 a 50 nm de diámetro y prominente densidad postsináptica. Las sinapsis simétricas tienen una densidad postsináptica mucho más delgada, acompañado de una densidad igual en la parte presináptica. Las sinapsis asimétricas suelen ser excitatorias y utilizan el neurotransmisor glutamato. Mientras que, las sinapsis simétricas utilizan como neurotransmisor ácido γ -aminobutírico o glicina (Sheng y Kim 2002).

Las espinas simples suelen tener una sola sinapsis asimétrica situada en la cabeza de la espina, de vez en cuando, las espinas tienen una segunda sinapsis, generalmente en el cuello de la espina. La segunda sinapsis puede ser simétrica o

asimétrica. Las uniones sinápticas más grandes a menudo exhiben regiones interiores desprovistas de densidad pre-sináptica post-sináptica, estas sinapsis pueden ser en forma de U o anular, o exhiben múltiples perforaciones, y con frecuencia se llaman sinapsis perforadas. En algunos casos, un contacto entre un único botón y una dendrita que se componen de dos o más regiones sinápticas disjuntas (Sheng y Kim 2002).

Las uniones de adhesión celular, a veces referida como adherencias puntos lagrimales, se encuentran en los bordes de las densidades postsinápticas de las espinas dendríticas estas uniones contienen un conjunto diferente de moléculas estructurales y de señalización en la densidad postsináptica. (Conner y Schmid 2002).

1.8.3 Cambios en la morfología dendrítica

Las espinas jóvenes pueden cambiar rápidamente. Dichos cambios pueden variar desde pequeños cambios en la espina en la superficie de la membrana o hasta cambios en su longitud, este de hecho puede promover la aparición de nuevas espinas o la eliminación total de las espinas ya existentes; tanto la formación y la eliminación de las espinas pueden ocurrir en tasas que varían entre decenas de minutos y unas pocas horas.

Las espinas se utilizan para almacenar información durante largos períodos de tiempo. Se podría esperar que las espinas reaccionen lentamente a los cambios ambientales y una vez que se han realizado los cambios, permanezcan estáticas por

mucho tiempo. La mayoría de los cambios se debe a la deformación por la polimerización de los filamentos de actina. Además, la activación de glutamato provoca una rápida pérdida de las espinas dendríticas, en paralelo con una pérdida de actina filamentosa (Thiels y Klann, 2001).

1.8.4 Contracción de las espinas dendríticas

La contracción de las espinas dendríticas requiere la activación de los receptores *N*-metil-D-aspartato y la calcineurina. En los mamíferos, las espinas dendríticas comienzan a aumentar la densidad en la primera semana después del nacimiento y llegan a la cima en la tercera semana, (White y cols., 2002; Nimchinsky y cols., 2002). Hay evidencia de una poda posterior de las espinas antes de alcanzar la densidad de la espina madura varios meses después del nacimiento.

Las espinas dendríticas están enriquecidas con F-actina y la polimerización de actina es sabido que regula la forma de la espina (Fregozo y Vega, 2012), por otra parte, la contracción de la espina es probable que sea mediada por despolimerización de la actina. Uno de los factores mejor conocidos para la regulación de F- actina es la cofilina (Fregozo y Vega, 2012), lo que desencadena la despolimerización de la F-actina, esta se inactiva por fosforilación en la posición serina-3 por Lin11, Isl-1 y Mec-3 quinasas.

1.9 LA RED GLIAL

Las neuronas tienen la habilidad de comunicarse entre sí de manera rápida y eficiente a través de señales eléctricas o químicas que se traducen en forma de potenciales de acción. Todas las células nerviosas que no producen potenciales de acción están agrupadas en lo que se conoce como la glía (del griego glía, “unión o pegamento”). Término acuñado por Rudolf Virchow en 1858.

Actualmente se ha prestado mucha más atención a este grupo de células nerviosas, que constituyen más de la mitad del cerebro humano debido a que la glía es un grupo heterogéneo de células nerviosas que cumplen funciones diversas en la fisiología del cerebro (Allen y Barres, 2009).

Con base en su morfología, fisiología y localización en el cerebro podemos identificar los siguientes principales tipos de glía: a) microglía; b) oligodendroglía; c) glía NG2 (neuronas con antígeno 2) d) astrogλία. Las células gliales y las neuronas tienen un mismo origen embrionario pues derivan del neuroectodermo. La microglía es la excepción, pues tiene un origen mesodérmico (Reyes y cols., 2014).

1.9.1 La microglía

La microglía combate a los organismos nocivos, fagocitándolos y removiendo también las células muertas y se activan como si fueran macrófagos (Bergles y cols., 2010).

1.9.2 La oligodendroglía

El papel fundamental de este tipo de células gliales es la de facilitar la comunicación eléctrica entre las neuronas. La oligodendroglía comprende a los oligodendrocitos, que se ubican en el sistema nervioso central y producen mielina que es una capa de lipoproteína que envuelve a los axones de las neuronas y hace más eficiente la comunicación neuronal al acelerar la conducción eléctrica de los impulsos nerviosos (Martínez - Gómez, 2014).

Existen tres tipos de oligodendrocitos, de acuerdo con su ubicación entre los componentes del sistema nervioso central: perineuronales, perivasculares e interfasciculares. Adicionalmente, la oligodendroglía contribuye al soporte metabólico necesario para el adecuado funcionamiento axonal (Lee y cols., 2012).

1.9.3 La glía de las neuronas con antígeno 2

Las células gliales identificadas como postsinápticas son las precursoras de los oligodendrocitos, que se distinguen de los otros tipos de células gliales porque producen la proteína de membrana que contiene antígeno 2, las células gliales con antígeno 2 se clasificaron como precursoras de los oligodendrocitos. Además, se ha encontrado que la glía con antígeno 2 podría participar en la formación de neuronas y astrocitos (Chung y cols, 2013).

1.9.4 La astrogía

Los astrocitos representan la población de células gliales más abundante del cerebro, constituyendo más del 50 % del total celular de la corteza cerebral. Santiago Ramón y Cajal los describió como células de formas estrelladas con un soma circunscrito al núcleo, del cual parten una serie de prolongaciones en sentido más o menos radial (Perea y cols., 2009; Kriegstein y Álvarez-Buylla, 2009).

In vivo se han descrito morfológicamente dos tipos mayoritarios de células astrogiales: los astrocitos fibrosos y los protoplasmáticos. Además, se han descrito otros tipos ya sea en el sistema nervioso en desarrollo (glía radial) o en regiones concretas del sistema nervioso central adulto como son las células de Müller de la retina, glía de Bergman del cerebelo y tanicitos (Reyes-Haro y cols., 2014). Los astrocitos fibrosos o estrellados predominan en la materia blanca y se caracterizan por tener unas prolongaciones largas, cilíndricas y lisas. Los astrocitos protoplasmáticos están localizados preferentemente en la materia gris, son más ramificados con prolongaciones cortas y rugosas (Ramírez-Expósito y Martínez-Martos, 1998).

En el pasado se pensaba que el papel de los astrocitos se restringía a la remoción de los neurotransmisores del espacio sináptico, lo que permitía una señalización precisa. Sin embargo, estudios recientes indican que los astrocitos tienen actividad neurogénica e incluso participan en la formación de las sinapsis y modulan la actividad sináptica gracias a una comunicación bidireccional con las neuronas (Perea y colaboradores, 2009; Kriegstein y Álvarez-Buylla, 2009). La glía lleva a

cabo esta tarea al formar redes a través de conexiones establecidas con proteínas conocidas como las conexinas. Las conexinas forman uniones comunicantes y a través de ellas las moléculas como el lactato o el calcio son movilizadas en la red glial del cerebro (Escartin y Rouach, 2013).

La astrogliá también provee de numerosos factores tróficos como son: el factor de crecimiento nervioso, el factor neurotrófico ciliar, el factor de crecimiento derivado de plaquetas, el factor de crecimiento similar a la insulina 1, el factor de necrosis tumoral D a las neuronas y oligodendrocitos vecinos. Además, se ha demostrado que los astrocitos incrementan el número de sinapsis funcionales maduras de las neuronas del sistema nervioso central y que son requeridos para el mantenimiento sináptico *in vitro* (Escartin y Rouach, 2013).

1.9.5 La sinapsis tripartita

La sinapsis tripartita es una estructura formada por elementos neuronales y gliales que constituye la base de la comunicación nerviosa y el procesamiento de la información (Perea y cols., 2009). Los astrocitos participan activamente en la sinapsis tripartita, monitoreando y respondiendo a la actividad sináptica que se produce. Un solo astrocito es capaz de contactar con miles de sinapsis neuronales. En consecuencia, las sinapsis no sólo constan de las neuronas pre y postsináptica, sino de los procesos astrocíticos que la envuelven (Bergles y cols., 2010). Otro punto interesante es que los astrocitos poseen dominios funcionales que responden independientemente a distintos neurotransmisores, lo que les

permite discriminar la actividad neuronal proveniente de distintas regiones del cerebro. Esta información es procesada por el astrocito, que puede modular la actividad neuronal liberando gliotransmisores como la D-serina, el glutamato, el ácido gamma-aminobutírico, el trifosfato de adenosina o la adenosina. Además, que los astrocitos tienen una función muy importante los procesos de memoria y aprendizaje (Suzuki y cols., 2011).

1.9.6 La glía y su actividad neurogénica

Durante mucho tiempo las células gliales han sido consideradas un simple soporte de la estructura del tejido nervioso. Hoy en día, el concepto sobre sus funciones en la fisiología del cerebro ha cambiado y se les atribuye una participación más activa en la modulación y transmisión de las señales nerviosas (Kirchhoff y cols., 2001). Durante el desarrollo embrionario, la glía conduce la migración de las neuronas y participa en la decisión sobre su organización dentro del cerebro. Sin embargo, durante el desarrollo del sistema nervioso central la glía radial tiene una distribución amplia y abundante, sus proyecciones sirven como andamios que permiten la migración de precursores neuronales a las distintas regiones del cerebro. Además, experimentos recientes con técnicas de biología molecular y celular permitieron establecer que la progenie de la glía radial incluía neuronas y astrocitos (Kriegstein y Álvarez-Buylla, 2009).

En el pasado se creía que en el cerebro adulto no había formación de nuevas neuronas. Sin embargo, se ha mostrado que existen formaciones de nuevas

neuronas en dos regiones del sistema nervioso central: el hipocampo y el bulbo olfatorio. Asimismo, la expresión de factores de transcripción como Pax6 parece ser crucial para producir nuevas neuronas a partir de astrocitos o glía radial (Kriegstein y Alvarez-Buylla, 2009).

En general la activación glial puede ser iniciada o modificada por moléculas que comúnmente son secretadas durante la neurotransmisión por medio de fractalkina y adenosina trifosfato (Elkabes y cols., 1996; Hanisch, 2002). Al activarse, las células gliales experimentan una serie de cambios morfológicos y de expresión de su perfil antigénico, estos cambios son capaces de provocar migración a los sitios de la lesión, donde proliferan y expresan moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad de clase II, además de las moléculas co-estimuladoras que les permiten actuar como células presentadoras de antígeno, pudiendo adquirir un fenotipo fagocítico. Además, las células gliales activadas producen una gran variedad de factores neurotóxicos, pro-inflamatorios, metabolitos de los ácidos grasos y radicales libres como el ion superóxido y el óxido nítrico, que son capaces de amplificar la respuesta inflamatoria (Hanisch, 2002).

La activación glial puede resultar beneficiosa, en el sentido de que puede promover la reparación de tejidos, la eliminación de restos celulares o la destrucción de patógenos. Sin embargo, una activación excesiva puede ser extremadamente nociva e inducir y/o exacerbar la neurodegeneración (Streit y cols., 1999; Hanisch, 2002).

1.9.7 El soporte trófico de las neuronas

Los astrocitos están considerados como los principales candidatos en el aporte de nutrientes a las neuronas, debido a su localización exclusiva estableciendo contacto tanto con los vasos sanguíneos como con los cuerpos celulares de las neuronas. En mamíferos, la glicólisis tiene lugar tanto en astrocitos como en neuronas, pero las reservas de glucógeno y el glucógeno sintasa enzima que cataliza su degradación se localizan exclusivamente en los astrocitos (Dringen y Hamprecht, 1993). Una parte de la glucosa que es captada por los astrocitos se acumula en forma de glucógeno (Wiesinger y cols., 1997), el cual representa una fuente de energía disponible para las neuronas en ausencia de glucosa o cuando los astrocitos son activados por neurotransmisores (Takuma y cols., 2004).

Los astrocitos son los responsables de la recaptación de la mayor parte de glutamato y de su metabolismo en el cerebro. Los astrocitos, a diferencia de las neuronas poseen una elevada actividad de la enzima glutamina sintasa, una enzima exclusiva de las células gliales que convierte el glutamato en glutamina a través de una reacción de amidación que consume energía. Se ha descrito que la microglía también es capaz de expresar transportadores de glutamato tanto *in vivo* como *in vitro* (Kondo y cols., 1995), aunque poco se conoce sobre su regulación en estas células.

La recaptación de glutamato por la microglía es aproximadamente de un 10% del valor medido en astrocitos, lo que sugiere diferencias entre estos dos tipos celulares en cuanto a las funciones fisiológicas de la recaptación de glutamato. Por otra parte, se ha sugerido la existencia de un control recíproco para los

transportadores de glutamato entre los astrocitos y la microglía (Reyes y cols.,2014). El transporte de glutamato por parte de la microglía en cierto modo podría constituir un mecanismo de reserva, que compensaría la disminución en la recaptación astroglial durante eventos patológicos del sistema nervioso central.

1.10 El sistema límbico

En 1878 Broca llamó al sistema límbico originalmente como "lóbulo límbico" que fue descrito como un anillo cortical que rodea el hilio de los hemisferios, posteriormente lo definió como sistema límbico. El sistema límbico implica una serie de importantes estructuras límbicas subcorticales interrelacionados con núcleos límbicos que pasan al cerebro anterior basal y que comprende una formación importante que se le llamó cerebro trionitario o reptiliano (Roffman y cols., 2005).

El sistema límbico comprende tanto la corteza prefrontal y los sistemas subcorticales, incluyendo el hipocampo, la amígdala, el hipotálamo, el núcleo accumbens, corteza del cíngulo, el área ventral tegmental, las principales áreas de las cortezas prefrontal y límbica (Netter, 2011).

1.10.1 El Hipocampo

El hipocampo se ubica al interior del lóbulo temporal. Su estructura interna y sus conexiones con otras áreas le permiten representar un importante papel en la entrada de nueva información y en la memoria. El hipocampo en sí mismo no es el

almacén de nuevos recuerdos, más bien rige procesos que permiten que los recuerdos se almacenen en otra parte del encéfalo como, por ejemplo, en otras regiones del lóbulo temporal, es por tanto una estructura crítica para procesar y recordar información espacial y contextual (Castro-Sierra, 2007).

El hipocampo está dividido en tres áreas: CA1, CA2 y CA3 esto deriva de la asta de Amón (Lorente, 1934). La zona más distal, designada CA1, se caracteriza por estar formada por células piramidales pequeñas, mientras la zona más proximal formada por la CA2 y CA3, que es rica en células piramidales de mayor tamaño (Amaral y Witter, 1989).

La memoria declarativa es un tipo memoria espacial que consiste en múltiples mecanismos especializados en codificar, almacenar y recuperar la información acerca de rutas, configuraciones y localizaciones espaciales (Burgess y cols. 2002, Buzsáki y Moser., 2013).

1.10.2 El hipocampo dorsal

Constituido por el *indusium griseum* o circunvolución supra-callosa, el cual es una lámina de sustancia gris situada por encima del cuerpo calloso. El *indusium griseum* pasa anteriormente alrededor de la circunvolución del cuerpo calloso y se continua dorso-caudalmente con la cintilla diagonal de Broca, posteriormente, pasa sobre el rodete del cuerpo calloso, donde se separa de este para continuar con las circunvoluciones fasciolas (Hernandez y cols., 2015).

1.10.3 El Hipocampo ventral

El hipocampo ventral está constituido por: el cuerno de Amón, el giro dentado y el subiculum.

El hipocampo ventral participa en el sistema límbico se encarga del control de la emoción especialmente la decepción y la frustración (Gray y McNaughton, 1996), regula la actividad del eje hipotálamo-pituitaria-adrenal a través de la retroalimentación negativa de glucocorticoides (Vyas y cols., 2002) provocando disfunción en el hipocampo. La disfunción y la disminución de los volúmenes del hipocampo se asocian con diferentes trastornos como estrés postraumático y depresión (Bonne y cols., 2008). La conectividad eferente indica que el hipocampo ventral puede modular el circuito de recompensa y el comportamiento emocional a través de proyecciones para el núcleo accumbens, corteza prefrontal y la amígdala, las respuestas de estrés mediante la regulación del eje hipotálamo-pituitaria-adrenal (Sahay y Hen, 2007; Fanselow y Dong, 2010).

1.10.4 El núcleo Accumbens

El núcleo accumbens pertenece al cuerpo estriado ventral, vía mesolímbica (Voorn y cols., 2005), el núcleo accumbens se ha involucrado clásicamente en la integración entre motivación y acción motora, tal como lo describe Mogenson y cols (1980). Numerosos estudios han revelado su implicación tras estímulos tanto apetitivos (Spanagel y Weiss, 1999, Bassareo y cols., 1997) como aversivos y se sabe que participa en diversos procesos como la ingesta, la conducta sexual, la

recompensa, respuesta al estrés (Groenewegen y cols., 1996, Maldonado y cols., 1995). Siendo su principal papel neurobiológico es transferir información motivacional relevante para que se codifique en actos motores o desarrolle una conducta motora apropiada (Espejo, 2000).

El núcleo accumbens posee dos áreas diferentes tanto en sus conexiones como neuroquímicamente: el núcleo y la cubierta (Meredith y cols., 1995); la cubierta presenta principalmente conexiones de carácter límbico como son las aferencias glutamatérgicas provenientes del hipocampo y de la amígdala, así como, una importante entrada dopaminérgica proveniente del área ventral tegmental mientras que el núcleo recibe aferencias glutamatérgicas de la corteza prefrontal (Voorn y cols., 2005).

El núcleo accumbens es una estructura telencefálica ubicada en las zonas basales del encéfalo anterior. Se considera una extensión ventro-medial del núcleo caudado por lo que algunos lo llaman el núcleo estriado ventral. Aunque desde el punto de vista anatómico se le considera como parte del núcleo estriado; los estudios de conducta sugieren que está integrado a las funciones del sistema límbico (Heimer y cols., 1991).

Se considera que los neurotransmisores utilizados por las proyecciones de origen cortical y por los núcleos subcorticales hacia el núcleo accumbens son el glutamato y el aspartato. En el núcleo accumbens las aferentes que recibe de otras estructuras del sistema límbico provienen de: la corteza prefrontal, la amígdala, el hipocampo, la corteza entorrinal y el giro del cíngulo (Martín Bustos M, 2008).

