

2003B – 2009B

300157082

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS



ACTIVIDAD ELÉCTRICA PREFRONTAL Y DEL ACCUMBENS DURANTE LA
ESTIMULACIÓN AUDITIVA EN RATAS VIRGENES: CAMBIOS EN RELACION AL
CICLO ESTRAL

TRABAJO DE TITULACIÓN EN MODALIDAD DE
TESIS
PARA OBTENER EL TÍTULO DE LICENCIADO EN BIOLOGÍA
PRESENTA
DIEGO RADBERTO CHAPA GARCÍA ABASCAL

Guadalajara, jal, diciembre de 2011



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS

COORDINACIÓN DE CARRERA DE LA LICENCIATURA EN BIOLOGÍA
COMITÉ DE TITULACIÓN



COORD. BIOL. 238/2011

C. DIEGO RADBERTO CHAPA GARCÍA ABASCAL
P R E S E N T E

Manifiestamos a usted, que con esta fecha ha sido aprobado su tema de titulación en la modalidad de TESIS E INFORMES opción Tesis, con el título "ACTIVIDAD ELÉCTRICA PREFRONTAL Y DEL ACCUMBENS DURANTE ESTIMULACIÓN AUDITIVA EN RATAS VÍRGENES: CAMBIOS EN RELACIÓN AL CICLO ESTRAL", para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos, que ha sido aceptado como director de dicho trabajo al Dr. Miguel Ángel Guevara Pérez y como asesor a la Dra. Marisela Hernández González.

Sin más por el momento, aprovechamos para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"PIENSA Y TRABAJA"

Las Agujas, Nextipac, Zapopan, Jalisco, 09 de diciembre de 2011.



DRA. TERESA DE JESÚS ACEVES ESQUIVIAS
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN



M. C. GLORIA PARADA BARRERA
SECRETARIO DEL COMITÉ DE TITULACIÓN

Dra. Teresa de Jesús Aceves Esquivias.
 Presidente del Comité de Titulación.
 Licenciatura en Biología
 CUCBA.
 Presente

Nos permitimos informar a usted que habiendo revisado el trabajo de titulación, modalidad tesis e informes, opción tesis con el título: "Actividad eléctrica prefrontal y del accumbens durante la estimulación auditiva en ratas vírgenes: cambios en relación al ciclo estral." que realizó el/la pasante Diego Radberto Chapa García Abascal con número de código 300157082 consideramos que ha quedado debidamente concluido, por lo que ponemos a su consideración el escrito final para autorizar su impresión.

Sin otro particular quedamos de usted con un cordial saludo.

Atentamente
 8 diciembre 2011, Zapopan, Jalisco. México.

Firma *[Firma]*
 Nombre Miguel Ángel Acuña K.
 Director/a del trabajo.

firma *[Firma]* Hernández Gb
 nombre
 Asesor(es)

Nombre completo de los Sinodales asignados por el Comité de Titulación	Firma de aprobado	Fecha de aprobación
Dr. Juanito Benítez Pineda	<i>[Firma]</i>	8-12-2011
Dra. María del Carmen C.	<i>[Firma]</i>	9 Dic 2011
Dr. Félix Aector Martínez Sánchez	<i>[Firma]</i>	8-12-2011
Dra. Mariela Hernández Gb	<i>[Firma]</i>	8-Dic-2011

[Firma]
 12/14/2011

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Dra. Marisela Hernández por acogerme en su laboratorio y en especial por toda su paciencia, dedicación, apoyo incondicional y toda su enseñanza.

Al Dr. Miguel Ángel Guevara por invitarme a formar parte de su equipo, dedicarme su tiempo, darme su amistad y buen humor.

A la universidad de Guadalajara por brindarme las herramientas, conocimientos y la oportunidad de conocer a tantas personas que han participado en mi desarrollo.

A mis sinodales, el Dr. Jacinto Bañuelos, la Dra. Graciela Gudiño y al Dr. Félix Héctor Martínez Sánchez.

A mi familia por todo su apoyo. A mi abuelo por enseñarme tanto, a mi abuela por cuidar de mí, a mi madre por ser tan cariñosa, alegre y comprensiva, a mi padre por todas esas pláticas y por compartirme su conocimiento, a mis hermanos y hermana porque de todos ellos he aprendido mucho.

A mis compañeros de laboratorio Ricardo, Koral, Rossy, Lety, Mayra, Marina, Marái, y Yurit-zé por su paciencia, por comprensión y por acompañarme en las buenas y en las malas.

A Claudia Amezcua por su clase sobre sensorialidad que me incito a acercarme al instituto de neurociencias.

A todos mis sujetos de estudio, mis ratas.

A todos mis amigos que resolvieron mis dudas, me brindaron su apoyo y ayuda.

A mis profesores por aguantarme y por responder todas mis dudas.