1.10.5 La amígdala

La amígdala o complejo amigdalino es una estructura subcortical situada en la profundidad del lóbulo temporal formando parte de la pared medial de la asta temporal del ventrículo lateral. Filogenéticamente está vinculada con el claustró y el estriado, está compuesta por numerosos núcleos agrupados en un complejo basolateral, incluyendo los núcleos basomediales (amígdala palial) y los núcleos central y cortical-medial (amígdala subpalial), estando anatómica y funcionalmente interpuesta entre el procesamiento emocional y las respuestas somáticas periféricas como la red autónoma central, incluyendo las hipotalámicas. Integra por tanto la información explícita del procesamiento emocional con las tendencias de acción implícitas, mediando en su traducción posterior en la respuesta somática correspondiente (Nieuwenhuys, 2009).

La amígdala es un componente esencial de los circuitos neurales que median la respuesta al estrés y al miedo (Vyas y cols., 2002), modula las funciones conductuales, endocrinas autonómicas y de excitación del hipotálamo. El complejo amigdalino se divide en amígdala centromedial que tiene como función regular el flujo motor autonómico y a la amígdala basolateral que tiene funciones cognitivas y motivacionales como el comportamiento, emoción y actividad exploratoria.

La amígdala basolateral solo recibe entrada directa del hipocampo ventral (LeDoux y cols., 1999)

La amígdala tiene relaciones con la neocorteza, los lóbulos frontales, el cuerpo estriado ventral, la corteza prefrontal y el hipotálamo (Everitt, 2000). En particular, la amígdala regula la producción de respuestas emocionales tanto innatas como aprendidas. Las respuestas innatas son determinadas por las aferencias autonómicas hipotálamo-troncoencefálicas al núcleo central amigdalino, desde donde se organizarán de manera directa la respuesta somática correspondiente. Por otro lado, la amígdala participa también en los sistemas neurales que subyacen al aprendizaje asociativo por condicionamiento clásico o por el condicionamiento operante, dando lugar a la formación de la denominada memoria implícita (LeDoux, 2000).

2. ANTECEDENTES

El cuidado materno participa en un conjunto complejo de comportamientos que son vitales para supervivencia de las crías. La ausencia del cuidado materno, a través del sistema de crianza artificial o aislamiento social, conduce a déficits a largo plazo en el desarrollo conductual, fisiológico y neuronal (Levy y cols., 2003).

Los animales criados artificialmente son diferentes en muchos aspectos conductuales de los animales criados por la madre, mostrando (Lovic y cols., 2009): disminución de la atención (Lovic y cols., 2009), hiperactividad (Gonzales y cols., 2001), impulsividad (Lovic y cols., 2011), déficits en el aprendizaje social de adultos (Levy y cols., 2003), y en alteraciones en las conductas sexuales (Greisen y cols., 2005) y maternas (Fleming y cols., 2002).

Chatterjee y cols. compararon la expresión de varias proteínas del cerebro entre las ratas criadas artificialmente y las ratas criadas por su madre. Las ratas criadas artificialmente muestran un aumento en la expresión de Neu-N, pero disminución de la expresión de sinaptofisina, proteína de elongación del axón y el factor neurotrófico derivado del cerebro (Chatterjee y cols., 2007). Además, las ratas criadas artificialmente también mostraron una reducción en la apoptosis y en la liberación de proteínas antiapoptóticas en el día 7 postnatal después de ser sometidas a la crianza artificial (Chatterjee y cols., 2010).

Claramente, la separación materna y el aislamiento social resultan en cambios profundos y duraderos en la plasticidad estructural neural. Sin embargo, hay poca investigación que examine la plasticidad neuronal relacionada con morfología dendrítica o grandes diferencias en la morfología del cerebro como una función de privación materna y aislamiento social (Shams y cols., 2012).

3. JUSTIFICACIÓN

Los niños que tuvieron una vida temprana en un orfanato se ha reportado que tienen un coeficiente intelectual más bajo, malas interacciones sociales con sus mismos compañeros o sus cuidadores, un retraso en el desarrollo del lenguaje, presentando problemas de ansiedad y trastornos de hiperactividad, con una disminución del volumen de la materia gris y la sustancia blanca, con respecto de los niños que nunca han sido institucionalizados, o habían estado en continua atención con alguna familia (Charles y cols., 2013) . Es debido a esta problemática

que se estudió más a fondo este problema y un modelo para realizarlo es la separación materna total y crianza artificial, que durante el período postnatal pre-destete se sabe que modifica negativamente el desarrollo de conductas sociales como la conducta materna, la conducta sexual masculina y la agresión, así como algunos cambios cognitivos incluyendo el aprendizaje social (Gonzalez y cols., 2001; Fleming y cols., 2002; Melo y cols., 2006, 2009; Lomanowska y Melo, 2015). Se han obtenido resultados donde la estimulación táctil previene la mayoría de los efectos. Sin embargo, aún existe poca evidencia del efecto de la crianza artificial, y de la estimulación táctil sobre la citoarquitectura de las diversas áreas neurales que regulan dichas conductas y los procesos cognitivos. Por lo que, el objetivo de este trabajo es evaluar la morfología dendrítica en el circuito límbico en crías de ratas bajo distintas condiciones experimentales crianza.

4. HIPÓTESIS

H1. La separación materna total y la crianza artificial durante el periodo postnatal pre-destete modifica la morfología dendrítica en el circuito límbico.

H2. La estimulación táctil o la social previenen los efectos del aislamiento.

5. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar si la crianza artificial durante el período postnatal pre-destete modifica la citoarquitectura del circuito límbico en machos en la etapa juvenil y adulta; así determinar si la estimulación táctil corporal o social previene los efectos producidos por el aislamiento de la crianza artificial.

5.2 OBJETIVOS PARTICULARES

1. Determinar si la separación materna total o la crianza artificial durante el período postnatal temprano afecta la morfología dendrítica del hipocampo ventral, hipocampo dorsal, la amígdala y el núcleo accumbens en ratas macho en la etapa juvenil y adulta.
2. Evaluar si la estimulación táctil corporal o social durante el aislamiento socio-materno postnatal pre-destete previene los efectos de la crianza artificial.

6. METODOLOGÍA

6.1 DESARROLLO EXPERIMENTAL

Se utilizaron 64 ratas machos de la cepa Wistar, proporcionados por el Bioterio del Centro de Investigación en Reproducción Animal (CIRA) de la Universidad Autónoma de Tlaxcala (UAT) y Centro de Investigación y de Estudios Avanzados

(CINVESTAV) del Instituto Politécnico Nacional, ubicado en Ixtacuixtla, Tlaxcala. Las ratas crías fueron sometidas al aislamiento social temprano y crianza artificial durante el periodo postnatal temprano desde 3 hasta al 21 dpn.

6.2 GRUPOS EXPERIMENTALES

Se dividieron en cuatro grupos (n=8): el grupo de aislado, donde cada cría fue colocada sola dentro de un recipiente individual de plástico en el sistema de crianza artificial, recibiendo estimulación ano-genital, necesarios para inducir el reflejo de micción y defecación, por 90 segundos a las 09:00 y 18:00 durante todo el periodo de la crianza artificial hasta los 21 dpn; un grupo criados por su madre, donde estarán bajo el cuidado que les provee su madre y otras 8 para el grupo táctil-corporal, recibieron 5 estimulaciones con un pincel de cerdas finas de camello en el cuerpo de manera céfalo-caudal por 90 segundos todos los días de aislamiento. Adicionalmente con base a lo propuesto se agregó un grupo social, cual se encontró dentro del sistema de crianza artificial acompañado de otra cría donante (Figura 4 y 5), los grupos experimentales fueron evaluados a la edad de 21 y 90 días postnatales (Figura 6 y 7).

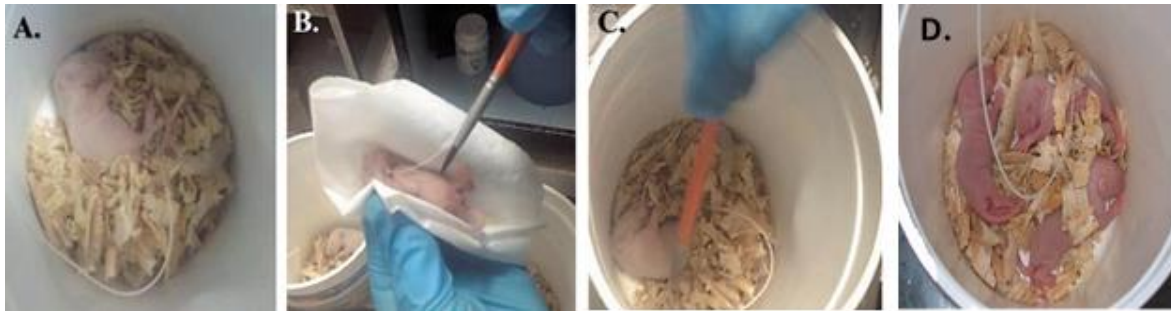


Figura 1. Grupos experimentales empleados en la crianza artificial. Se muestran las condiciones de las crías de los distintos grupos de crianza artificial: A) cría aislada, B) cría aislada cuando recibe estimulación ano-genital, C) grupo aislado-táctil y D) grupo crianza-social.

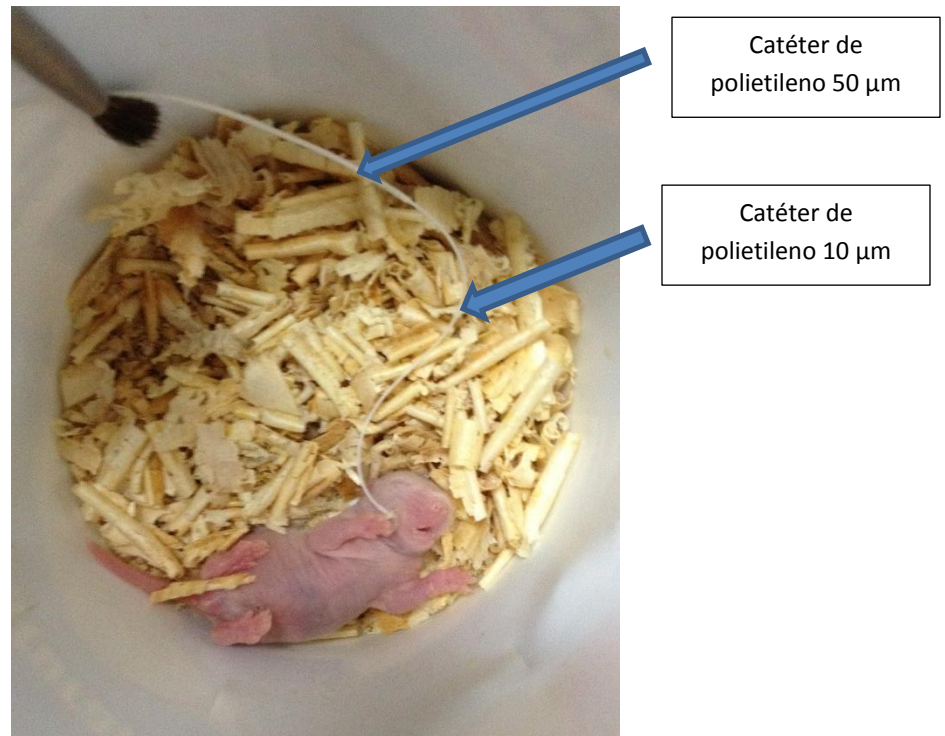


Figura 2. Rata con implante de cánula de polietileno colocado en la mejilla. Animal de experimentación en el sistema de crianza artificial donde se observa el implante del catéter entra en la mejilla que será utilizado para administrarle la fórmula láctea y así ponerlo a alimentarse.

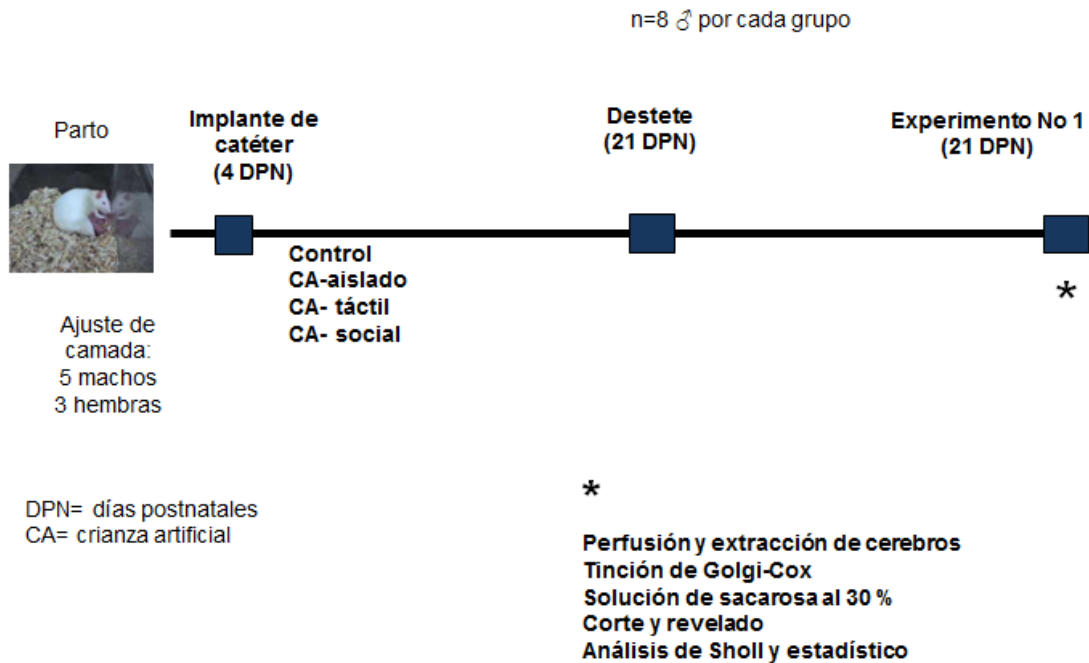


Figura 6. Metodología empleada en las crías analizadas a los 21 días postnatales. Se dividieron las ratas en cuatro grupos: control, crianza artificial sin estimulación táctil (CA-aislado), crianza artificial con estimulación táctil (CA-táctil) y con acompañamiento de hermanos (CA-social).

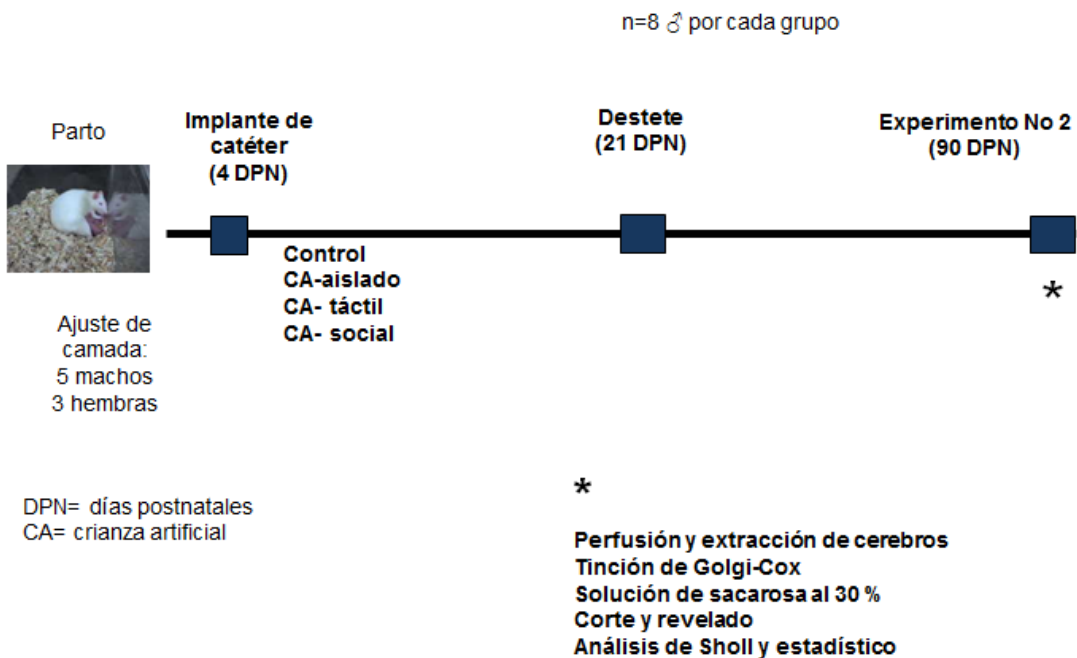


Figura 7. Metodología empleada en las crías analizadas a los 90 días postnatales. Se dividieron las ratas en cuatro grupos: control, crianza artificial sin estimulación táctil (CA-aislado), crianza artificial con estimulación táctil (CA-táctil) y con acompañamiento de hermanos (CA-social).

6.3 SISTEMA DE CRIANZA ARTIFICIAL

Posterior al implante del catéter, las crías se alojaron individualmente en recipientes de policloruro de vinilo (PVC) (15 cm de altura x 10 cm de diámetro) ajustados a un contenedor de vidrio tipo pecera (25 cm de alto, 75 cm de frente y 32 cm de fondo) con agua a una temperatura controlada de $36 \pm 2^{\circ}\text{C}$, dentro de un cuarto termo-regulado a $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ (ver figura 8) y con humedad relativa de $46 \pm 5\%$. El catéter (PE-10 Clay-Adams) es conectado a otro catéter de mayor calibre (PE-50 Clay-Adams EUA) y éste a su vez es conectado a una jeringa de plástico (Benson y Dickson (BD), EUA) de 10 ml con fórmula láctea tibia a 20°C , la cual se montó sobre una bomba de infusión programable Harvard Instruments modelo PH2000. Esta última se programó para administrar leche durante 10 minutos cada hora durante las 24h del día. El volumen y la velocidad de infusión se calcularon según el peso promedio de la cría evaluado en una báscula analítica (ver figura 9).



Figura 8. Determinación de la temperatura corporal de las ratas criadas artificialmente. En la imagen se muestra el momento de la toma de temperatura de las ratas criadas artificialmente esto se realizó cada 4 h a lo largo del ciclo circadiano.

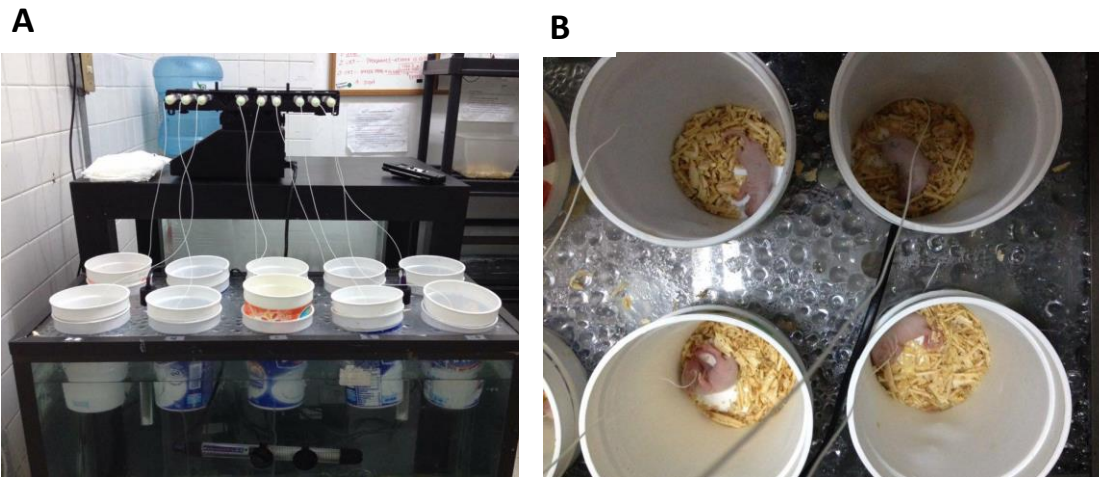


Figura 9. Sistema de crianza artificial. Se muestra el modelo de crianza artificial, el cual consiste en A) un acuario con agua caliente, dentro del cual se colocan recipientes de plástico y en la base una capa con viruta de madera. Se implanto un catéter en la mejilla de las crías se conectó a una bomba de infusión, B) se colocó dentro de los recipientes y a través de un sistema de 10 catéteres se conectó a una bomba de infusión mediante jeringas de plástico de 10 ml llenas de leche artificial y éstas se fijan sobre una bomba de infusión continua las 24 h.

El primer día de aislamiento (cuarto día postnatal), las crías recibieron un volumen de leche igual al 33% de su peso corporal promedio (5 ml de fórmula láctea), tal cantidad se incrementó 1% cada día en base a los requerimientos calóricos. Cada mañana las crías se desconectaron de la bomba y fueron pesadas. Los catéteres se limpiaron con agua caliente a 50°C dos veces al día, las jeringas se reemplazaron por otras nuevas con fórmula láctea tibia, finalmente, las crías se reconectaron a la bomba de infusión. La velocidad de infusión se recalculó de acuerdo con el nuevo peso promedio de las crías. En el día 21 postnatal, las crías fueron destetadas tanto aquellas criadas por su madre como las mantenidas en el sistema de crianza artificial.

6.4 PREPARACIÓN DE LA FÓRMULA LÁCTEA

La fórmula láctea para rata, fue provista por la Universidad de Iowa, Estados Unidos de América y se basó en lo reportado por Messer y cols. (1969) la cual

contiene lo siguiente: ZnSO₄, CuSO₄, FeSO₄, KCl y MgCl₂, además aminoácidos esenciales como metionina, triptófano y otros nutrientes como vitamina mix, fosfato de calcio tribásico y ácido deoxicólico (Sigma-Aldrich, EUA), leche de vaca evaporada (Carnation Clavel TM), agua estéril, proteína de soya y aceite de maíz. Se preparó diariamente en función de la cantidad que se requiera (ver tabla 1 y Figura 10).

Tabla 1. Composición química de la formula láctea para ratas

Compuesto	Cantidad
ZnSo4	0.053 g
CuSo4	0.03 g
FeSo4	0.055 g
KCl	0.500 g
MgCl	0.500 g
Agua	125 ml
Leche Carnation Clavel TM	250 ml
Proteína de soya	17.5 g
Vitamina mix	2.5 g
Aceite de maíz	32.5 ml
Metionina	0.500 g
Triptófano	0.250 g
Fosfato tricalcico	2.75 g
Ácido deoxicólico	0.050 g



Figura 10. Preparación de la fórmula. La imagen muestra la preparación de la fórmula láctea de acuerdo con las especificaciones idónea para ratas, al final de la preparación se envasa en recipientes de vidrios, aforándolos con la misma cantidad fórmula láctea, para su almacenamiento se refrigera a 4 °C por un máximo de 5 días.

6.5 PERFUSIÓN CARDIACA

La perfusión se realizó inmediatamente después del destete al 21 o a los 90 días postnatales; se anestesió al animal con pentobarbital sódico a una dosis de 60 mg/Kg vía intraperitoneal. Se abrió el tórax y se cortó el diafragma para dejar expuesto el corazón, posteriormente se cortó la aorta inferior para el drenaje de la sangre, se puncionó el ventrículo izquierdo con una jeringa de 20 mL, previamente llena con solución salina isotónica al 0.9%, y se administró la solución a través del ventrículo izquierdo; la perfusión terminó cuando haya sangre y los pulmones se observan totalmente claros. Esto con el fin de obtener el cerebro en óptimas condiciones (Figura 11).

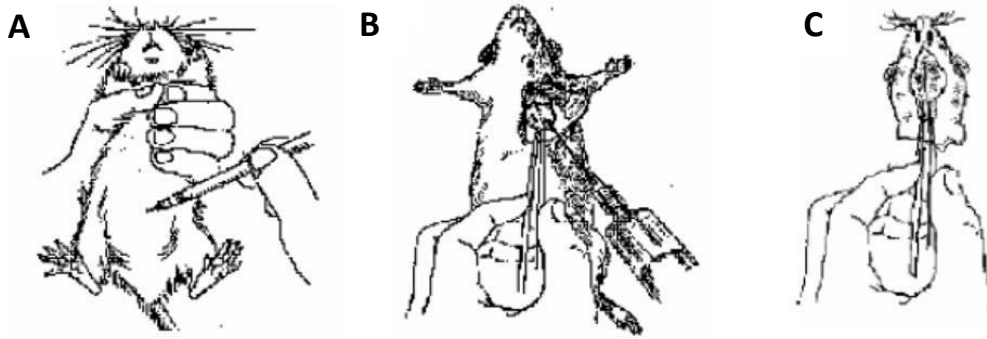


Figura 11. Punción cardiaca y extracción de cerebros. Se muestra en la imagen A) el método de anestesia del animal con pentobarbital con una dosis de 60 mg/Kg i.p., B) la perfusión cardiaca para eliminar la sangre en el cerebro, y C) la extracción del cerebro de la bóveda craneal.

6.6 EXTRACCIÓN DE LOS CEREBROS Y TINCIÓN DE GOLGI-COX

Después de la perfusión se procedió a la extracción del cerebro. Los cerebros que se obtuvieron fueron colocados individualmente en frascos con solución de Golgi-Cox ($K_2Cr_2O_7$ 170mM, $HgCl_2$ 200mM, $K_2Cr_2O_4$ 200mM) durante 30 días (ver figura 10), esta solución cubre completamente el cerebro y el frasco cerrado herméticamente. Se mantuvo guardado dentro de una caja de cartón de 20 x 40 cm donde no se expongan a la luz medio ambiental. Después, las muestras se mantuvieron en una solución de sacarosa al 30 % durante siete días.

Una vez que los cerebros se tiñeron con la solución de Golgi-Cox, se procedió a realizar los cortes histológicos en cortes coronales con ayuda de un vibratomo manual motorizado (Campden Instrument, MA752, Leicester, UK). Los cortes tienen un espesor de 200 μm de espesor y se colocaron en portaobjetos previamente gelatinizados 2% (Figura 12) y se mantuvieron en una cámara húmeda formada de un recipiente hermético de plástico con un porcentaje de 80% agua destilada y 20% de alcohol etílico para su revelado (Figura 13).



Figura 12. Extracción de Cerebros. En la imagen se muestran los frascos que contienen cada uno de los cerebros con solución Golgi-Cox que permanecieron en esta solución durante 30 días para su correcta impregnación de los cerebros.

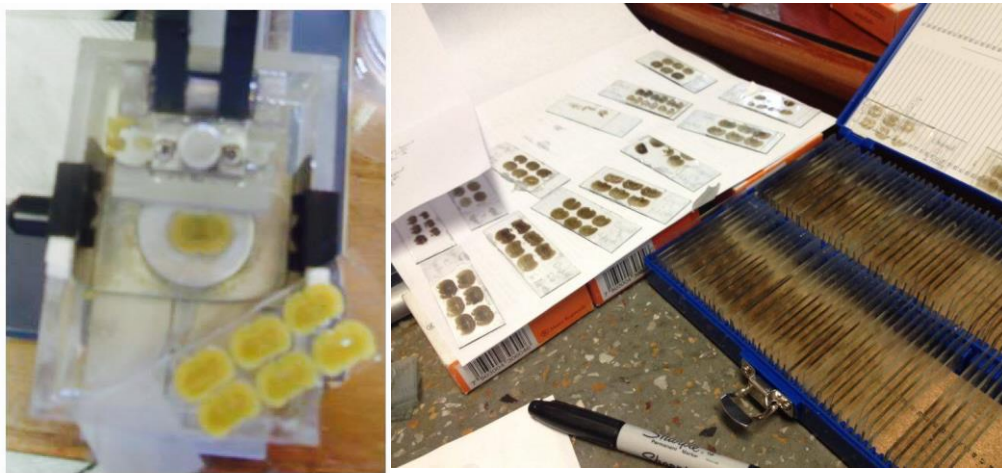


Figura 13. Corte y montaje de los cerebros. En la imagen se muestra los cortes de los cerebros con ayuda de un vibratomo (Campden Instrument, MA752, Leicester, Uk) con un espesor de 200 μm y posteriormente montados con resina sintética para su preservación.

Los cerebros fueron revelados y colocados en portaobjetos gelatinizados para posterior colocarlos en un tren de revelado siguiendo el siguiente orden: 30 min en Hidróxido de amonio, un minuto en un lavado con agua destilada, 30 min con fijado (revelador rápido de Kodak®), un minuto en un lavado con agua destilada, deshidratado con alcohol al 75% durante 10 min, deshidratado con alcohol al 90% durante 10 min, deshidratado con alcohol al 100% durante 15 min y un aclaramiento en xileno durante 30 min.

6.7 ANÁLISIS MORFOLÓGICO MEDIANTE LA TÉCNICA DE SHOLL Y DENSIDAD DE ESPINAS DENDRÍTICAS

Se localizaron las áreas de interés: amígdala, núcleo accumbens, hipocampo dorsal y ventral siguiendo las coordenadas del atlas estereotáxico de Paxinos y Watson, (1986) y se procedió a dibujar 10 neuronas por cada cerebro, dando un total de 80 neuronas para cada grupo experimental, se analizó mediante la técnica Sholl y se evaluó la densidad de espinas. Las neuronas se trazaron con ayuda de una cámara lúcida (Leica, DM2000) acoplada a un microscopio marca Leica, se utilizó el objetivo de 40x y las espinas se trazaron con el objetivo de 100X (Figura 14).

Con el análisis de Sholl se cuantifico la longitud dendrítica, arborización dendrítica, el número de orden y la densidad de espinas dendríticas promedio de las neuronas del área cerebral determinada.



Figura 34. Trazado de neuronas empleando una cámara lucida. Se muestra el dibujado de las neuronas seleccionadas de cada área de interés: el hipocampo ventral y dorsal. El núcleo accumbens y la amígdala basolateral con un microscopio marcan Leica y un sistema de cámara lucida.

Una vez que se trazó la neurona con las espinas distales, se procedió a realizar el análisis de Sholl, que consiste en iluminar las dendritas con diferentes colores según la bifurcación de estas, así la dendrita que emanen del soma corresponde a una dendrita de primer orden, y en la primera bifurcación dando paso a dendritas de segundo orden, y así sucesivamente hasta la dendrita de orden n (Figura 15).

Se colocó una plantilla transparente con círculos concéntricos de los cuales el círculo del centro que coincide con el soma, lo que permitió determinar la cantidad de intersecciones de cada orden dendrítico con cada uno de los círculos, se evaluó la longitud dendrítica total y por cada número de orden. Para obtener el número de espinas dendríticas se seleccionó la dendrita más distal de cada neurona antes dibujada. De esta dendrita se midió 5 cm equivalentes a 10 micras,

en esta porción se contaron las espinas para así obtener el número de total de espinas dendríticas.

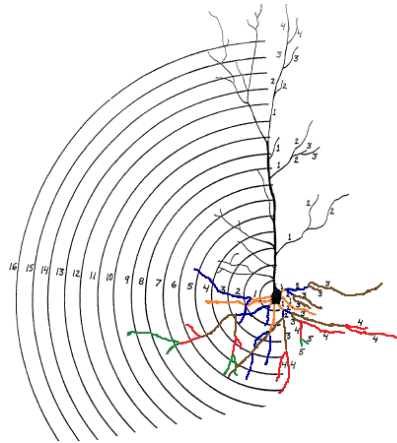


Figura 45. Esquema de la técnica de análisis de Sholl. En la figura se muestra una plantilla para el análisis de Sholl, el cual consta de círculos concéntricos de 10 micras, para poder cuantificar las arborizaciones de la dendrita a medir.

6.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se graficó la media y el error estándar de la arborización dendrítica, el número de orden, la longitud dendrítica total y densidad dendrítica total por grupos. Se compararon utilizando el programa estadístico SPSS versión 22 mediante la prueba de homogeneidad de varianza de Levene y el análisis de varianza (ANOVA) de un factor seguido de la prueba Tukey.

Se consideró una significancia de $P < 0.05$.

7. RESULTADOS

Los resultados obtenidos mediante la prueba de homogeneidad de varianza, la prueba de Levene, y adicionalmente por el teorema de límite central nos permiten suponer que la población donde se extrajo la muestra tiene una distribución normal con varianzas semejantes.

7.1 EFECTOS DE LA CRIANZA ARTIFICIAL A LOS 21 DÍAS POSTNATALES

Las ratas que fueron sometidas a crianza artificial con o sin estímulo táctil no mostraron diferencias significativas en la morfología neuronal del hipocampo dorsal respecto al grupo control, siendo semejantes en la arborización dendrítica (Figura 16A), el número de orden (Figura 16B) y la longitud dendrítica total (Figura 16C).

Por otro lado, la crianza artificial con o sin estímulos táctiles mostraron una disminución de hasta el 86% en la densidad de espinas dendríticas (21 ± 1 y 20 ± 1 espinas dendríticas respectivamente; ANOVA, $F_{23}=4.01$, $P<0.05$, seguido de la prueba Tukey, $*P<0.05$) respecto al grupo control (24 ± 1 espinas dendríticas; Figura 16D).

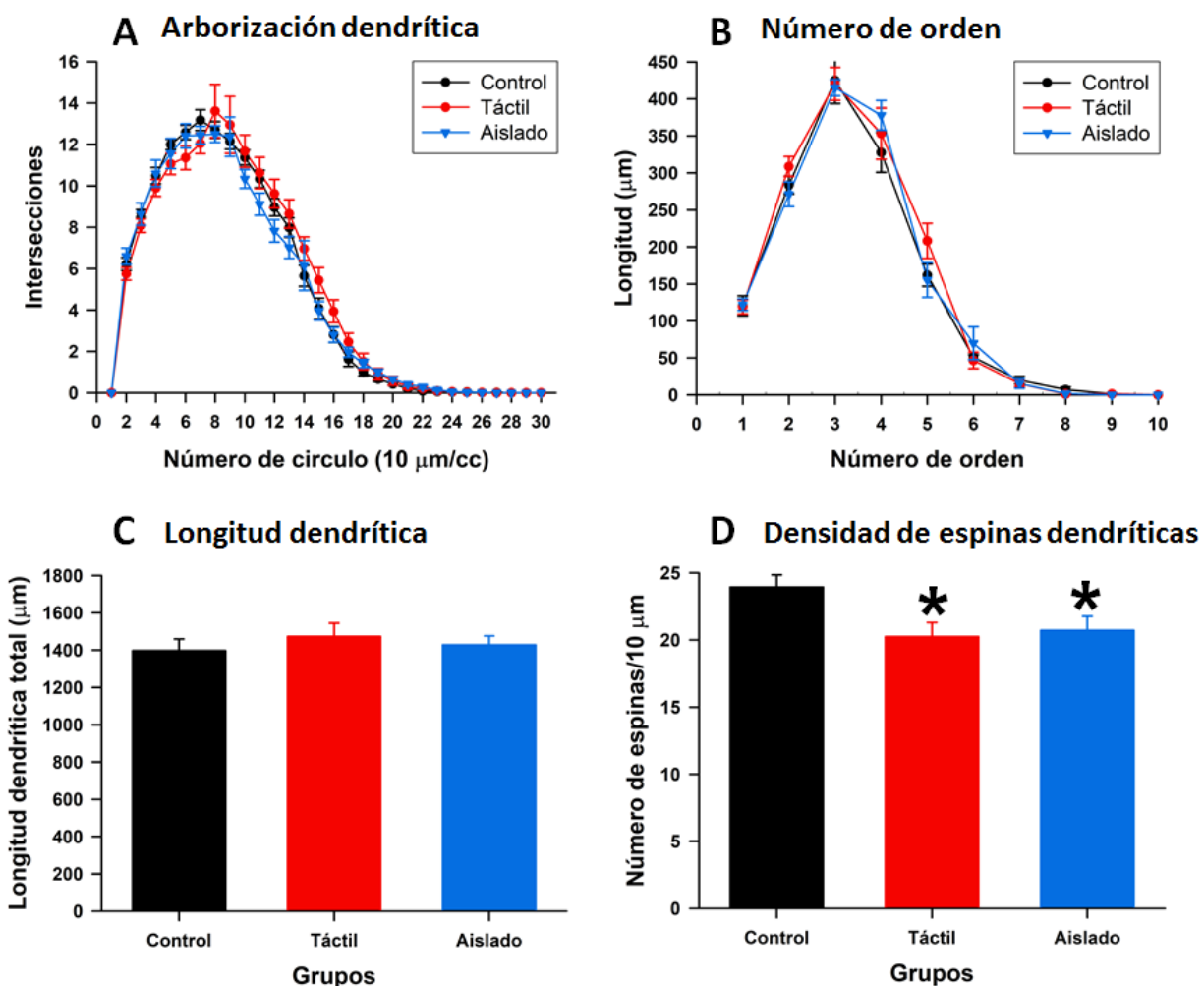


Figura 16. Análisis morfológico de las neuronas del hipocampo dorsal. La crianza artificial con o sin estímulo táctil no mostraron diferencias significativas respecto al grupo control en A) la arborización dendrítica, B) el número de orden y C) la longitud dendrítica total. Por otro lado, D) la crianza artificial con o sin estímulos táctiles (21 ± 1 y 20 ± 1 . número de espinas dendríticas respectivamente) mostraron una disminución de hasta el 86% en la densidad de espinas dendríticas (ANOVA, $F_{23}=4.01$, $P<0.05$, seguido de la prueba Tukey, $*P<0.05$) respecto al grupo control (24 ± 1).

Las ratas que tuvieron crianza artificial con estimulación táctil produjo un aumento significativo en las neuronas del hipocampo ventral respecto al grupo control y el grupo aislado en la arborización dendrítica en el número de círculo del 10 al 18, con un aumento máximo de 103% (1 ± 0.29 número de círculo, ANOVA, $F_{23}=3.33$, $P<0.05$, seguido de la prueba Tukey, $*P<0.05$, Figura 17A). No se tuvo diferencias significativas sobre el número de orden en el hipocampo ventral (Figura 17B). La crianza artificial con estimulación táctil produjo un aumento significativo de 27% (1252 ± 71.70 longitud dendrítica, ANOVA, $F_{23}=4.34$, $*P<0.05$, seguido de la prueba Tukey, $*P<0.05$) respecto al grupo control y el grupo aislado sobre la longitud dendrítica (Figura 17C). Por otro lado, la crianza artificial con estímulos táctiles (17 ± 1 , número de espinas dendríticas) mostraron una disminución de hasta el 79% en la densidad de espinas dendríticas (ANOVA, $F_{23}= 6.035$, $*P<0.01$, seguido de la prueba Tukey, $*P<0.05$) respecto al grupo control (22 ± 1 número de espinas dendríticas) y el aislado (19 ± 0.73 Figura 17 D).