A mis amores Adriana y Matilde por ser mi familia mi luz, mi brújula y mi todo.

DEDICATORIA

A mi abuelo Radberto a quien más admiro por su sabiduría, por inculcarme el hábito de la lectura, por todo su amor y por cuidar tanto de toda su familia.

ÍNDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
ANTECEDENTES	4
Ciclo ovárico o ciclo estral de la rata	4
Correlación entre tipos celulares vaginales y cambios cíclicos en la estructura ovárica	6
Cambios hormonales	7
Cambios conductuales en relación a los diferentes estados reproductivos	10
Cambios Electroencefalográficos en relación al ciclo estral	13
Estimulación Auditiva	14
Corteza prefrontal	15
Núcleo accumbens	17
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	19
OBJETIVO GENERAL	20
OBJETIVOS PARTICULARES	20
HIPÓTESIS GENERAL	20
HIPÓTESIS ESPECÍFICAS	20
MATERIAL Y MÉTODOS	21
Sujetos	21
Implante de electrodos	21
Registros electroencefalográficos	22
Análisis de histológico	24
Análisis estadístico	24
RESULTADOS	25
Potencia absoluta	25
Potencia relativa	27
Correlación interhemisférica	28
Correlación intrahemisférica	29
DISCUSIÓN	31
CONCLUSIONES	35
REFERENCIAS	36

RESUMEN

Al igual que en otros mamíferos, los diferentes estadios reproductivos en la rata hembra, como son el ciclo estral, la gestación y la lactancia, se relacionan con cambios hormonales específicos. Se ha mostrado que en relación a estos estadios reproductivos, ocurren cambios importantes en diversos aspectos cognitivos, perceptuales, emotivos o de sensibilidad y que la percepción y umbral de detección de los diferentes estímulos son sensibles a los cambios hormonales asociados con el ciclo estral. Los estímulos auditivos juegan un papel importante en la interacción sexual así como en la interacción madre-cría; de hecho, se sabe que la activación cerebral de las madres cambia en respuesta a la audición de chillidos de sus críos y que la respuesta conductual de machos y hembras cambia en relación a los estímulos auditivos emitidos por potenciales parejas sexuales. Ya que tanto la corteza prefrontal como el núcleo accumbens han sido asociados con el procesamiento y asignación del valor incentivo de los estímulos, en este trabajo se registró la actividad electroencefalográfica de ambas estructuras durante la audición de chillido de crías, o de hembras y machos adultos durante las fases estrales de proestro-estro y diestro en ratas hembra vírgenes. Las ratas en diestro presentaron una mayor PA de la banda de 4-7 Hz y una menor PR de la banda de 14-30 Hz durante el chillido de crías respecto al chillido de machos tanto en la CPF como en el Acc, en tanto que durante el proestro-estro, sólo en el Acc presentaron una menor PR de la banda de 8-13 Hz durante el chillido de crías. Es probable que estos cambios electroencefalográficos se asocien con un estado de activación o de alerta de las ratas en diestro ante el chillido de machos así como con una mayor atractividad o relevancia que representa el chillido de crías para las hembras vírgenes en proestro-estro, incrementando la probabilidad de que se induzca más fácilmente la conducta maternal o bien, con la mayor sensibilidad y receptividad de la hembra a los estímulos auditivos emitidos por los machos, aspectos conductuales que son característicos de esta etapa del ciclo estral. Este estudio aporta datos objetivos de la participación de la CPF y del Acc en el procesamiento de la información auditiva reproductivamente relevante para la rata hembra y de su modulación en relación al ciclo estral.

INTRODUCCIÓN.

Desde un punto de vista evolutivo la conducta sexual pareciera mantener un objetivo claro, la reproducción de un individuo para la preservación de la especie. Pero al ahondar un poco en los aspectos particulares de la reproducción esta primicia no es tan satisfactoria, ya que no es claro el por qué se produce y se mantiene, al contrario de lo que sucede con conductas como el tomar y beber que estarían “impulsados” por estados homeostáticos.

En el caso de las hembras la conducta sexual es exclusiva de un periodo determinado denominado estro, en el que el organismo se prepara fisiológicamente para sustentar el desarrollo de otro. Este periodo se alterna con otro (diestro) donde no se expresará la conducta sexual para de esta forma completar periódicamente un ciclo. En el caso de los mamíferos, con excepción de los primates, este periodo recibe el nombre de ciclo estral.

En la rata, al igual que en otros mamíferos, este ciclo depende de cambios hormonales particulares y cada una de estas fases mantienen un perfil hormonal característico que es acompañado de cambios citológicos y conductuales característicos de las diferentes fases estrales. En la rata, la duración de cada una de estas fases es la siguiente: proestro de 12 a 14 horas, estro de 25 a 27 horas, metaestro de 6 a 8 horas y diestro de 55 a 57 horas (Marc E. Freeman 2006).