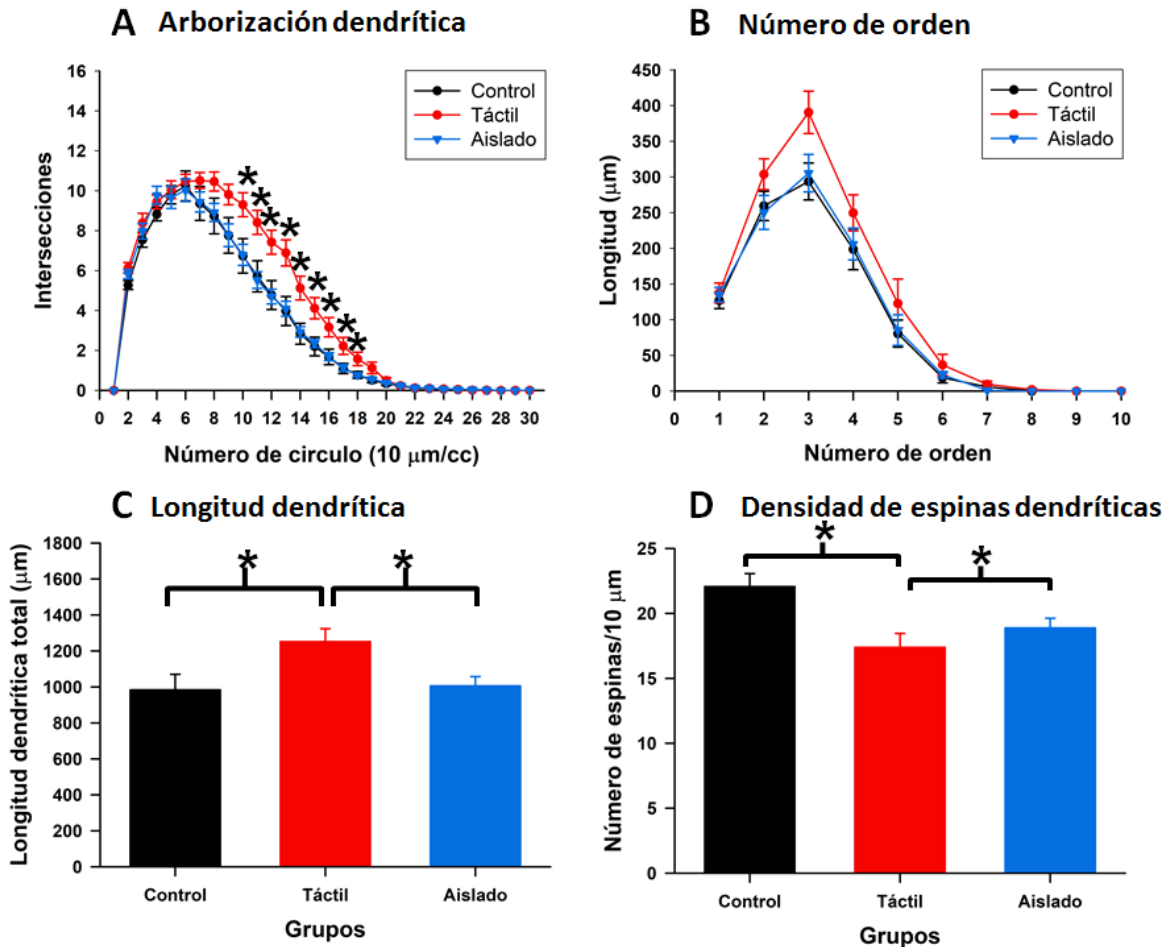


Figura 17. Análisis morfológico de las neuronas del hipocampo ventral. La crianza artificial con estimulación táctil produjo un aumento significativo respecto al grupo control y el grupo aislado en A) la arborización dendrítica en el número de círculo del 10 al 18, con un aumento máximo de 103% (1 ± 0.29 número de círculo, ANOVA, $F_{23}=3.33$, $P<0.05$, seguido de la prueba Tukey, $*P<0.05$). B) No se tuvo diferencias significativas sobre el número de orden de las neuronas del hipocampo ventral C) La crianza artificial con estimulación táctil produjo un aumento significativo de 27% (1252 ± 71.70 longitud dendrítica, ANOVA, $F_{23}=4.34$, $*P<0.05$, seguido de la prueba Tukey, $*P<0.05$) respecto al grupo control y el grupo aislado sobre la longitud dendrítica. Por otro lado, D) la crianza artificial con estímulos táctiles mostro una disminución de hasta el 79% en la densidad de espinas dendríticas (17 ± 1 número de espinas dendríticas; ANOVA, $F_{23}= 6.035$, $*P<0.01$, seguido de la prueba Tukey, $*P<0.05$) respecto al grupo control (22 ± 1 número de espinas dendríticas) y el aislado (19 ± 0.73 número de espinas dendríticas).

Las ratas con crianza artificial con o sin estímulo táctil no mostraron diferencias significativas en las neuronas de la amígdala basolateral respecto al grupo control, siendo semejantes en la arborización dendrítica (Figura 18A), el número de orden (Figura 18B) y en la longitud dendrítica total (Figura 18C). Por otro lado, la crianza artificial con o sin estímulos táctiles respecto al grupo no mostro diferencias significativas (Figura 18D).

Las ratas con crianza artificial con o sin estímulo táctil no mostraron diferencias significativas en las neuronas de la amígdala basolateral respecto al grupo control en la arborización dendrítica (Figura 19A). En el número de orden (Figura 19B) y la longitud dendrítica total se muestra una tendencia de disminución de las neuronas de la amígdala en las ratas criadas artificialmente del grupo control y táctil (Figura 19C). Por otro lado, la crianza artificial con o sin estímulos táctiles respecto al grupo no mostro diferencias significativas (Figura 19D).

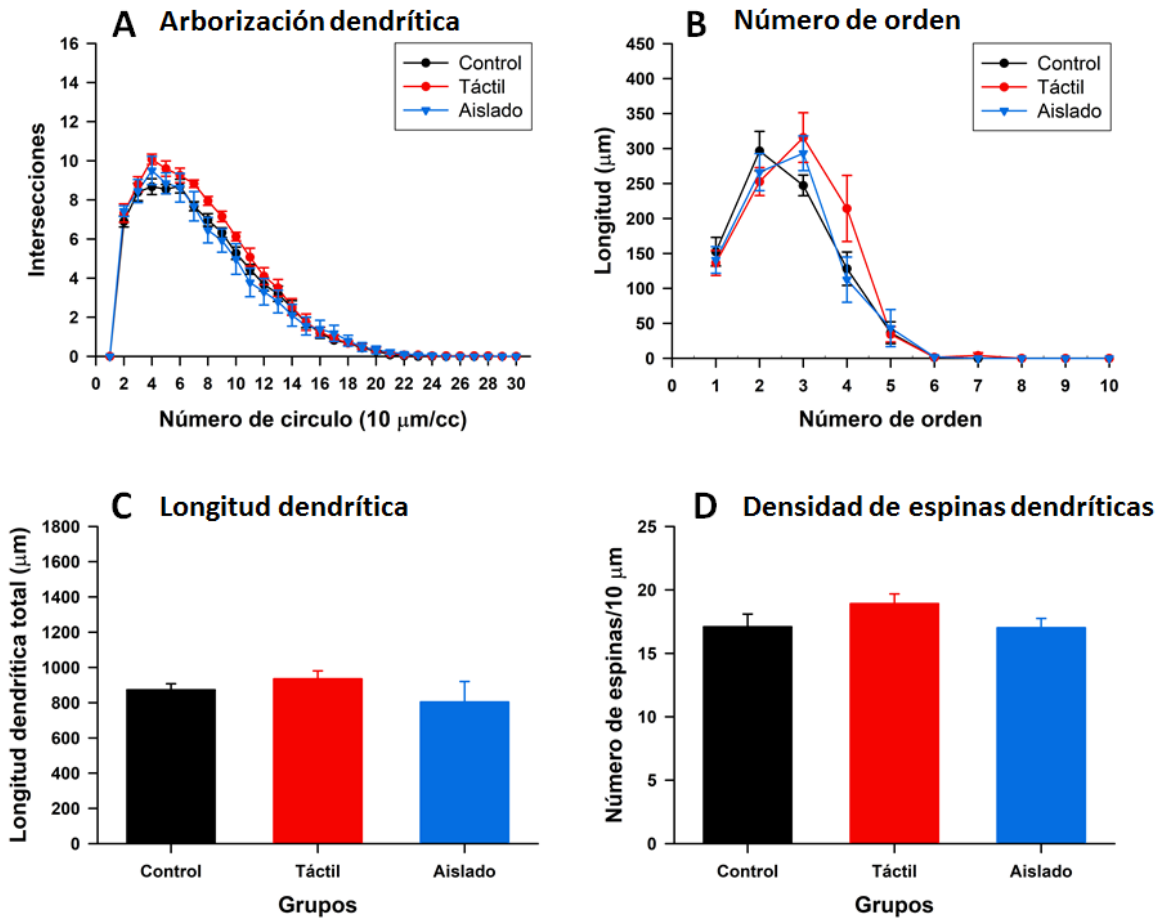


Figura 18. Análisis morfológico de las neuronas del núcleo accumbens. La crianza artificial con o sin estímulo táctil no mostraron diferencias significativas respecto al grupo control en A) la arborización dendrítica, B) el número de orden y C) la longitud dendrítica total. Por otro lado, la crianza artificial con o sin estímulos táctiles respecto al grupo no mostró diferencias significativas.

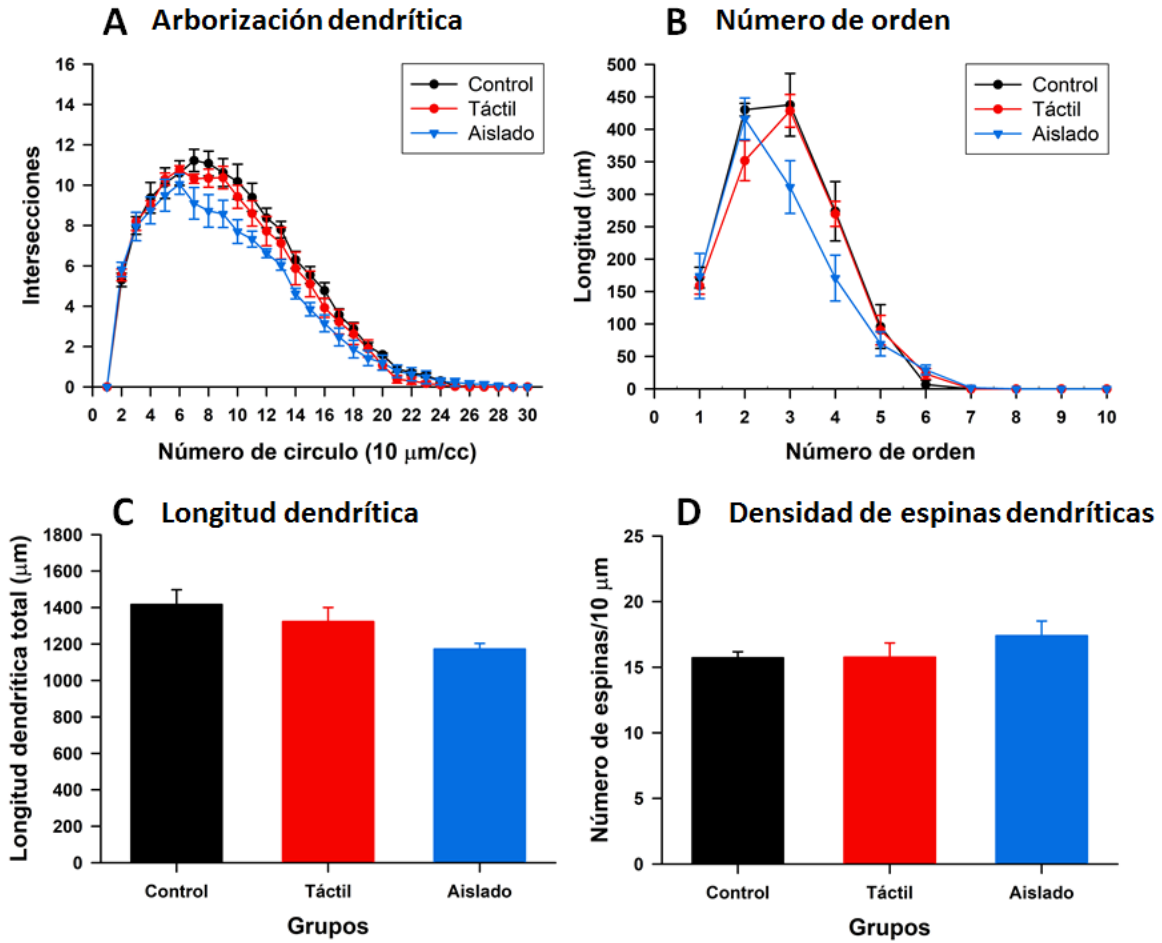


Figura 19. Análisis morfológico de las neuronas de la amígdala basolateral. La crianza artificial con o sin estímulo táctil no mostraron diferencias significativas respecto al grupo control en A) la arborización dendrítica, B) el número de orden y C) la longitud dendrítica total. Por otro lado, D) la crianza artificial con o sin estímulos táctiles respecto al grupo no mostro diferencias significativas.

7.2 EFECTOS DE LA CRIANZA ARTIFICIAL A LOS 90 DÍAS POSTNATALES

Los animales sometidos a la crianza artificial con o sin estímulo táctil analizados a los 90 días postnatales no mostraron diferencias significativas en las neuronas del hipocampo dorsal respecto al grupo control y al grupo aislado en la arborización dendrítica (Figura 20A), el número de orden (Figura 20B) y la longitud dendrítica total (Figura 20C).

La crianza artificial con estimulación táctil produjo un aumento significativo en la arborización dendrítica del número de círculo 10 al 25 en el hipocampo ventral respecto al grupo control y el grupo aislado con un aumento máximo de hasta el 317% (1 ± 0.29 número de círculo, ANOVA, $F_{23}=5.5$, $*P<0.05$, seguido de la prueba Tukey, $*P<0.05$, Figura 21A). La crianza artificial con estimulación táctil produjo un aumento significativo respecto al grupo aislado en el número de orden 2 al 4 con un aumento máximo de hasta el 50% (417 ± 37 número de círculo, ANOVA, $F_{23}=4.28$, $*P<0.05$, seguido de la prueba Tukey, $*P<0.05$, Figura 21B). La crianza artificial con estimulación táctil produjo un aumento significativo de hasta el 32% (1676 ± 110 longitud dendrítica, ANOVA, $F_{23}=7$, $*P<0.05$, seguido de la prueba Tukey, $*P<0.05$) respecto al grupo control y el grupo aislado (Figura 21C).

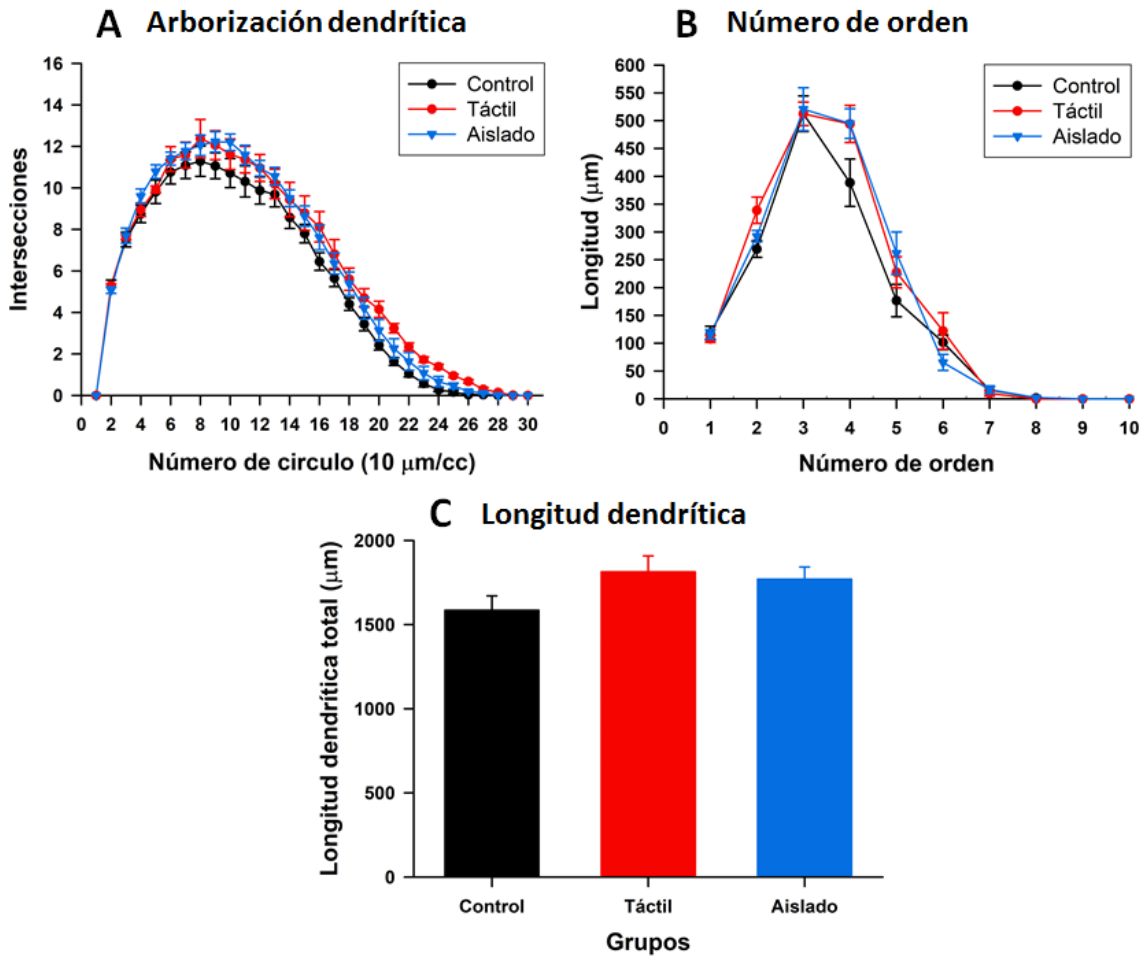


Figura 20. Análisis morfológico de las neuronas del hipocampo dorsal. La crianza artificial con o sin estímulo táctil no mostraron diferencias significativas respecto al grupo control en A) la arborización dendrítica, B) el número de orden y C) la longitud dendrítica total.

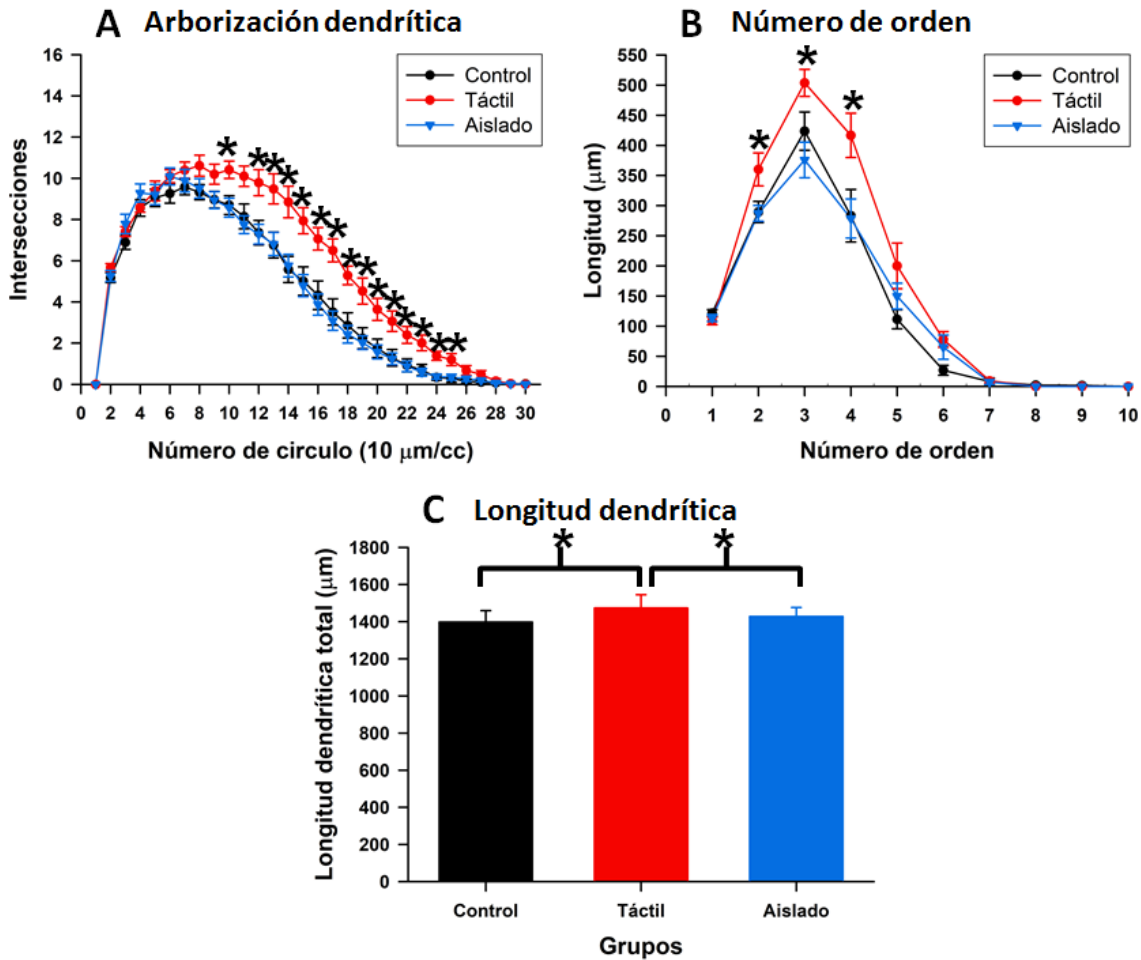


Figura 21. Análisis morfológico de las neuronas del hipocampo ventral. La crianza artificial con estimulación táctil produjo un aumento significativo respecto al grupo control y el grupo aislado en A) la arborización dendrítica en el número de círculo del 10 al 25 con un aumento máximo de 317% (1 ± 0.29 número de círculo, ANOVA, $F_{23}=5.5$, $*P<0.05$, seguido de la prueba Tukey, $*P<0.05$). B) La crianza artificial con estimulación táctil produjo un aumento significativo respecto al grupo aislado en el número de orden 2 al 4 con un aumento máximo de 50% (417 ± 37 número de círculo, ANOVA, $F_{23}=4.28$, $*P<0.05$, seguido de la prueba Tukey, $*P<0.05$). C) La crianza artificial con estimulación táctil produjo un aumento significativo de 32% (1676 ± 110 longitud dendrítica, ANOVA, $F_{23}=7$, $*P<0.05$, seguido de la prueba Tukey, $*P<0.05$) respecto al grupo control y el grupo aislado.

Las ratas sometidas a crianza artificial con o sin estímulo táctil no mostraron diferencias significativas en las neuronas del núcleo accumbens respecto al grupo control en la arborización dendrítica (Figura 21A) el número de orden (Figura 21B) y la longitud dendrítica total (figura 21C).

La crianza artificial con o sin estímulo táctil no mostraron diferencias significativas en las neuronas de la amígdala basolateral respecto al grupo control, siendo semejantes en la arborización dendrítica (Figura 22A), el número de orden (Figura 22B) y la longitud dendrítica total (Figura 22C).

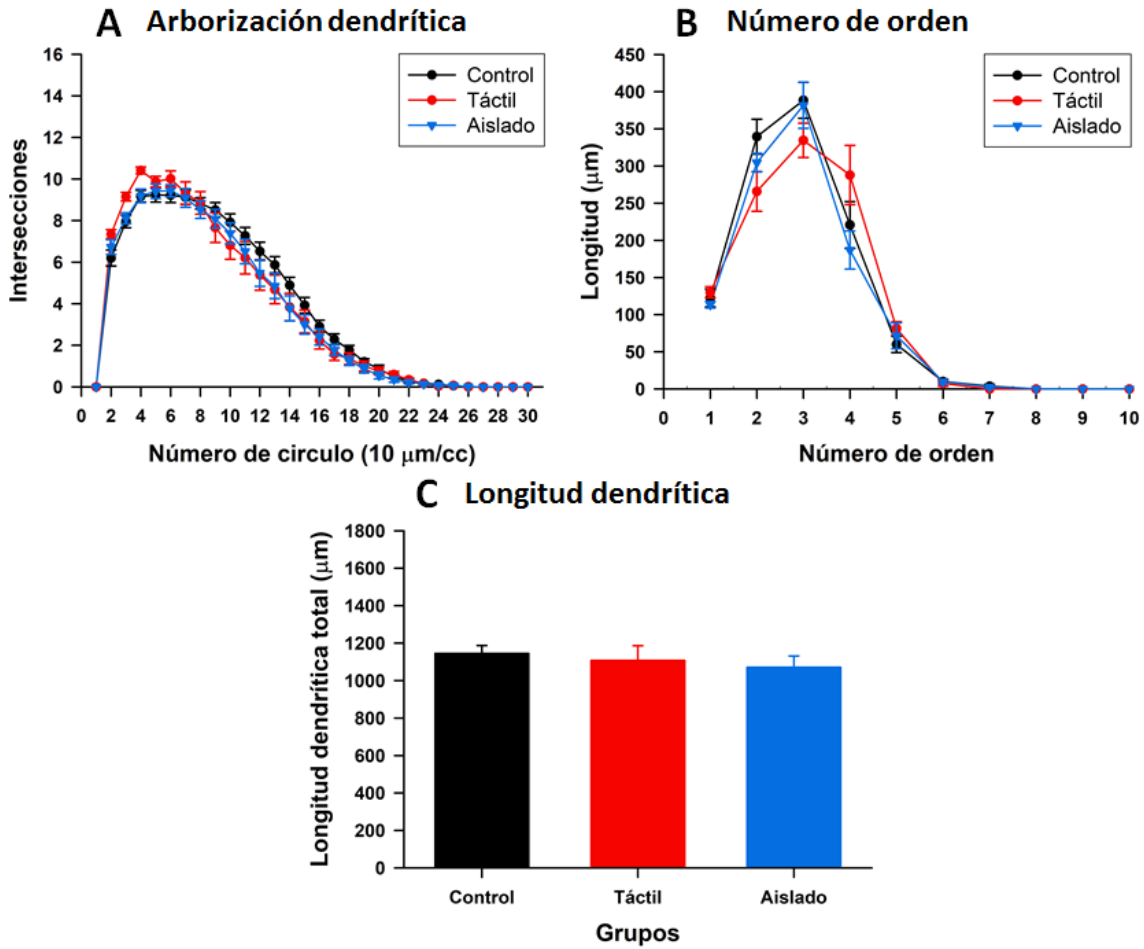


Figura 21. Análisis morfológico de las neuronas del núcleo accumbens. La crianza artificial con o sin estímulo táctil no mostraron diferencias significativas respecto al grupo control en A) la arborización dendrítica, B) el número de orden y C) la longitud dendrítica total.

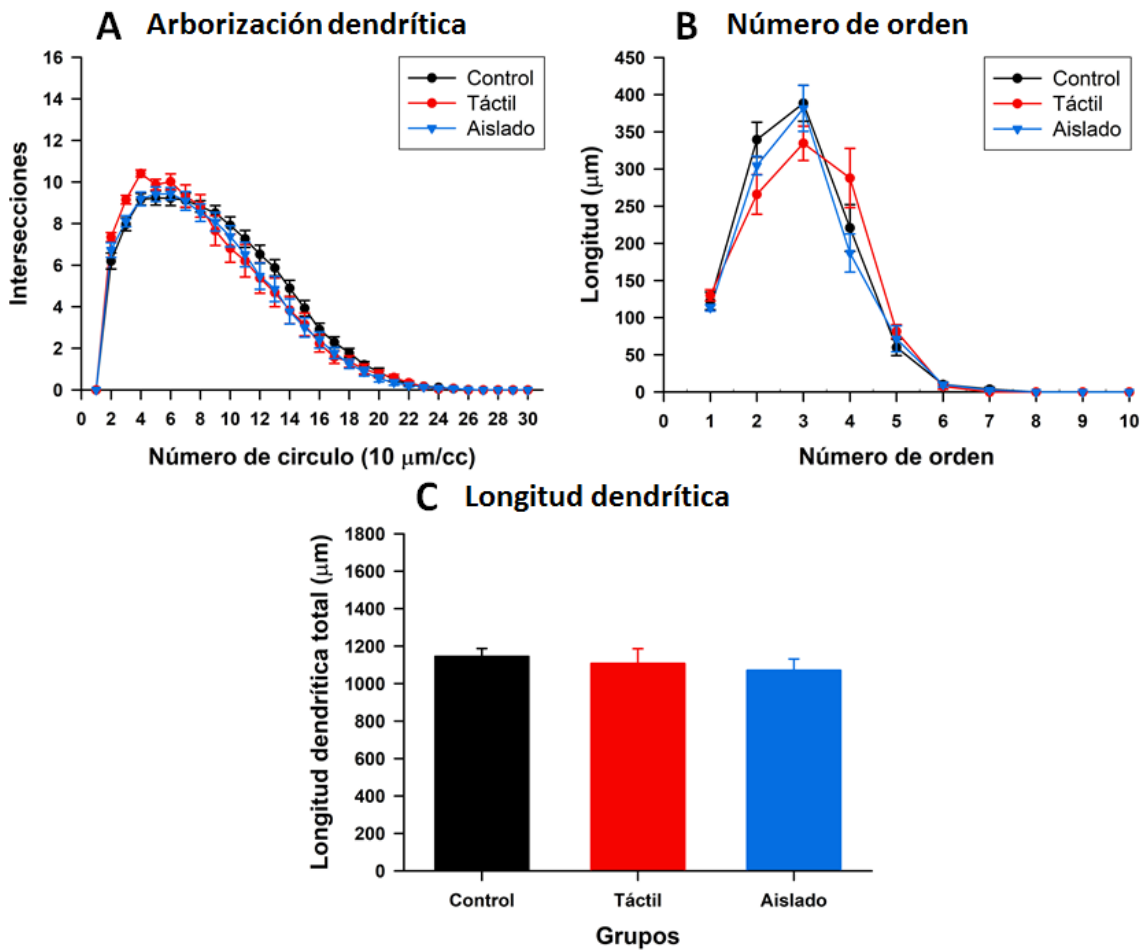


Figura 22. Análisis morfológico de las neuronas de la amígdala basolateral. La crianza artificial con o sin estímulo táctil no mostraron diferencias significativas respecto al grupo control en A) la arborización dendrítica, B) el número de orden y C) la longitud dendrítica total.

7.3 RESUMEN DE RESULTADOS

Tabla 3. Resumen de resultados.

Análisis de Sholl y densidad de espinas dendríticas	Experimento No 1 (21 dpn)												Experimento No 2 (90 dpn)														
	Hipocampo dorsal			Hipocampo ventral			Núcleo accumbens			Amígdala basolateral			Hipocampo dorsal			Hipocampo ventral			Núcleo accumbens			Amígdala basolateral					
	C	T	A	C	T	A	C	T	A	C	T	A	C	T	A	C	T	A	C	T	A	C	T	A			
Arborización dendrítica	=	=	=	=	↑	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	↑	=	=	=	=	=	=	=
Número de orden	=	=	=	=	↑	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	↑	=	=	=	=	=	=	=
Longitud dendrítica total	=	=	=	=	↑	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	↑	=	=	=	=	=	=	=
Densidad de espinas dendríticas	=	↓	↓	=	↓	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

=: No hubo diferencias, ↑: Aumento, ↓: Disminución, C: Control, T: Táctil, A: Aislado, X: No se realizó

8. DISCUSIÓN

8.1 EFECTOS DE LA CRIANZA ARTIFICIAL A LOS 21 DÍAS POSTNATALES

Las alteraciones en el cuidado materno han sido asociadas con el estado de ánimo (Champagne, 2008). Sin embargo, la neurobiología de la falta del cuidado maternal no se entiende completamente. La presente investigación fue diseñada para determinar si la estimulación táctil corporal simula el lamido de la madre en los machos sometidos al aislamiento socio-materno postnatal de ratas durante 21 días postnatales. La estimulación táctil fue suficiente para revertir los efectos en las neuronas del hipocampo ventral, dorsal, en el núcleo accumbens y en la amígdala basolateral (revisar Tabla 3, del experimento No 1).

En nuestros resultados morfológicos del hipocampo dorsal los parámetros analizados fueron: la arborización dendrítica, el número de orden y la longitud dendrítica se obtuvo que no se establecieron cambios significativos en los grupos táctiles y aislados en comparación con el grupo control.

Por los resultados experimentales se sabe que el cuidado de los padres tiene una función importante, por ejemplo, en el aumento en la conducta de lamer-acicalar en la primera semana de vida, la cual se relaciona con el aumento de la sobrevivencia de las neuronas hipocampales, la sinaptogénesis y la mejora del rendimiento cognitivo bajo condiciones estresantes (Liu y cols. 2000). Estos hallazgos sugieren que existe una amplia influencia de la conducta materna sobre la expresión de genes en el hipocampo (Liu y cols. 2000). Además, se conoce que la adición de estímulos sensoriales (con un pincel de pelos de camello), o un ambiente social, cuando se colocan dos o más crías de la misma edad dentro de los recipientes de aislamiento, previenen parcialmente algunos de los efectos negativos de la separación materna total.

El reemplazo de los estímulos táctiles es capaz de prevenir parcialmente muchos de los efectos negativos de la crianza artificial sobre la conducta materna (González y Fleming, 2002; González y Cols., 2001; Lovic y Fleming, 2004; Novakov y Fleming, 2005); la conducta sexual (Akbari y Cols., 2010; Lenz y Cols., 2008) entre otros comportamientos sociales (Melo y Cols., 2006; 2009). Los análisis morfométricos de los cerebros de las crías que fueron aislados revelan que existe una reducción en la poda neuronal y en la apoptosis; es importante destacar que estos efectos son parcialmente revertidos tras la estimulación táctil de reemplazo con un pincel de cerdas finas (Chatterjee y Cols., 2007). Estos datos contribuirán a dilucidar qué está

pasando con las neuronas del hipocampo dorsal después de la crianza artificial y derivados de la estimulación temprana en el nido materno.

Con respecto de los datos obtenidos en la densidad dendrítica en el hipocampo dorsal se obtuvo que en los grupos táctiles y aislados existe una disminución de las espinas dendríticas, la crianza artificial reduce la complejidad de las dendritas neuronales que además de que se observa normalmente con la experiencia materna en la edad adulta (Shams y Cols., 2012). Adicionalmente, se sabe que el crecimiento dendrítico y la densidad de espinas está relacionado con el grado de conectividad y con la actividad aferente (McAllister 2000), lo que implica que las manipulaciones durante la lactancia son capaces de producir cambios plásticos en las dendritas, y estas son sensibles a manipulaciones medio ambientales como son la estimulación táctil o derivado de la convivencia con hermanos. De manera relevante los cambios morfológicos en el circuito límbico descritos en esta tesis, las cuales podrían relacionarse con cambios en conductas emocionalmente relevantes como el juego, la agresividad entre otras (Melo, 2015).

En los resultados obtenidos en el hipocampo ventral en los parámetros morfológicos medidos: arborización dendrítica, el grupo táctil fue mayor en el grupo táctil con respecto al grupo control; así como en el número de orden de las dendritas en el grupo táctil se obtuvo un aumento significativo en el número de orden 3 con respecto al grupo control, en la longitud dendrítica se obtuvo un aumento en este parámetro en el grupo táctil. Se ha mostrado en las ratas aisladas menores niveles de marcadores de proteínas de neuroplasticidad, incluyendo las de integridad sináptica, las relaciones con la comunicación célula-célula y las que guía la trayectoria axonal, y así como en la actividad factores neurotróficos (Burton y Cols., 2007; Chatterjee y

Cols., 2007). Por lo tanto, los cerebros de ratas aisladas parecen contener más neuronas y células de soporte, pero menos de ellas son funcionales en comparación con las ratas control. Estos efectos están probablemente relacionados con la reducida poda neuronal y con cambios en la apoptosis reportada en crías de rata aisladas (Chakraborty y Chatterjee., 2010; Chatterjee y Cols., 2007). Es importante mencionar que los efectos son regionalmente específicos en la formación hipocampal, ya que no se obtuvieron cambios en la región ventral la cual puede tener implicaciones en la memoria espacial o en el sistema de navegación, un factor que deberá ser analizado en el futuro.

En la densidad de espinas dendríticas el grupo táctil y aislado se obtuvo una disminución significativa con respecto del grupo control, esto se basa en que la densidad de la espinas se duplica entre el día postnatal 15 y hasta la edad adulta como se ha reportado en humanos, y en otros mamíferos; respecto a las espinas dendríticas comienzan a aumentar en su primer semana después del nacimiento y alcanzan un pico en la tercera semana postnatales, (White y Cols., 1997; Harris, 1999; Nimchinsky y Cols., 2002). Por otra parte, existe evidencia de una poda posterior de las espinas antes de alcanzar la densidad de las espinas maduras, la cual ocurre varios meses después del nacimiento (Wise y Cols., 1979), muchas condiciones medio ambientales pueden llevar al decremento de la densidad de espinas dendríticas. Se han demostrado cambios cualitativos y cuantitativos en la arborización y en la densidad de espinas dendríticas en varias regiones del cerebro como el hipocampo, en animales después de un cambio en su ambiente, ya sea que se haya enriquecido o por disminución de algunos o varios factores (Silva-Gómez y cols; 2003).

Por otro lado, las neuronas espinosas medianas del núcleo accumbens, poseen campos dendríticos con entradas hipocámpicas, amigdalinas, así como y prefrontocorticales. Las aferencias de entradas hipocámpicas y amigdalinas se sitúan en los tallos proximales dendríticos (Fernández-Espejo, 2000). Cambios en el número de espinas dendríticas y de la arborización dendrítica de las aferencias dendríticas podrían contribuir a modificar las funciones de la dopamina mesolímbica.

La superficie dendrítica distal de las neuronas espinosas medianas del núcleo accumbens es el sitio de convergencia de las aferentes dopaminérgicas del área ventral tegmental (Flores y cols; 2005), y aquella medida por aminoácidos aferentes excitatorios de la corteza prefrontal, el hipocampo y la amígdala (Freund y cols; 1984). Los aminoácidos excitatorios, generalmente el glutamato, provenientes de la corteza prefrontal y del hipocampo hacen contacto neuronal asimétrico con la cabeza de las espinas y regula las funciones de las neuronas espinosas medianas del núcleo accumbens (Flores y cols; 2001; Flores y cols; 2005).