Estos cambios conductuales presentados en las diferentes fases del ciclo reflejan distintos estados de actividad en estructuras específicas del sistema nervioso encargadas de la asignación del valor incentivo de un estímulo determinado (Ågmo 1999). Varios estudios han mostrado que los cambiantes niveles hormonales característicos de cada etapa reproductiva, se relacionan con cambios en la sensibilidad a estímulos sensoriales así como con cambios en diversos aspectos cognitivos y emocionales. Durante las diferentes fases del ciclo estral, se presentan también cambios en el nivel de ansiedad de las ratas hembras. Esto se refleja en el paradigma de laberinto elevado donde las ratas durante el estro vaginal y conductual presentan un incremento en la conducta ambulatoria de campo abierto y el aprendizaje medido por evasión condicionada se altera significativamente durante la fase preovulatoria de ratas (Fernández-Guasti y Picazo, 1990).

Fleming y cols. (1989) han reportado una mayor “sensibilidad” a estímulos sensoriales relacionados con las crías en madres lactantes como son las vocalizaciones

ultrasónicas o el olor proveniente de las crías, además muestran una mayor agresión cuando intrusos se aproximan a la camada. La mayoría de estos autores ha reportado estos cambios en la sensibilidad o emotividad en términos hormonales o conductuales, pero también por otro lado se han reportado cambios en la funcionalidad cerebral. Por ejemplo, Corsi-Cabrera y cols. (1992) reportaron que la correlación electroencefalográfica interhemisférica de la corteza parietal cambia a través del ciclo estral de la rata, además Contreras y cols. En el 2000 también reportaron que la frecuencia de disparo de las neuronas del septum lateral es mayor durante el periodo de proestro- estro que durante el estro. En lo que respecta a las ratas madres Mead y Vanderwolf en 1992, encontraron una mayor actividad hipocámpica theta durante el lamido anogenital y la conducta de acarreo de crías. Se ha reportado también con relación a la conducta maternal un incremento en la actividad multilineal amigdalóide de la gata ante el chillido de crías pero sólo durante la lactancia (Solís- Ortiz, 1994), la presencia de ondas sincrónicas de 6-10 Hz (100-150 μ V) en el electroencefalograma características de estados placenteros durante la lactancia (Cervantes y col., 1992) y una disminución de la proporción de beta, mientras que en mujeres lactantes, en respuesta al llanto del bebé se presenta una menor proporción de delta, y beta (Ramos y col., 1997).

La conducta maternal es una conducta motivada que requiere una apropiada integración entre estímulos externos y estados internos. Tal conducta maternal puede ser provocada y/o mantenida por una amplia variedad de señales sensoriales, y se ha mostrado que las señales específicas que provocan respuestas maternas varían entre especies. En roedores, de forma específica, el sentido del olfato y de la audición juegan un importante papel en la expresión y mantenimiento de la conducta social y específicamente parental (Pfaff y cols., 2006).

El sistema de proyección dopaminérgico (DA) que se origina en el área tegmental ventral y que inerva a la corteza prefrontal (CPF) y al núcleo Accumbens (Acc) juega un papel importante en los procesos neurales que subyacen a la organización temporal de las conductas motoras, en el control de procesos cognitivos, motivacionales y emocionales; así como en la respuesta a estímulos novedosos y/o recompensantes (Brady y O'Donnell, 2004). Aunado a lo anterior, se ha mostrado también que el funcionamiento de este sistema, así como los niveles de DA o sus metabolitos son regulados o influenciados por las

hormonas (Rosenblatt, 2002). Es probable entonces que la CPF y el Acc jueguen un papel importante en los aspectos “emocionales” o de sensibilidad que presenta la rata en los diferentes estados reproductivos ante diversos estímulos sensoriales externos, tales como el chillido de críos, o de hembras y machos adultos.

Ya que la respuesta conductual y motivacional de la rata cambia en relación al ciclo estral y que la información olfatoria y auditiva juegan un papel muy importante en su conducta reproductiva, en este proyecto se determinó si la actividad electroencefalográfica (EEG) de la corteza prefrontal medial y del núcleo Accumbens de ratas vírgenes cambia en respuesta a estímulos auditivos provenientes de críos, o de hembras y machos adultos en relación a las diferentes fases del ciclo estral.

ANTECEDENTES

Ciclo ovárico o ciclo estral de la rata.

El estro, del griego “*oistros*” (frenesi) término acuñado por Heape (1900) que describe el periodo de especial deseo sexual de la hembra, que al contrario del anestro, representa una fase de no-crianza o periodo de descanso en las hembras durante el cual los ovarios y órganos accesorios reproductivos se encuentran relativamente inactivos y los intentos de cópula del macho son rechazados. Como se mencionó antes, el ciclo estral de la rata es dividido en cuatro fases con características histológicas, hormonales y conductuales específicas (Marc E. Freeman 2006 y Heape (1900).

Proestro: Es el periodo anterior al estro. Se define también como el estado preparativo para el estro, que es la etapa de calor o receptividad sexual.

Estro: Se describe como el periodo en el que la hembra es receptiva al macho. La disponibilidad de la hembra al coito se relaciona con su fertilidad, característica de esta etapa.

Metaestro: Final del periodo de estro. Es un periodo corto de recuperación previo al diestro.

Diestro: Periodo en que el rechazo al macho es muy evidente. Si la fertilización no se lleva a cabo la hembra regresa a la fase de proestro y el ciclo comienza de nuevo (Figura 1).

Los cambios en el ciclo son acompañados por cambios citológicos que pueden ser monitoreados a través de frotis o lavados vaginales para determinar el tipo de células predominantes durante una etapa determinada (Figura 1). Durante el proestro se presentan células epiteliales nucleadas, algunas cornificadas, que no tienen un núcleo observable. Durante el estro las células predominantes son epiteliales, escamosas y cornificadas, no se observa un núcleo y contienen un citoplasma granular, con gránulos que aparecen en agregados grandes. En la etapa de metaestro abundan los leucocitos, que aparecen junto a un número considerable de células epiteliales nucleadas; los leucocitos son pequeños y con un citoplasma granular. Finalmente, en el diestro predomina una gran cantidad de leucocitos y unas pocas células epiteliales nucleadas en forma similar a las del metaestro. Después, la fase de proestro se manifiesta de nuevo, que se caracteriza por la ausencia de leucocitos en el flujo vaginal y la predominancia de células epiteliales nucleadas (Figuras 1 y 2).

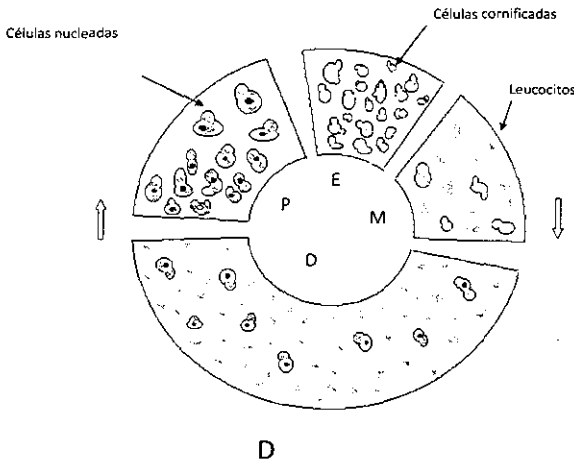


FIGURA 1. Células observadas en un frotis vaginal: Proestro (P), Estro (E), Metaestro (M) y Diestro (D) modificado de Hernández-González, 2002.

Correlación entre tipos celulares vaginales y cambios cíclicos en la estructura ovárica

Las células cornificadas que se observan en los frotis durante el periodo de estro se relacionan con la presencia de folículos que han sufrido una ruptura reciente después de la ovulación. Durante esta etapa se empiezan a desarrollar los folículos terciarios a partir de folículos secundarios. La siguiente producción de óvulos surgirá de los folículos terciarios después de haberse desarrollado completamente. El antrum de cada folículo terciario es pequeño (Figura 2). Las células granulosas o epiteliales que rodean al folículo inducen a la formación de una capa diferenciada de tejido conectivo llamada teca interna (Freeman, 2006).

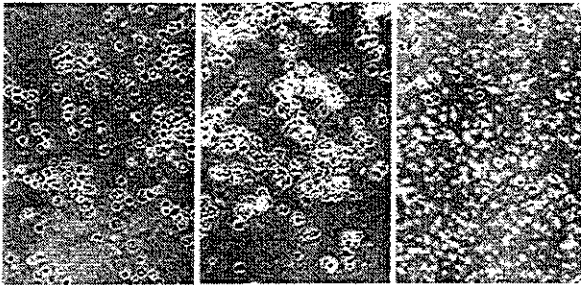


FIGURA 2. Tipos de células que aparecen en los lavados vaginales durante las fases del ciclo estral (magnificación x100). A. Proestro: esta caracterizado por una predominancia de células epiteliales nucleadas que son redondas y con un núcleo relativamente conspicuo. B. Estro: está caracterizado por una predominancia de células epiteliales cornificadas escamosas, sin núcleo conspicuo. C. Diestro: está caracterizado por una predominancia de pequeños leucocitos esparcidos entre pocas células epiteliales cornificadas o nucleadas.