En estudios recientes se ha mostrado que los animales con separación materna presentan disminuciones en el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF por sus siglas en inglés) en el hipocampo sin cambios en la corteza prefrontal y en el núcleo accumbens (Lippmann y cols, 2007). Lo antes mencionado podría ayudar a dilucidar del por qué en nuestros resultados en el núcleo accumbens no se encontraron diferencias morfológicas, ni en la densidad de las espinas dendríticas

entre los grupos de experimentación lo que implica un menor efecto en la vía mesolímbica (Lippmann y cols, 2009).

Con respecto de la amígdala basolateral los resultados muestran que el aislamiento produjo una disminución en los parámetros morfológicos evaluados como son: la arborización dendrítica, el número de orden y en la longitud dendrítica, en las ratas que fueron aisladas mediante el sistema de crianza artificial. Esto podría explicarse debido a que cuando un sujeto o un animal se someten a un estímulo emotivo, la amígdala participa en la integración emocional y en las respuestas autonómica consecuente, (Numan e Insel; 2003; Numan y cols; 2006). Adicionalmente, se ha obtenido resultados en estudios donde se compara ratas criadas por sus madres respecto de aquellas criadas artificialmente, en la que se midieron las concentraciones y distribuciones de proteínas cerebrales que están involucradas en el normal desarrollo del cerebro, como son el factor neurotrófico derivado del cerebro, las moléculas de adhesión celular, la proteína 43 asociada al crecimiento (Chatterjee y cols; 2007).

Se ha reportado también una disminución en la amígdala basolateral de la sinaptofisina (Chatterjee y cols; 2007) que es una proteína que mantiene la integridad de la sinapsis (Masliah y col; 1991; Thiel; 1993); respecto a las moléculas de adhesión celular y la proteína 43 asociada al crecimiento son proteínas expresada principalmente a una edad temprana, durante el periodo de elongación axonal y dendrítica (Benowitz y Routtenberg, 1997), y en animales de 85 días postnatales se ha reportado una disminución del BDNF (Chatterjee y cols; 2007). El cual juega un papel en el mantenimiento de las funciones sinápticas y en

la plasticidad de varios circuitos neuronales en animales adultos (Thoenen, 1995; Jankowsky y Patterson, 1999; Yamada y cols., 2002; Marini y cols., 2004).

En el caso de la densidad de las espinas dendríticas no se obtuvieron diferencias entre los grupos, como habíamos mencionado anteriormente se sabe que el crecimiento dendrítico y la densidad de espinas está relacionado con el grado de conectividad y con la magnitud de la actividad aferente (McAllister 2000). Las neurotrofinas son expresadas en casi todas las poblaciones neuronales, tanto en el sistema nervioso central, como el sistema nervioso periférico y sus efectos pueden ser neuro-específicos, de tal forma que las neuronas en cada capa cortical responden a subpoblaciones de neurotrofinas con distintos efectos sobre las dendritas basales o las apicales (McAllister y cols, 1995).

En conclusión, la crianza artificial indujo cambios en varias regiones del encéfalo al destete. Estos efectos pueden ser parcialmente prevenidos al brindar estimulación adicional a las crías ya sea mediante un pincel fino o al poder convivir con sus hermanos de camada. Lo anterior mencionado muestra el rol que juega el cuidado materno en la neurogénesis en la organización de los circuitos nerviosos y en la integración de conductas específicas.

Esto es relevante porque dichos cambios tienen un impacto en la edad adulta en despliegue conductuales tan importantes como el apego, la conducta sexual o la agresividad (Melo, 2015).

8.2 EFECTOS DE LA CRIANZA ARTIFICIAL A LOS 90 DÍAS POSTNATALES

El objetivo de estos experimentos fue el de analizar las consecuencias de ratas que fueron sometidas a separación materna a través del sistema de crianza artificial y en aquellos que se les agrego estímulo táctil, desde el tercer día del nacimiento hasta el día 21 postnatal. Se midió el impacto sobre la morfología dendrítica del hipocampo dorsal y ventral, núcleo accumbens y amígdala basolateral en ratas adultas a los 90 días de edad.

Las dendritas basales de las neuronas piramidales del hipocampo dorsal de animales con separación materna no mostraron cambios morfológicos en la arborización dendrítica. Sin embargo, se obtuvo un aumento significativo en el número de orden en el grupo táctil y en animales aislados con respecto al grupo control, no se obtuvieron cambios en la longitud dendrítica total entre las crías criadas en el sistema de crianza artificial y aquellas a las que se les agrego una estimulación táctil, con respecto al grupo control, tampoco obtuvieron un decremento en la densidad de las espinas dendríticas.

En tanto que las dendritas basales de las neuronas piramidales del hipocampo ventral en los mismos animales, no mostraron un decremento en la longitud, en la arborización y en el número de orden de las dendritas en las ratas que fueron criadas en el sistema de crianza artificial para el caso del hipocampo dorsal. Mientras que los efectos de la estimulación táctil se mantuvieron desde el día 21 días postnatales. Estos resultados pueden ser debidos a que la calidad del cuidado materno no tuvo un efecto en el volumen hipocampal de la progeñie y en la densidad neuronal durante los días 8 o 9 postnatales.

Una administración subcutánea de corticosterona por vía intradérmica en los días 1-4 postnatales produce un decremento en la proliferación de las células granulares y se observa en el volumen hipocampal hasta 7 días después, sin embargo, éste efecto parece desvanecerse con la edad de los animales. Estos datos son indicativos de que existen mecanismos de compensación en las ratas adultas que fueron expuestas a 180 min de separación materna, las cuales pueden compensarse con el estrés probablemente debido a la activación del eje hipotálamo pituitaria adrenal y a la consecuente liberación de glucocorticoides. Esta compensación puede incrementar el número de nuevos contactos sinápticos comparable con los de las ratas sin separación materna (Greisen y cols; 2005). Cuando se someten a las crías a separación materna repetida durante los primeros catorce días de vida, se ha reportado una disminución en la longitud dendrítica total de la región CA1 del hipocampo, éste efecto permanece hasta los 60 días de vida lo que soporta efectos diferenciales en distintas estructuras cerebrales dependientemente del entorno (Monroy; 2008), de hecho, en nuestro estudio mostraron que existe diferencias entre las estructuras en las dos edades estudiadas juvenil y adulta.

Además se ha obtenido evidencia que la separación materna, antes del periodo de baja respuesta al estrés, (del día uno al tres postnatales), la activación del hipotálamo-pituitaria-adrenal, reduce significativamente la densidad de espinas dendríticas a nivel de las neuronas piramidales de la tercera capa de la corteza media prefrontal (Monroy; 2008), mientras que la separación materna durante este periodo no provoca cambios en la morfología dendrítica (Bock y cols; 2005), lo que

sugiere que existe una ventana temporal muy definida en la cual las modificaciones pueden ser o no observadas.

Por otro lado, obtenidos que en el núcleo accumbens y en la amígdala basolateral no se tuvieron diferencias significativas de los parámetros morfológicos evaluados: como arborización dendrítica, el número de orden y longitud dendrítica total. Todos cambios morfológicos que se obtuvieron en animales de 90 días postnatales podría deberse a la separación materna, lo cual interfiere con la maduración de las funciones endocrinas y conductuales en roedores y se ha reportado también en primates, incluido el hombre (Pryce y Feldon 2003).

El cuidado de los padres tiene una función importante en el desarrollo cognitivo y emocional de la progenie. Varios estudios sugieren que la estimulación táctil provista por la madre durante la primera semana de vida está asociada con cambios a largo plazo en la conducta (Kaffman y Meaney 2007). Por otro lado, las crías son capaz de detectar la separación materna y comenzar una respuesta adaptativa por la ausencia de la madre. Las respuestas fisiológicas de la cría asociadas con la separación materna incluyen vocalizaciones ultrasónicas, intentar trasladarse al nido y liberación de hormonas de estrés (Kuhn y Schanberg 1998). Además, que la pérdida del cuidado maternal causa que en la cría inicialmente se inhiba la secreción de la hormona de crecimiento (Kuhn y Schanberg, 1998; Levine, 2000). Reportes recientes han demostrado que los animales con separación materna presentan disminuciones en el factor neurotrófico derivado del cerebro en el hipocampo, sin cambios en la corteza prefrontal y en el núcleo accumbens (Lippmann y cols, 2007).

Sin embargo, en otros estudios se ha encontrado que aumenta o que no hay cambios en el factor neurotrófico del cerebro en ratas adultas sometidas a separación materna (Greisen y cols, 2005). Otra neurotrofina, el factor de crecimiento neuronal también se altera en ratas sometidas a separación materna (Faure y cols, 2005). En general las neurotrofinas son expresadas en casi todas las poblaciones neuronales en el sistema nervioso central y en el sistema nervioso periférico y sus efectos pueden ser neuro-específicos, y las neuronas en cada capa cortical responden a subpoblaciones de neurotrofinas con distintos efectos sobre las dendritas basales o apicales dependiendo de la capa celular donde se encuentren e inclusive de los circuitos neuronales analizados (McAllister y cols, 1995).

En resumen, los datos disponibles revelan que la separación materna induce cambios neuro-anatómicos en el hipocampo dorsal y ventral, el núcleo accumbens y en la amígdala basolateral (ver Tabla 3). Estos datos también brindan nueva información para nuestra comprensión de los comportamientos perturbados observados en animales separados de su madre, y en niños que han estado expuestos a privación materna y que han convivido en orfanatos con cuidadores deficientes como lo sucedido en Rumania durante el mandato de Nicolás Ceausescu (Lydia Denworth; 2015).

La presente investigación fue diseñada para determinar si la estimulación táctil corporal que simule el lamido de la madre en los machos sometidos al aislamiento socio-materno postnatal rata durante 21 y 90 días es suficiente para revertir los

efectos en las ratas aisladas en neuronas piramidales del hipocampo ventral y dorsal.

En nuestros resultados morfológicos del hipocampo dorsal (ver Tabla 3) de los parámetros analizados: la arborización dendrítica, número de orden y la longitud dendrítica no hubo disminución en los grupos táctiles y aislados en comparación con el grupo control.

Además la adición de estímulos sensoriales, con un pincel de pelos de camello, o en los animales sociales, a los cuales se les agrego una o dos crías de la misma edad dentro de los recipientes de aislamiento) durante la fase del aislamiento, previenen parcialmente algunos de los efectos negativos de la separación materna total, el reemplazo de estimulación táctil se ha demostrado puede prevenir parcialmente muchos de los efectos de la crianza artificial (González y Fleming, 2002;González y Cols., 2001;Lovic y Fleming, 2004; Novakov y Fleming,2005), el comportamiento sexual (Akbari y Cols., 2010; Lenz y Cols., 2008) así como en otros comportamientos sociales (Melo y Cols., 2006, 2009).

Por otra parte, también se observado que la a estimulación táctil induce cambios en la función tiroidea y en la actividad del sistema serotoninérgico cerebral en el período posparto, además de que está involucrada en cambios plásticos en el hipocampo a largo plazo (Kenny y Cols., 2013). Los análisis de los cerebros de las crías de crianza artificial revelan que la poda neuronal y la apoptosis no suceden, lo que produce reverberancia en el circuito del hipocampo (Chatterjee y Cols., 2007). Es importante destacar que estos efectos son parcialmente impedidos por la estimulación táctil de reemplazo (Chatterjee y Cols., 2007).

Con respecto de los datos obtenidos en la densidad dendrítica se obtuvo que en los grupos táctiles y aislados existe una disminución de las espinas dendríticas esto es, la crianza artificial reduce la complejidad de las dendritas neuronales que se observa normalmente cuando existe experiencia materna (Shams y Cols., 2012). Adicionalmente la pérdida de espinas puede ser debido a la pérdida de los axones que hacen sinapsis (John y Cols., 2002). Estos cambios pueden también afectar a la cantidad, funcionabilidad o disminución de células gliales incluyendo los oligodendrocitos lo que a su vez puede afectar la velocidad de conducción y de la sincronización de circuitos neuronales (Zempolteca y cols; 2018)

Respecto de los resultados obtenidos en el hipocampo ventral respecto de la arborización dendrítica, fue significativamente mayor ya que se obtuvo un aumento en los puntos de intersección 11, 12 13 y 14 lo que implica un mayor número de contactos sinápticos y por ende de capacidad de integración neuronal de las neuronas piramidales de esta región del hipocampo con respecto al grupo control. Esto es relevante ya que el número de orden en el grupo táctil se obtuvo un aumento significativo en el número de orden 3 con respecto al grupo control, así como en la longitud dendrítica con un aumento en este parámetro para el grupo táctil. Las ratas criadas aisladas tienen menores niveles de marcadores de proteínas de neuroplasticidad y de funcionalidad sináptica, incluyendo aquellas que la integridad sinapsis, la comunicación célula-célula proteínas de movimiento intra-axonal, y la actividad de factores neurotróficos (Burton y Cols., 2007; Chatterjee y Cols., 2007). Por lo tanto, los cerebros de ratas aisladas parecen contener más neuronas y células de soporte, pero menos de estas son funcionales en comparación con las ratas control. Estos efectos entran probablemente

relacionados con la disminución de la poda neuronal y la de apoptosis observada en crías de ratas aisladas durante la lactancia (Chakraborty y Chatterjee., 2010; Chatterjee y Cols., 2007).

Respecto a la densidad de espinas dendríticas del hipocampo ventral del grupo táctil y aislado se obtuvo una disminución significativa con respecto al grupo control hallazgos similares se han descrito para el caso del estrato radial y del hipocampo (Harris y Jensen., 1992). Por otra parte, la densidad de las espinas dendríticas se duplica entre el día postnatal 15 y la edad adulta y las espinas dendríticas comienzan a aumentar en densidad en la primera semana después del nacimiento y llegan a la cima hacia la tercera semana de vida postnatal, (White y Cols., 1997; Harris, 1999; Nimchinsky y Cols., 2002). Existe evidencia que una poda posterior de las espinas antes de alcanzar la densidad de una espina madura que afecta su morfología y funcionalidad hasta inclinarse varios meses después del nacimiento (Wise y Cols., 1979). Lo que demuestra que el cuidado materno es capaz de ejercer efectos permanentes en la morfología y función en los circuitos del hipocampo.

Se ha mostrado que existe neurogénesis en las etapas postnatal y adulta (Fernández y col. 2015, Aimone y Cols., 2015). La generación de nuevas neuronas en el cerebro de los mamíferos. ocurre únicamente en dos regiones del cerebro en el bulbo olfativo y el giro dentado del hipocampo (Clemenson y Cols., 2015, Cameron y Glover., 2015) De hecho, esta renovación a nivel celular no es estática o meramente reparadora, en su lugar, la neurogénesis adulta constituye una respuesta de adaptación a los retos impuestos por el entorno de un animal, la

neurogénesis adulta en condiciones normales se limita probablemente a sólo dos regiones: la zona subgranular (SGZ) del giro dentado del hipocampo y la zona subventricular (SVZ) porque estas regiones poseen células madres pluri potenciales (De La Rosa y Cols., 2015). Los astrocitos en la SVZ de adultos, que las líneas de la frontera entre el cuerpo estriado y el ventrículo lateral, actúan como lenta la división de células madre neurales, capaces de generar una progenie de precursores de neuroblasto (Garcia y Cols., 2004). Estos neuroblastos avanzan hacia el bulbo olfatorio por un camino intrincado de la migración conocida como la corriente migratoria rostral (RMS) y se integran al circuito del bulbo olfatorio. Estas nuevas neuronas son importantes porque se producen después de la olfacción de sujetos sexualmente relevantes (Portillo; 2012, Paredes; 2010).

Lo anterior muestra que la influencia de la madre en las primeras etapas del desarrollo de las crías, como es el caso de las ratas e incluso en humanos tiene un efecto permanente en variables morfológicas, funcionales, endocrinas y conductuales (Melo, 2015). Esto es válido inclusive para variaciones entre poblacionales del despliegue maternal, el cual tienen impactos en cuanto a su despliegue de conductas en la vida adulta (Urgarte y cols., 2011), como se muestran en las ratas Flinders, alto Roman y bajo Roman o en el caso de las ratas de alto o bajo lamido (Maney y Champagne., 2010).

Lo anterior es relevante ya que implica que el cuidado materno que reciben las crías durante el periodo postnatal temprano, esto es entre el nacimiento y el destete a los 21 días postnatales es fundamental para un buen desarrollo óptimo (González – Mariscal y Melo, 2017)

También sea considerado lo anterior para el desarrollado de paradigmas experimentales para incrementar el cuidado materno, medido a través de la cantidad de lamido ano-genital, y esto se puede lograr reduciendo el tamaño de la camada o bien por la separación de las crías diariamente por un periodo corto de tiempo 15 min (Leigh y Hoster, 1973; Lee Williams, 1974; Melo, 2015). Lo opuesto es el decremento del cuidado materno y esto se logra al incrementar el tamaño de la camada, bulbotomía o inducida por sulfato de zinc intranasal en la madre o bien por la crianza artificial de las crías (Urgarte y cols., 2011).

La crianza artificial ofrece ventajas por que se controlan todas las variables, no es costosa y se tienen evidencia experimental sólida que la respalda (Melo, 2015).

Los resultados experimentales de este trabajo de tesis muestran que la crianza artificial produjo cambios selectivos en la morfología dendrítica en el circuito límbico (no se observan efectos en el hipocampo dorsal, pero si en el ventral en ambas edades de experimentación a los 21 y 90 días postnatales. En la amígdala basolateral y así como en el núcleo accumbens tampoco se obtuvieron diferencias entre los grupos de experimentación en los animales de 21 postnatales.

Los cambios morfológicos antes descritos son dependientes de la edad y pueden correlacionarse con los hallazgos en humanos que han crecido en orfanatos privados de un cuidado maternal adecuado (Charles y cols, 2013) de entre ellos destacan los estudios que se han realizado en los niños rumanos en época de Nicole Ceausescu los cuales muestran déficit en su contacto social, impulsividad agresividad entre otras alteraciones (Alisa y cols; 2012).

Entonces al modelo de separación materna total es adecuado para evaluar el efecto de la privación del cuidado materno sin deterioro nutricional y por lo tanto nos permite evaluar el posible rol de las fibras táctiles tipo C que tienen un valor más bien social como el que se produce al abrazar a una persona (Lydia Denworth , 2015), la tersa estimulación que se logó con el pincel con cerdas finas de camello fue muy adecuado para prevenir, aunque sea parcialmente, algunos de los efectos de la crianza artificial sugiriendo un rol fundamental de la estimulación táctil C específica en las primeras etapas del desarrollo experimental. A futuro permitirán evaluar los cambios morfológicos en otras áreas cerebrales.

Experimentos preliminares del Dr. Angel I. Melo muestran cambios significativos en la morfología de las neuronas de la corteza somatoma-sensorial primaria 1, 2, 3 y 4 de Brodmann. Sin duda estos hallazgos son prueba fehaciente del impacto que tiene la interacción madre- crías y entre hermanos en el nido maternal.