En el metaestro o diestro I, se presentan leucocitos y unas pocas células epiteliales nucleadas, los folículos terciarios se hacen más grandes, los lugares de ruptura en los que se produjo la ovulación previa son reparados y las células endocrinas lúteas rodean las cavidades llenas de líquido de los folículos anteriores para formar los cuerpos lúteos y las células granulosas se hacen más numerosas, también el antrum comienza a llenarse de un fluido claro conocido como líquido de los folículos anteriores para formar los cuerpos lúteos (Hernández-González, 2002).

En el diestro o diestro II A los folículos terciarios que aumentan de tamaño se les denomina folículos graafianos. En este momento los cuerpos lúteos están completamente formados, la cavidad interna se ha llenado con células lúteas endocrinas y tejido conectivo. La capa de tejido conectivo que rodea a la teca interna se diferencia en una capa de células que tienen forma de huso y se le conoce como teca externa.

Cuando se produce la ovulación, el ciclo comienza otra vez, a menos que la hembra se aparee; si ésta recibe suficiente estimulación vaginal a través de la copula o estímulos copulatorios, los cuerpos lúteos no sufren regresión; esto sucede cuando las células vaginales pasan al estado de proestro, y que en los folículos graafianos destinados a ovular tiene lugar un crecimiento rápido, los otros folículos que no ovulan sufren regresión. Si el apareamiento es fructífero y la hembra queda embarazada, los cuerpos lúteos conservan su gran tamaño a lo largo de la mayor parte de la gestación, en cambio, si el apareamiento es estéril los cuerpos lúteos continúan siendo voluminosos durante unos 14 días antes de la regresión. Dado que se producen una serie de cambios fisiológicos que se asemejan a los de la gestación, a esta función sostenida de los folículos se le llama pseudogestación y durante este proceso el ciclo estral queda suspendido (Pfaff y cols., 2006).

Cambios hormonales

Los cambios en el ciclo estral se deben a una serie de cambios en la síntesis de mensajeros químicos hormonales. El período preovulatorio o fase folicular del ciclo ovárico se caracteriza por un crecimiento en los folículos acompañado por un aumento en la secreción de estrógeno. En tanto que la fase lútea es aquella que parte del ciclo después de la

ovulación durante la cual el cuerpo lúteo es activo y produce progesterona. Mientras que en el proestro aumenta la secreción del 17 β - estradiol, desencadenando el pico ovulatorio de LH a la mitad del proestro (Freeman, 2006) (Figura 3).

En el diestro, se eleva la secreción de progesterona que prepara al tracto reproductivo para recibir el óvulo fertilizado; si la fertilización no se lleva a cabo, se inicia de nuevo el ciclo ovárico. Cuando se miden los niveles de estradiol secretado por los ovarios en el plasma sanguíneo durante el estro, dichos niveles serán bajos. Al final del proestro, un pico de progestinas (progesterona y 20 alfa dihidrotestosterona) desencadenan la ovulación durante la segunda mitad del proestro y primera mitad del estro, de modo que cuando se llega a la tarde del estro, el nivel de progesterona desciende a un estado basal otra vez. En la región anterior de la glándula pituitaria se lleva a cabo la secreción de varias hormonas que tienen un importante efecto sobre los órganos endocrinos de secreción conocidos como gónadas (ovarios y testículos) de ahí el nombre de gonadotrofinas. Dichas hormonas son la hormona foliculo estimulante (FSH) que participa en la maduración folicular, la hormona luteinizante (LH) que participa en la maduración y mantenimiento del cuerpo lúteo y la hormona prolactina (PRL) que estimula la producción de leche por las glándulas mamarias e influye también en el mantenimiento del cuerpo lúteo. En el caso de la LH los niveles séricos permanecen bajos desde el inicio del estro, (poco después de la ovulación), y hasta la mitad del proestro, donde se incrementa notablemente el nivel en sangre, este incremento rápido es el que induce la ruptura del foliculo y la ovulación, el patrón de secreción de la FSH y de la prolactina es muy similar al de la LH.

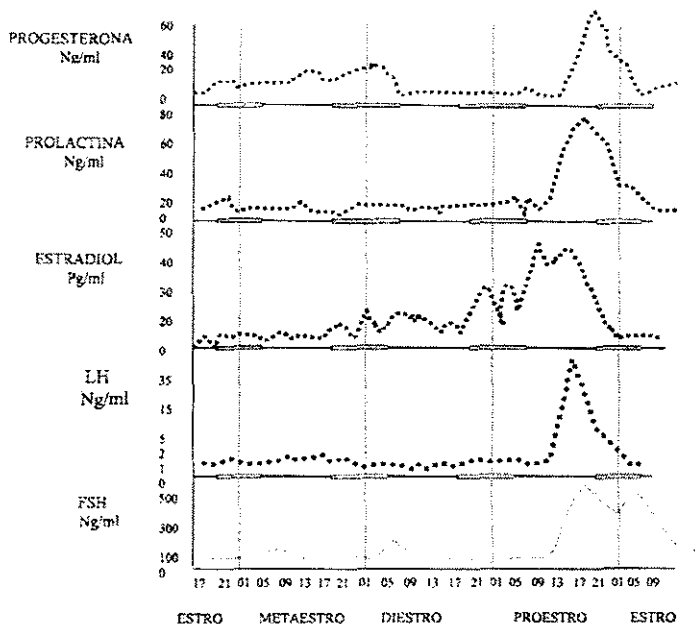


FIGURA 3. Concentraciones de distintas hormonas en el plasma periférico de la ratona en relación al ciclo estral.

Los niveles de hormona luteinizante (LH) en la circulación son bajos en la mañana del estro poco después de la ovulación y así a lo largo del metaestro, diestro y en la mañana o primeras horas del proestro, durante la tarde o las últimas horas del proestro los niveles circulantes de LH se incrementan rápidamente hasta alcanzar concentraciones pico, esta rápida liberación hormonal induce la ruptura del folículo y la ovulación. Con respecto a la hormona folículo estimulante, el patrón es muy similar al de la hormona luteinizante, se observa un incremento simultáneo al de la LH durante el proestro hasta alcanzar concentraciones máximas, que comienzan a declinar durante la mañana del estro. En el caso de la prolactina el patrón sigue siendo muy similar al de la LH, los niveles basales de prolactina se mantienen desde la mañana del estro hasta la tarde del proestro.

Durante el periodo de 4 días que dura el ciclo estral, se observa que en el plasma periférico los niveles de testosterona y androstenediona permanecen bajos durante el estro,

se incrementan en el metaestro y alcanzan un máximo en el proestro, similar a lo que sucede con el estradiol. La similitud de patrones que se ha encontrado sugiere que la secreción de ambos tipos de hormonas, andrógenos y estrógenos son producto de las mismas glándulas: los ovarios, y que la síntesis, secreción y el control de esta variedad de hormonas están interrelacionados.

Cambios conductuales en relación a los diferentes estados reproductivos.

Las hormonas afectan al sistema nervioso de diversas maneras ya sea excitando, inhibiendo o modulando la actividad neuronal de estructuras cerebrales específicas. En la hembra los cambios neurales que resultan de estos cambios hormonales influyen en la conducta de tal manera que se incrementa la probabilidad del apareamiento, y al final, esto tiene influencia en el éxito reproductivo de la especie. (Quadagno y cols., 1972).

Además, las hormonas implicadas con la reproducción cambian la probabilidad de que estímulos específicos provoquen conductas concretas que llevan al organismo a una cópula exitosa, al despliegue de la conducta maternal, etc., esto es, afectan a los sistemas de entrada al intensificar la agudeza, la sensibilidad y la eficacia de los sistemas sensoriales (Numan y cols., 2006).

Por ejemplo, se sabe que las ratas hembra en estro son más activas y menos tímidas que las hembras en diestro, esta diferencia se ha atribuido a los altos niveles circulantes de estrógenos antes del estro (Pfaff y cols., 2006). Se ha observado también que durante el proestro los niveles de ansiedad disminuyen, probablemente por la influencia de hormonas esteroides (Fernández-Guasti y Picazo, 1990). Varios investigadores han sugerido que durante el estro vaginal y conductual hay un incremento en la conducta ambulatoria en campo abierto, lo que se interpreta como una reducción en la ansiedad. Utilizando el paradigma experimental de enterramiento defensivo, que consiste en permitir a las ratas enterrar un alambre a través del cual reciben un choque eléctrico, se ha demostrado una reducción clara en la conducta de enterramiento durante la fase tardía del proestro (Fernández-Guasti y Picazo 1992). También existe evidencia de que los productos ováricos

pueden alterar la agudeza olfatoria y promover la preferencia por olores “biológicamente relevantes” (Melo, 2002).

El anestro incluye a las fases de metaestro y diestro, se caracteriza porque los ovarios y órganos accesorios se encuentran en un reposo relativo y por lo tanto la rata hembra es resistente a los intentos de copular por parte del macho. Durante la primera parte del ciclo o proestro el rechazo por parte de la hembra a los intentos sexuales del macho disminuye progresivamente. Al final del proestro e inicio del estado de estro, la hembra se torna receptiva y permite que ocurra el coito o cópula. Durante estas fases la hembra presenta conductas que se caracterizan por tres aspectos que son: la atractividad, que consiste en aquellas características o cualidades que posee una hembra receptiva, como los cambios en la coloración de la piel perigenital y la producción de secreciones como ferohormonas; la proceptividad, que consiste en conductas que tienen como fin establecer o mantener la actividad sexual, por ejemplo el correteo en zigzag acompañado de movimientos en la cabeza y la receptividad, que consiste en adoptar una postura para facilitar la cópula, denominada lordosis (Figura 4). Esta consiste en arquear la columna para exponer la zona genital, lo que facilita la inserción peneana durante la cópula. Después de la fase de estro la receptividad de la hembra comienza a disminuir progresivamente durante las fases de diestro y metaestro. Este tipo de comportamiento o patrón de conductas es cíclico.