En conclusión, la crianza artificial nos permitió determinar su impacto sobre distintas estructuras cerebrales en un corto plazo (ratas pre-púberes de 21 días postnatales) y en las adultas (90 días postnatales). Los estímulos sociales simulados por el pincel o la convivencia entre hermanos son factores que pudieran prevenir, al menos parcialmente, los efectos de la migración materna. A futuro nos permitirá dilucidar que otras estructuras cerebrales pueden ser influenciadas por esta maniobra. Nuestros hallazgos son relevantes para aquellos infantes que son privados de sus madres por distintas circunstancias, deberán recibir estimulaciones adicionales para favorecer un desarrollo armónico durante el neurodesarrollo.

9. CONCLUSIONES

1. La crianza artificial afectó de manera diferencial a las distintas regiones de la asta de Amón del hipocampo
2. La estimulación táctil es capaz de prevenir, al menos en parte los efectos de la crianza artificial.
3. La separación materna disminuye la mayoría de los parámetros morfológicos en las neuronas de la amígdala basolateral a los 21 días postnatales
4. Los efectos de la estimulación táctil perduran hasta la etapa adulta
5. El lamido corporal o la estimulación táctil influyen en el neurodesarrollo en ratas aisladas o que han sido criadas artificialmente.

10. PERSPECTIVAS

1. Evaluar los cambios morfológicos en áreas como la corteza prefrontal, que están implicada en los desórdenes conductuales que produce la separación materna como lo es la ansiedad y la agresividad.
2. Determinar la morfología de las espinas dendríticas de acuerdo a sus características morfológicas: en forma de hongo, filiforme etc.
3. Realizar una cuantificación de las proteínas cerebrales implicadas en el desarrollo neuronal.
4. Evaluar la morfología dendrítica de los grupos sociales

11. BIBLIOGRAFÍA

Ackerly R., Wasling H., Liljencratz J., Olausson H., Johnson R., Wessberg J. (2014). Human C-tactile afferents are tuned to the temperature of a skin-stroking caress. *Neuroscience*, 34: 2879-2883.

Afonso, V.M., King S.J., Novakov M., Burton C.L., Fleming A.S. (2011). Accumbal dopamine function in postpartum rats that were raised without their mothers. *Hormone Behavore*, 60: 632–643.

Akbari E.M., Budin R., Chatterjee D., Maheu M.E., Fleming A.S., (2010). Effects of early isolation on the experiential, hormonal and neural regulation of sexual behaviour in male Long–Evans rats. 14th Annual Meeting of the Society for Behavioral Neuroendocrinology, Toronto.

Akbari E.M., Chatterjee Diptendu, Fleming Alison S. (2007). Effects of early isolation on the experiential, hormonal and neural regulation of sexual behaviour in male Long–Evans rats 14th Annual Meeting of the Society for Behavioral Neuroendocrinology, Toronto.

Alberts J. (2007). Huddling by rat pups: ontogeny of individual and group behavior. *Development psychobiol*, 49: 22–32.

Alberts J., Gubernick D. (1983). Reciprocity and resource exchange. In: Rosenblum, L., Moltz, H. *Symbiosis in Parent Offspring Interactions*. Springer, 10: 7–44.

Allen, N.J. y Barres B.A. (2009), Glia more than just brain glue, *Nature*, 457: 675-677

Allmann Iselin (2000). *The handbook or experimental animal: the laboratory rat*. Academia Press, 4:46

Amaral D.G., Witter M.P., (1989). The three dimensional organization of the hippocampal formation. *Neuroscience*, 31: 571-91.

Auestad N., Korsak, R.A., Bergstrom, J.D., Edmond J., (1989). Milk-substitutes comparable to rat's milk; their preparation, composition and impact on development and metabolism in the artificially reared rat. *Nutrition*, 61: 495–518.

Bassareo V, Di Chiara G. (1997). Differential influence of associative and nonassociative learning mechanisms on the responsiveness of prefrontal and accumbal dopamine transmission to food stimuli in rats fedad libitum. *Neuroscience*, 17: 851-61.

Bautista A., Juárez M. (2005). Hermano, querido Hermano, la competición por la leche. *Ciencias* 77: 48-51.

Benowitz, L.I., Routtenberg A. (1997). GAP-43: an intrinsic determinant of neuronal development and plasticity. *Trends Neuroscience*, 20: 84–91.

Bergles D.E., Jabs R., Steinhäuser C. (2009). Neuron-glia synapses in the brain. *National Institute of Health*, 63: 130–137.

Blanpied T.A., Ehlers M.D. (2003). Microanatomy of Dendritic Spines: Emerging Principles of Synaptic Pathology in Psychiatric and Neurological Disease. *Cell Biology*, 56: 79-98

Bock J., Gruss M., Becker S., Braun K. (2005). Experience induced changes of dendritic spine densities in the prefrontal and sensory cortex: correlation with developmental time windows. *Cerebral Cortex*, 15: 802-808.

Bonne L. (2001). Longitudinal MRI study of hippocampal volume in trauma survivors with PTSD. *Psychiatry*, 158: 1248–1251.

Bruce J., Tarullo A.R., Gunnar M. (2009). Disinhibited social behavior among internationally adopted children. *Development. Psychopathology*, 21: 157–171.

Brummelte S., Schmidt K.L., Taves M.D., Soma K.K., Galea L.A. (2010) Elevated corticosterone levels in stomach milk, serum, and brain of male and female offspring after maternal corticosterone treatment in the rat. *Developmental neurobiology*, 70:714–725.

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

Burton, C., Lovic, V., Fleming, A.S. (2006). Early adversity alters attention and locomotion in adult Sprague–Dawley rats. *Behavioral Neuroscience*, 120: 665–675.

Buzsáki G, Moser E.I. (2013). Memory, navigation and theta rhythm in the hippocampal-entorhinal system. *Nature Neuroscience*, 16: 130–138.

Castro-Sierra. (2007). Neurotransmisores del sistema límbico. Hipocampo, gaba y memoria. Primera parte. *Salud mental*, 30: 7-15.

Champagne F.A., Meaney M.J. (2001). Like mother, like daughter: evidence for non-genomic transmission of parental behavior and stress responsivity. *Program Brain*, 133:287–302.

Chatterjee D, Chatterjee C.M., Rees S., Cauchi J., Fleming A. (2007). Maternal isolation alters the expression of neural proteins during development: stroking stimulation reverses these effects. *Brain Research*, 20: 11-27.

Chi-Bin Chien. (2005). Guidance of Axons and Dendrites, Department of Neurobiology and Anatomy, University of Utah, SOM, Salt Lake City, UT 84132.

Chung, S.H., Guo P., Jiang P., Pleasure D.E, Deng W. (2013), Olig2/Plp-positive progenitor cells give rise to Bergmann glia in the cerebellum. *Cell death* (en prensa).

Cirulli F., Berry A., Alleva E. (2003). Early disruption of the mother-infant relationship: effects on brain plasticity and implications for psychopathology. *Neuroscience Biobehavioral*, 27:73–82

Cole, J.D., Sedgwick E.M. (1992). The perceptions of movement in a man without large myelinated sensory afferents below the neck. *Journal Physiology*, 449: 503–515.

Conner S.D., Schmid S. L. (2002). Identification of an adaptor-associated kinase, AAK1, as a regulator of clathrin-mediated endocytosis. *Cell Biology*, 156: 921–929

Corona R., Paredes R.G. (2010). Increased number of new cells in the granule layer of the AOB after paced-mating behavior. *Hormone Behavior*, 156, 921–929

Costanzo Linda S. (2000). *Neurofisiología*. Linda S. Costanzo. *Fisiología*. McGraw – Hill, 1 ed: 65-69.

Craig A.D. (2002). How do you feel? Interoception: the sense of the physiological condition of the body. *Nature Neuroscience*, 3: 655–666.

Denworth Lydia. (2015). The social power of touch. *Scientific American Mind*, 18: 30-39

Diaz J., Moore E., Petracca F., Schacher J., Stamper C. (1981) Artificial rearing of preweanling rat: the effectiveness of direct intragastric feeding. *Physiology Behavior*, 27: 1103–1105.

Dominguez H., Thomas J. (2008). *Artificial rearing*. Humana Press, 66: 85–100.

Dringen, R., Gebhardt R., Hamprecht B. (1993). Glycogen in astrocytes: possible function as lactate supply for neighboring cells. *Brain Research*, 623: 208–214.

Drury S., Sánchez M., Gonzalez A. (2015). 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*, 623: 208–214.

Escartin C., Rouach N. (2013), Astroglial networking contributes to neuroenergetic coupling. *Neuroenergetics*, 19: 5- 4.

Everitt B.J., Robbins T.W. (2000). Second-order schedules of drug reinforcement in rats and monkeys: measurement of reinforcing efficacy and drug-seeking behaviour. *Psychopharmacology*, 153: 17– 30.

Exposito J.R., Martinez J.M. (1998). Estructura y funciones de la macroglía en el sistema nervioso central. Respuesta a procesos degenerativos. *Neurología*, 26: 600-611.

Fanselow M.S., Dong H. (2010). Are the Dorsal and Ventral Hippocampus Functionally Distinct Structures? *Cell press*, 20: 7-15.

Faure J., Uys J.D., Marais L., Stein D.J., Daniels W.M. (2006). Early maternal separation followed by later stressors leads to dysregulation of the HPA-axis and increases in hippocampal NGF and NT-3 levels in a rat model. *Metabolic Brain*, 21: 181-188.

Fernández-Espejo. (2000). ¿Cómo funciona el núcleo accumbens?. *Neurology*; 30: 845-849.

Fiala J.C., Spacek J., Harris K.M. (2002). Dendritic Spine Pathology: Cause or Consequence of Neurological Disorders? A Department of Biology Boston University, Cummington Street Boston MA 02215 USA.

Fiala, J. C., Feinberg M., Popov V., Harris K. M. (1998), "Synaptogenesis via dendritic filopodia in developing hippocampal area CA1". *Neuroscience*, 18: 8900-8911.

Fleming A.S., Rosenblatt J.S. (1974). Olfactory regulation of maternal behavior in rats. Effects of olfactory bulb removal in experienced and inexperienced lactating and cycling females. *Comparative and Physiological Psychology*, 86: 221-32.

Fleming A.S., Gavarrh K., Sarker J. (1992). Effects of transections to the vomeronasal nerves or to the main olfactory bulbs on the initiation and long-term retention of maternal behavior in primiparous rats. *Behavioral and Neural Biology*, 57: 177-188.

Fleming A.S., Kraemer G.W., Gonzalez A., Lovic V., Rees S., Melo A. (2002). Mothering begets mothering: the transmission of behavior and its neurobiology across generations. *Biochemical behavior*. 73: 61–75.

Fleming A.S., Rosenblatt, JS. (1974). Olfactory regulation of maternal behavior in rats. I. Effects of olfactory bulb removal in experienced and inexperienced lactating and cycling females. *Comparative and Physiological. Psychology*, 86: 221-32.

Flores G., Alquicer G., Silva-Gomez A.B., Zaldivar G., Stewart J., Quirino R., Srivastava L.K. (2005). Alterations in dendritic morphology of prefrontal cortical and nucleus accumbens neurons in post-pubertal rats after neonatal excitotoxic lesions of the ventral hippocampus. *Neuroscience*, 133: 463-470.

Floresco S.B., Seamans J.K. Phillips A.G. (1997). Selective roles for hippocampal, prefrontal cortical, and ventral striatal circuits in radial-arm maze tasks with or without a delay. *Neuroscience*, 17:1880-90.

Forget R., Lamarre Y. (1987). Rapidel bow flexion in the absence of proprio- ceptive and cutaneous feedback. *Humam neurobiology*, 6: 27–37.

Francis, D., Diorio, J., Liu, D. y Meaney, MJ. (1999). Nongenomic transmission across generations of maternal behavior and stress responses in the rat. *Science*, 286: 1155-1158.

Fregozo C.S., Vega I.P. (2012). Participación de las proteínas de unión a la actina y vías de senalización asociadas a la formación y mantenimiento de las espinas dendríticas. *Sociedad Española de Neurología*, 278: 0213-4853.

Freund T.F., Powell J.F., Smith A.D. (1984). Tyrosine hydroxylase-immunoreactive boutons in synaptic contact with identified striatonigral neurons, with particular reference to dendritic spines. *Neuroscience*, 13: 1189-1215.

García P.J., Domínguez C.J., Pereira B.E. (2012). Alteraciones de la sinaptogénesis en el autismo. Implicaciones etiopatogénicas y terapéuticas. *Neurology*, 54: 41-50.

Godbole, V.Y., Grundleger, M.L., Pasquine, T.A., Thenen, S.W., (1981). Composition of rat milk. *Developmental Psychobiology*, 38: 11-32.

Gonzalez A., Fleming A.S. (2002). Artificial rearing causes changes in maternal behavior and c-Fos expression in juvenile female rats. *Behavior neuroscience*, 11: 999–1013.

Gonzalez A., Lovic, V., Ward G.R., Wainwright P.E., Fleming A.S. (2001). Intergenerational effects of complete maternal deprivation and replacement stimulation on maternal behavior and emotionality in female rats. *Developmental Psychobiology*, 38: 11-32.

González M.G., Caba M., Hoffman K.L., Melo A.I. (2017). Parental Behavior. En: Pfaff, D.W and Joëls, M. (editors-in-chief), *Hormones, Brain, and Behavior* 3rd edition, Vol 1. Oxford. Academic Press: 83–116.

González Mariscal Gabriela, Melo Angel I. (2013). Parental behavior. In: Pfaff, D. *Neuroscience in the 21st Century*, first ed., vol. 4. Springer-Verlag, New York: 2069–2100.

González-Mariscal G., Poindron P. (2002). Parental care in mammals: immediate internal and sensory factors of control. *Hormones Brain and Behavior*, 1: 215-297.

Gordon I., Voos A.C., Bennett R.H., Bolling D.Z., Pelphey K.A., Kaiser, M. D. (2013). Brain mechanisms for processing affective touch. *Human Brain*, 34: 914–922.

Grandiel L.C (2016). From sweeping to the caress: similarities and discrepancies between human and non-human primates pleasant touch. *Frontiers in psychology*, 7: 1-7.

Gray J. A. McNaughton N. (1996). The neuropsychology of anxiety: Reprise. In D. A. Hope (Ed.), *Nebraska Symposium on motivation: Vol. 43. Perspectives on anxiety, panic, and fear*. Lincoln: University of Nebraska Press.

Greisen MH, Altar CA, Bolwig TG, Whitehead R, Wörtwein G. (2005). Increased adult hippocampal brain-derived neurotrophic factor and normal levels of neurogenesis in maternal separation rats. *Neuroscience Research*. 79: 772-778.

Groenewegen H.J, Wright C.I, Beuer A.V.J. (1996). The nucleus accumbens: gateway for limbic structures to reach the motor system? In Holstege G, Bandler R, Saper CB, eds. *The emotional motor system*. *Brain*, 107: 485-511.

Guyton y Hall. (2012). Sensibilidades somáticas: I Organización general, las sensaciones táctil y posicional Guyton y Hall. *Tratado de fisiología médica*. ELSEVIER, 12 ed: 571-574.

- Hall W.G., (1975) Weaning and growth of artificially reared rats. *Science*, 397:726–735
- Hanisch U. (2002). Microglia as a source and target of cytokines. *Glia*, 40: 140-155.
- Harkness J.E., Joseph E. (1995). The Biology and Medicine the rabbits and rodents. *Behavior neuroscience*, 11: 999–1013.
- Harlow H.F., Dodsworth R.O., Harlow M.K. (1965) Total social isolation in monkeys. *Laboratory Animal*, 42: 231-245.
- Harris P. (1993). Understanding other minds: Perspectives from autism. *Human Brain*, 34: 228-246.
- Heimer L., Zham D.S., Churchill L., Kalivas P.W., Wohltmann C. (1991). Specificity in the projection patterns of accumbal core and shell in the rat. *Neuroscience*, 41: 89-125.
- Henare S.J., Meilor B.J., Lentle R.G., Moujhan P.J. (2007). An appraisal of the strengths and weaknesses of newborn and juvenile rat models for researching gastrointestinal development. *Laboratory Animal* 42, 231-245.
- Hernández D.O., Aguilar E.J., García G.F. (2015). El hipocampo: neurogénesis y aprendizaje. *Medicina Universidad Veracruzana*, 7: 21-25.
- Hillerer K.M., Volker R.J., Thorsten F., Ludwig A. (2014). The Maternal Brain: An Organ with Peripartal Plasticity. *Neuroscience Research*. 79: 772-778.
- Hofer M.A. (1994). Early relationships as regulators of infant physiology and behavior. *Acta Paediatric Supplement*, 397:9–18.
- Jankowsky, J.L., Patterson, P.H., (1999). Cytokine and growth factor involvement in long-term potentiation. *Molecular cell Neuroscience*, 14: 273–286.
- Kaffman A., Meaney M.J. (2007). Neurodevelopmental sequelae of postnatal maternal care in rodents: clinical and research implications of molecular insights. *Children Psychology Psychiatry*, 48: 224-244.
- Kandel E.R, Schwartz J.H., Jesell T. M., Hudspeth A.J. (2001). Integración de la función sensitiva y motora, Kandel E.R, Schwartz J.H., Jesell T. M., Hudspeth A.J. *Principio de neurociencias*, McGraw-Hill, 4ed: 571-574.
- Kawaguchi Yasuo. (1993) Physiological, Morphological, and Histochemical Characterization of Three Classes of Interneurons in Rat Neostriatum, *Laboratory for Neural Systems, Frontier Research Program. Neuroscience Research*. 79: 772-778.
- Kelly S., Mahoney J.C., Randich A., West J. (1991). Indices of stress in rats: effects of sex perinatal alcohol and artificial rearing. *Physiology Behavior*, 49: 751-756
- Keverne E.B. (2001). Genomic imprinting, maternal care, and brain evolution. *Hormone Behavior*, 40:146–155.