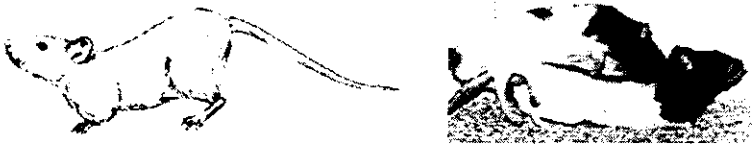


FIGURA 4. Conducta de lordosis en la rata hembra.

Hay evidencia que sugiere el papel de las hormonas en aspectos “emocionales” como los relacionados con la ejecución de respuestas maternas y respuestas a olores que ocurren en la rata postparto. Se ha encontrado que en hembras vírgenes hay una latencia corta de conducta maternal en respuesta a crías ajenas, cuando se encuentran bajo un tratamiento hormonal que imita el patrón hormonal natural que se presenta al final de la gestación y el parto. Dicho patrón hormonal consiste en un periodo inicial alto en concentración de progesterona, seguido por un periodo de baja concentración de la misma y un aumento de estradiol, prolactina y posiblemente oxitocina (Siegel y Rosenblatt, 1975).

Los mecanismos mediante los cuales las hormonas facilitan la expresión de la conducta maternal no se han definido con exactitud. Sin embargo, hay evidencias que sugieren que el animal postparto es diferente conductualmente del animal nulíparo en algunos aspectos, por ejemplo; la hembra primípara es menos evasiva a las crías en comparación con la hembra nulípara, también es menos “tímida” en pruebas de campo abierto, y en presencia de su camada esta menos dispuesta a alejarse ante la llegada de intrusos (Fleming y cols., 1999). Se ha reportado también que la rata postparto que no ha tenido contacto previo con crías, es más atraída por el olor del material del nido que la hembra virgen (Fleming y cols., 1996). Fleming argumenta que para que una hembra interactúe naturalmente con sus crías, debe mantener proximidad con ellos, esto ha sido explicado como una reducción en su respuesta de miedo a la novedad o neofóbica usual ante los nuevos estímulos así como un incremento en la preferencia o atracción por los olores relacionados con las crías (Numan y cols., 2006).

En otro estudio se demostró que el tratamiento con estradiol y progesterona que provoca una rápida respuesta maternal en hembras vírgenes y ovariectomizadas, también tiende a disminuir la “timidez” general de las hembras al incrementar la atracción que provoca en ellas el olor proveniente del nido de una hembra postparto; experimentalmente las ratas tratadas hormonalmente a diferencia del grupo control, muestran una adaptación y salida más rápida desde un ambiente sin iluminación que les parece familiar a un ambiente más grande, nuevo e iluminado; también aumenta la conducta ambulatoria en el campo abierto y permanecen más tiempo en los cuadros inmediatamente más cercanos al material de nido (Fleming y cols., 1989).

En un estudio en donde se observó el efecto de la exposición a hormonas ováricas en la inducción de conducta maternal de ratas histerovarietomizadas en respuesta al contacto con crías; se encontró que las ratas que se encontraban en proestro y las androgenizadas mostraron una rápida activación de la conducta maternal, mientras que las ratas que se encontraban en la fase de diestro expresaron menos las conductas maternas. La rápida activación de la conducta maternal parece depender de estrógeno, en tanto que las concentraciones altas de progesterona inhiben la conducta maternal de ratas androgenizadas que fueron tratadas con gonadotropina coriónica humana.

Tomando en cuenta que sólo un pequeño porcentaje de ratas en diestro-1 realizaron conducta maternal en 48 horas de prueba, parece que en ratas tratadas con estrógeno endógeno la estimulación con crías activa el sistema neural que procesa la expresión de la conducta materna de corta latencia (Siegel y Rosenblatt, 1978).

Cambios Electroencefalográficos en relación al ciclo estral

El ciclo estral resulta de cambios hormonales específicos que tienen influencia sobre aspectos cognitivos, conductuales, perceptuales y emotivos, los cuales se ha descrito se relacionan con cambios en el funcionamiento cerebral.