- Kinsley Howard, Lambert Kelly (2006) The maternal Brain, *Scientific American*, 30: 57-65.
- Kirchhoff F., Kettenmann H. (1992). GABA triggers a $[Ca^{2+}]_i$ increase in murine precursor cells of the oligodendrocyte lineage. *Europe neuroscience*, 4:1049–1058.
- Klampfl S.M., Brunton P.J., Bayerl D.S., Bosch O.J. (2014). Hypo-activation of CRF receptors, predominantly type 2, in the medial-posterior BNST is vital for adequate maternal behavior in lactating rats. *Neuroscience*, 34:9665-9676.
- Kondo T., Raff M. (1998). Oligodendrocyte precursor cells reprogrammed to become multipotential CNS stem. *Neuroscience*, 4:1049–1058.
- Kreppner, J.M., O'Connor, T.G., Rutter M., (2001). Can inattention/overactivity be an institutional deprivation syndrome?. *Psychology*. 29: 513–528.
- Kriegstein, A., Álvarez B.A (2009). “The glial nature of embryonic and adult neural stem cells”, *Annual review of neuroscience*, 32: 149-184.
- Kuhn C.M., Schanberg S.M. (1998). Responses to maternal separation: mechanisms and mediators. *Development neuroscience*, 16: 261-270.
- Ledoux J.E. (2000). Emotion circuits in the brain. *Neuroscience*, 23: 155–184.
- Ledoux J.E., Cicchetti P., Xagoraris A., Romanski L. M. (1990). The lateral amygdaloid nucleus: sensory interface of the amygdala in fear conditioning. *Neuroscience*, 10: 1062–1069.
- Lee Y., Morrison B., Li S. (2012), Oligodendroglia metabolically support axons and contribute to neurodegeneration. *Nature*, 487: 443-450.
- Lee Y., Morrison B.M, Li S. Lengacher. (2012). Oligodendroglia metabolically support axons and contribute to neurodegeneration. *Nature*, 487: 443-450.
- Lehmann J., Feldon J., (2000). Long-term biobehavioral effects of maternal separation in the rat: consistent or confusing? *Neuroscience*, 11: 383–408.
- Lenz K.M., Graham M. D., Parada M., Fleming A.S., Dale R., Sengelaub, Monks D., Ashley. (2007). Tactile Stimulation During Artificial Rearing Influences Adult Function and Morphology in a Sexually Dimorphic Neuromuscular System. *Neuroscience*, 11: 383–408.
- Lenz, K.M., Graham, M.D., Parada, M., Fleming, A.S., Sengelaub, D.R., Monks, D.A., (2008). Tactile stimulation during artificial rearing influences adult function and morphology in a sexually dimorphic neuromuscular system. *Development neurobiology*, 68: 542–557.
- León R.A., Dueñas G.J. (2012). Effects of Early Maternal Separation on The Performance in the Elevated Plus Maze in Adult Rats, 1 Facultad de Medicina, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá.

Levine S., Huchton, D.M., Wiener, S.G., Rosenfeld, P., (1991). Time course of the effect of maternal deprivation on the hypothalamic–pituitary–adrenal axis in the infant rat. *Development psychobiol.* 24, 547–558.

Levine S., (2001). Primary social relationships influence the development of the hypothalamic– pituitary–adrenal axis in the rat. *Physiology. Behavior*, 73: 255–260.

Levine S., Lewis G.W. (1959).Critical period for the effects of infantile experience on the maturation of a stress response. *Science*, 129:42–43.

Lévy F., Melo A.I., Gale J.R., Fleming A.S. (2003). Complete maternal deprivation affects social, but not spatial, learning in adult rats. *Developmental Psychobiology*, 43:177–191.

Liljen Crantz J., Olausson H. (2014).Tactile C fibers and their contributions to pleasant sensations and to tactile allodynia. *Behavioral neuroscience*, 8:1-6.

Lindgren L., Westling G., Brulin C., Lehtipalo S., Andersson M., Nyberg, L. (2012). Pleasant human touch is represented in pregenual anterior cingulate cortex. *Neuroimage*, 59: 3427–3432.

Lippmann M., Bress A., Nemeroff C.B., Plotsky P.M., Monteggia L.M. (2007). Long-term behavioural and molecularalterations associated with maternal separation in rats. *Eur. J. Neuroscience*, 25: 3091-3098.

Liu D., Diorio J., Day J.C., Francis D.D., Meaney M.J., (2000). Maternal care, hippocampal synaptogenesis and cognitive development in rats. *Nature neuroscience*, 3: 799-806.

Lledo Pierre M, Alonso Mariana, Matthew S. Grubb. (2006). Adult neurogenesis and functional plasticity in neuronal circuits. *Neuroscience*, 3: 799-806.

Lomanowska A.M., Melo A.I. (2015) Deconstructing the function of maternal stimulation in offspring development: Insights from the artificial rearing model in rats, *Hormon behavior*. 14, 685–696.

Lomanowska, A.M., Chatterjee C.M., Steiner, M., Kraemer, G.W.,(2011). Effects of motherless rearing on basal and stress-induced corticosterone secretion in rat pups. *Stress behavior* ,14: 685–696.

Lorente N. (1933). El hipocampo propio o cuerno de Amón está dividido en tres áreas: CA1, CA2 y CA3.*Neuroenergetics*, 20: 18-25

Lovic a Vedran, Fleming Alison S. (2015) Propagation of maternal behavior across generations is associated with changes in non-maternal cognitive and behavioral processes. *Neuroscience*, 3: 799-806.

Lovic V., Palombo D.J., Fleming A.S. (2011). Impulsive rats are less maternal. *Developmental Psychobiology*, 53:13–22.

Lovic, V., Fleming, A.S., Fletcher, P.J., (2006). Early life tactile stimulation changes adult rat responsiveness to amphetamine. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 84: 497–503.

Lupkin E.A., Marchall K.L., Nelson A.M. (2010). The cell biology of touch. *Cell Biology*, 19: 237-248.

Macrí S., Chiarotti F., Würbel H. (2008). Maternal separation and maternal care act independently on the development of HPA responses in male rats. *Behavioural Brain Research*. 191: 227-234.

Maldonado C.S., Swanson C.J., Kelley A.E. (1995) Glutamate receptors in the nucleus accumbens shell control feeding behavior via the lateral hypothalamus. *Neuroscience* 15: 6779-88.

Martín Bustos M. (2008). Núcleo accumbens y el sistema motivacional a cargo del apego. *Neuropsychiatry*, 46: 207-215.

Martínez – Gómez. (2014). Comunicación entre células gliales y neuronas I. Astrocitos, células de Schwann que no forman mielina y células de Schwann perisinápticas. *Elsevier*, 20: 75-78.

Masliah, E., Fagan, A.M., Terry, R.D., DeTeresa R., Mallory, M., Gage F.H., (1991). Reactive synaptogenesis assessed by synaptophysin immunoreactivity is associated with GAP-43 in the dentate gyrus of the adult rat. *Neurobiology*, 113: 131–142.

Matthews K., Robbins T.W. (2003). Early experience as a determinant of adult behavioural responses to reward: the effects of repeated maternal separation in the rat. *Neuroscience Biobehavior*, 27:45–55.

May B., Trommald M., Andersen P. (1994). An increase in dendritic spine density on hippocampal CA1 pyramidal cells following spatial learning in adult rats suggests the formation of new synapses. *Research*. 191: 227-234.

McAllister A.K. (2000). Cellular and molecular mechanisms of dendritic growth. *Cerebral Cortex*, 10: 963 - 973.

McAllister A.K., Lo D.C., Katz L.C. (1995). Neurotrophins regulate dendritic growth in developing visual cortex. *Neurons*, 15: 791-803.

McGlone F., Olausson H., Boyle, J.A., Jones M., Dancer C., Guest,S., (2012). Touching and feeling: differences in pleasant touch processing between glabrous and hairy skin in humans. *Neuroscience*, 35: 1782–1788

Meaney M.J., Aitken D.H. (1985) The effects of early postnatal handling on hippocampal glucocorticoid receptor concentration: temporal parameters. *Development Brain*, 22: 301–304.

Medina Adriana, Escobar Martha I. (2004). Plasticidad Neuronal y su Relación con el Sistema de Transportadores de Glutamato, *Revista Colombiana de Psiquiatría*, 29: 68-79

Melián W., Almaguer J.A., Rosado. (2002). Interacciones entre el hipocampo y la amígdala en procesos de plasticidad sináptica. Una clave para entender las relaciones entre motivación y memoria. *Neurología*, 59: 89-108.

Melo Á.I, Lucio L. R.A, Aguilar P. E. (2015). Efecto del aislamiento socio-materno y papel de los estímulos táctiles durante el período postnatal predestete sobre la conducta copulatoria y los parámetros seminales de la rata macho. *Biochemystral behavior*, 84: 497–503

Melo A.I., Toriz, C.G. Kinsley C.H. (2013). Regulación hormonal, sensorial y social de la conducta materna en mamíferos: Efectos sobre la madre y sobre el desarrollo de la progenie. *Curso Pre-Congreso AIBIR. Procesos Fisiológicos, Conductuales y Toxicológicos de la Reproducción*. 38.

Melo Angel I, Fleming Alison S. (2006). La conducta materna como modelo para estudiar el desarrollo del sistema nervioso. *Biochemystral behavior*, 84: 497–503

Melo Salazar Ángel I, Hernández C.M, Hoffman K.L. (2009). Maternal and peer contact during the postnatal period participate in the normal development of maternal aggression, maternal behavior, and the behavioral response to novelty, *Centro de Investigación en Reproducción Animal, CINVESTAV-Lab. Tlaxcala, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Mexico*.

Meredith G.E., Agolia R., Arts M., Groenewegen H.J., Zham D.S. (1992). Morphological differences between projection neurons of the core and shell in the nucleus accumbens of the rat. *Neuroscience*, 50: 149-62.

Messer M., Thoman, E.B., Terrasa A.G., Dallman P.R. (1969). Milk from day 5 to 20 of lactation and milk intake of lean and preobese. *Behavior*, 20: 34-56.

Mogenson G.J., Jones D.L., Yim C.Y. (200). From motivation to action: functional interface between the limbic system and the motor system. *Psychobiology*, 16: 607-97.

Morrison I., Bjornsdotter M., Olausson H. (2010). The skin as a social organ. *Brain*, 204: 305–314.

Nelson C.A., Westerlund A., McDermott J.M., Zeanah C.H., Fox, N.A. (2013). Emotion recognition following early psychosocial deprivation. *Developmental psychopathology*, 25: 517–525.

Netter F. (2011). *el sistema límbico*, Netter F. *Anatomía Humana*. Elsevier, 5ta Ed: 1189-1200

Nicholas, K.R., Hartmann, P.E., (1991). Milk secretion in the rat: progressive changes in milk. *Neuroprotection. Neurobiology*, 72:111-127.

Nieuwenhuys, Voogd, van Huijzen. (2009). El Sistema Nervioso Central Humano. Médica Panamericana, 4 ed.:1368-186.

Nimchinsky E.A., (2002). Estructura y función de las espinas dendríticas. *Physiology*, 64:313-353.

Ning J., Kun Y., Qinru S., Qing C., Hui Li, Daxin C., Xiaoli F., Zhongliang Z. (2009). Prenatal Stress Causes Dendritic Atrophy of Pyramidal Neurons in Hippocampal CA3 Region by Glutamate in Offspring Rats. *Brain*, 184: 135–140.

Novakov, M., Fleming, A., (2005). The effects of early rearing environment on the hormonal induction of maternal behavior in virgin rats. *Hormon behavior*, 48: 528–536.

Numan, M., Fleming, A.S., Lévy, F. (2006). Maternal Behavior in Physiology of Reproduction. Elsevier, 30: 1921–1993.

Numan, M., Insel, T.R., 2003. The Neurobiology of Parental Behavior. Springer-Verlag, New York. Elsevier, 30: 1921–1993.

Olausson H., Cole J., Rylander K., McGlone F., Lamarre Y., Wallin B.G. (2008). Functional role of unmyelinated tactile afferents in human hairy skin: sympathetic response and perceptual localization. *Brain*, 184: 135–140.

Olausson H., Lamarre Y., Backlund H., Morin C., Wallin, B.G., Starck, G. (2002). Unmyelinated tactile afferents signal touch and project to insular cortex. *Nature Neuroscience*, 5: 900–904.

Ortega L.L., Orozco C.G., Vélez A., Cruz F. (2015). El papel del cuerpo calloso en el procesamiento visoespacial, Programa de Residencia en Neuropsicología Clínica, Facultad de Psicología, Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México. México.

Patiño J., Corredor L., Dueñas Z. (2014) Impacto de la separación materna durante la lactancia sobre el tamaño del cerebro y la inmunorreacción al receptor GABA-A. *Salud Universidad Boyacá*, 1: 3 –44.

Patton Bruce, Burgess Robert W. (2005). Synaptogenesis, *Developmental Neurobiology*. *Neuroscience*, 32: 421-431.

Perea G., Navarrete M., Araque B. (2009), Tripartite synapses: astrocytes process and control synaptic information. *Neuroscience*, 32: 421-431.

Pérez C.E (2012). Efecto del aislamiento social y maternal durante el periodo postnatal, sobre el desarrollo de la conducta sexual y pseudo-maternal en la rata macho wistar adulta. (Tesis de posgrado). Universidad Autónoma de Tlaxcala. Tlaxcala, tlax.

Pérez Torrero E., Rubio Navarro L. (2015). Maternal Behavior Their Adjustments and Implicated Factors. *Behavioral and Brain Science*, 5: 40-55.

Polleux Franck, Anton E.S. (2005). Neuronal Migration in the Developing Brain, *Developmental Neurobiology*. Neuroscience, 115:71–83

Portillo W. (2012). Sexual activity increases the number of newborn cells in the accessory olfactory bulb of male rats. *Neuroanatomy*, 6: 25-30.

Pryce C.R., Bettschen D., Bahr N.I., Feldon J. (2001). Comparison of the effects of infant handling, isolation, and nonhandling on acoustic startle, prepulse inhibition, locomotion, and HPA activity in the adult rat. *Behavior neuroscience*, 115:71–83.

Pryce C.R., Feldon J. (2003) Long-term neurobehavioral impact of the postnatal environments in pups. *Nutrition*, 111: 480–487.

Rees S.L., Panesar S., Steiner M., Fleming A.S. (2006) The effects of adrenalectomy and corticosterone replacement on induction of maternal behavior in the virgin female rat. *Hormones and Behavior*, 49:337–45.

Reyes-Haro D., Bulavina L., Pivnea T. (2014). La glía el pegamento de las ideas. *Ciencias* 77: 12-18.

Roffman, J.L., Marci, C.D., Glick, D.M., Dougherty, D.D., Rauch, S.L. (2005). Neuroimaging and the functional neuroanatomy of psychotherapy. *Psychological Medicine*, 35: 1–14.

Rosenblatt I.S., Lehrman D.S. (1963). Maternal behavior in the laboratory rat. In: Reingold HL, 4ed. *Maternal Behavior in Mammals*. New York: Wiley: 8-57

Roth Kevin A. (2005) *Programmed Cell Death*, Division of Neuropathology, Department of Pathology, University of Alabama at Birmingham, Birmingham, *Developmental Neurobiology*, 4th ed., edited by Mahendra S. Rao and Marcus Jacobson. Kluwer Academic / Plenum Publishers, New York.

Roudaut Y., Lonigro A., Coste B., Hac J., Delmas P., Crest M. (2012). Functional organization and molecular determinants of mechano sensitive receptor channels. *Biochimica et Biophysica Acta*, 6: 234-245.

Roy, P., Rutter, M., Pickles, A. (2004). Institutional care: associations between overactivity and lack of selectivity in social relationships. *Psychology psychiatry*, 45:89-99.

Sahay A., Hen R. (2007). Adult hippocampal neurogenesis in depression. *Nature neuroscience*, 90: 1110-1113.

Sapolsky RM, Meaney MJ (1986). Maturation of the adrenocortical stress response: neuroendocrine control mechanisms and the stress hyporesponsive period. *Brain*, 396: 64–76.

Schanberg, S.M., Field, T.M., (1987). Sensory deprivation stress and supplemental stimulation in the rat pup and preterm human neonate. *Development*, 58: 1431–1447.

Schumacher A., Vlassov E., Rutsuko I. (2015). The Ventral Hippocampus, But Not the Dorsal Hippocampus Is Critical for Learned Approach-Avoidance Decision Making. *Science*, 119:285–286

Segal Menahem, Andersen Per. (2000). Dendritic spines shaped by synaptic activity. *Neurobiology*, 10:50-89

Segura B., Melo A.I., Fleming A.S., Mendoza M.E., González del del P.M., Aguirre B.E. (2014). Early social isolation provokes electrophysiological and structural changes in cutaneous sensory nerves of adult male rats. *Development Neurobiology*, 9: 1-19.

Shams, S., Pawluski, J.L., Chatterjee C.M., Oatley H., Mastroianni A., Fleming A.S. (2012). Dendritic morphology in the striatum and hypothalamus differentially exhibits experience-dependent changes in response to maternal care and early social isolation. *Brain*, 233: 79–89.

Sheng M., Kim M.J. (2002). Postsynaptic signaling and plasticity mechanisms. *Science*, 298: 776–780.

Silva A.B., Rojas D., Juarez I., Flores G., (2003). Decreased dendritic spine density on prefrontal cortical and hippocampal pyramidal neurons in postweaning social isolation rats. *Brain*, 983:128-136.

Smart J.L., Stephens D.N., Katz H.B. (1983). Growth and development of rats artificially reared on a high or a low plane of nutrition. *Nutrition*, 49: 491-506.

Sokolowski Katie, Corbin Joshua G. (2012) Wired for behaviors: from development to function of innate limbic system circuitry. *Neuroscience Research*, 10: 56-68.

Sorra E.K., Harris M.K. (2000) Overview on the Structure, Composition, Function, Development, and Plasticity of Hippocampal Dendritic Spines. *WILEY-LISS, INC.*, 10:501–511.

Spanagel R, Weiss F. (1999). The dopamine hypothesis of reward: past and present status. *Neuroscience*, 22: 521-527.

Spruston Nelson. (2008) Pyramidal neurons: dendritic structure and synaptic integration. *Neurobiology Physiology*, 22: 205-209.

Stern J.M., Mackinnon D.A. (1976). Postpartum, hormonal, and nonhormonal induction of maternal behavior in rats: Effects on T-maze retrieval of pups. *Hormones and Behavior*, 7: 305-316.

Streit W.J., Walter S.A., Pennell N.A. (1999). Reactive microglia. *Neurobiology*, 57: 563-483.

Sullivan, R., Lasley, E., (2010). Fear in love: Attachment, abuse, and the developing brain, *Cerebrum: the Dana forum on brain science*. Dana Foundation.

Suzuki, A., Stern S.A., Bozdagi O. (2011), Astrocyte-neuron lactate transport is required for long-term memory formation. *Cell*, 144: 810-823.

Takuma K, Baba A., Matsuda T. (2004) .Astrocyte apoptosis. *Cell*, 144: 810-823.

Thiel, G. (1993). Synapsin I, synapsin II, and synaptophysin: marker proteins of synaptic vesicles. *Brain Pathology*. 3:87–95.

Thoenen H., (1995). Neurotrophins and neuronal plasticity. *Science*, 270: 593–598.

Triscoll C., Ackerly R., Sailer U. (2012). Touch safety: differential effects of stroking velocity on liking and wanting touch over repetition. *Plos One.*, 9:2-8.

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

Uvnäs-Moberg K. (1997). Physiological and endocrine effects of social contact. *Academy Science.*, 807:146-63.

Vetter Monica L, Dorsky Richard. (2005) Neurogenesis. *Neurobiology and Anatomy*, University of Utah, 890: 1191-1200.

Voorn P., Vanderschuren J., Groenewegen H., Robbins T., Pennartz C. (2005). Putting a spin on the dorsal ventral divide of the striatum. *Neuroscience*, 27:468 - 474.

Vyas A., Mitra R., Shankaranarayana R., Cattarji S. (2002) Chronic stress induces contrasting patterns of dendritic remodeling in hippocampal and amygdaloid neurons. *J Neurosci*, 22: 6810-6818.

Ward G., Cheng X.H., Cardine N., Silvchak J. (2004). Adrenocortical response to stress in fasted and unfasted artificially reared 12-day-old, rat pup. *Psychobiology*, 45:245-250.

Weininger O. (1954) Physiological damage under emotional stress as a function of early experience. *Development psychobiology*, 54:205-254.

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

Wiesinger H., Hamprecht B., Dringen R. (1997). Metabolic pathways for glucose in astrocytes. *Glia*, 21: 22–34.