El análisis de la Actividad Multineuronal (AMN) en el Núcleo Supraquiasmático del Hipotálamo y en el Área Preóptica medial de ratas en libre movimiento revelaron que las frecuencias lentas en grupos de neuronas de estas estructuras eran menores durante el metaestro, sin embargo, se incrementaban durante la noche o al inicio del proestro y alcanzaba los valores más altos durante el estro. También mediante la comparación de la potencia absoluta y relativa en ambos hemisferios cerebrales y correlacionando la actividad de sus frecuencias alfa 1, alfa 2, beta 1 y beta 2, se encontró que entre la potencia absoluta y relativa no se manifestaban diferencias durante el ciclo estral, pero se observó que la potencia absoluta en el hemisferio derecho era significativamente más alto con relación al hemisferio izquierdo en la corteza parietal de ratas (Corsi-Cabrera 1992). El núcleo septal lateral relacionado con conductas motivadas y hedónicas (auto placenteras), así como estados emocionales relacionados con la ansiedad y el miedo, también ha sido estudiado en

este contexto y se ha reportado un aumento en la tasa de disparo de neuronas que conforman este núcleo durante la fase de proestro disminuyendo considerablemente durante la fase de estro y diestro, siendo el rango más bajo durante la fase de metaestro (Contreras y cols., 2000).

Estimulación Auditiva

Si bien se ha demostrado que las conductas sexuales y maternas son conductas multisensoriales debido a que prácticamente todas las modalidades sensoriales modulan el inicio y mantenimiento de estas conductas (Beach, and Jaynes, 1956) también es cierto que algunas modalidades sensoriales son más relevantes o fundamentales que otras (Numan y cols., 2006).

La comunicación auditiva ocurre en todos los tetrápodos así como en algunos peces y ha alcanzado un particular grado de desarrollo en los anuros, aves, y en algunos mamíferos, su éxito evolutivo consiste en su capacidad para revelar la presencia a distancia de individuos de su misma especie (Seebeok, 1977). Las interacciones entre individuos de la misma especie tienen diferentes matices y pueden producir diferentes conductas ya sean de repulsión, agresividad o de proximidad, en todo caso estas respuestas dependen por lo general de la fase reproductiva dado que son reguladas en buena parte por las hormonas (Beach y Young, 1961; Cisneros y Bass, 2003) como el aumento en la movilidad (Quadagno y cols., 1972) lo que se traduce en un aumento en la probabilidad de relacionarse con un posible compañero sexual. En este contexto, la audición es un medio eficaz de orientarse y reconocer a mediana y larga distancia a los individuos de su propia especie (Seebeok, 1977).

Para los roedores, la audición es de suma importancia para su comunicación y sobrevivencia, así como para relacionarse socialmente, de tal forma que en algunas especies se han descubierto intrincados códigos que subyacen en las vocalizaciones emitidas en diferentes condiciones (Holy y Guo, 2005). Además de los chillidos que son emitidos en el rango audible de los humanos, emiten vocalizaciones de alta frecuencia más allá incluso de los 30 kHz, de acuerdo al contexto ambiental o conductual. Si bien la gran mayoría de respuestas conductuales de los roedores depende en gran medida de la estimulación

olfatoria, la estimulación auditiva también juega un importante papel en la modulación conductual. En las ratas las vocalizaciones han sido descritas en al menos dos condiciones que se corresponden con las vocalizaciones aleatorias emitidas por las crías desde el parto donde se ha encontrado que juegan un importante rol en el mantenimiento del nido (Günter, 2005) y las emitidas por los adultos ante los estímulos olfatorios provenientes de individuos del sexo contrario. Lo que sugiere un papel en el cortejo y la crianza (Sales, 1972).

En el estudio de las conductas motivadas se han acuñado términos como el arousal (Strelau, J., 1994). Que se ha definido de manera condensada como: el movimiento hacia, o el alertamiento para, tomar acción desde un estado de inactividad. La característica más importante del sistema nervioso en función del arousal es el permitir una apropiada respuesta motora y autonómica ante las entradas sensoriales, especialmente si estas contienen una relevancia emocional (Numan y cols., 2006). Hebb en su teoría de la motivación ha postulado al sistema del arousal como el responsable de la energía del movimiento, y como tal, la estimulación sensorial jugaría un rol dual en la conducta donde se involucra como “función de marca” para darle una orientación espacial y una respuesta adecuada a la modalidad sensorial estimulada; y como “función de arousal” que provee el requisito neurológico para toda actividad (Hebb, 1955). Más tarde sus investigaciones marcarían la pauta para la investigación del sistema de arousal (Hebb, 1958; Duffy, 1962) señalando las rutas neurales ahora aisladas dentro de los sistemas noradrenérgico, dopaminérgico, serotoninérgico y colinérgico (Robbins y Everitt, 1996). En el contexto de la conducta reproductiva de la rata, se ha mostrado que las vocalizaciones emitidas por los críos sirven como señales de llamado y orientación de la madre hacia el crío; similarmente en el caso de la conducta sexual, las vocalizaciones emitidas por la potencial pareja sexual funcionan como señales de cortejo y orientación (Meissel y Sachs, 1994).

Corteza prefrontal

Anatómicamente la corteza prefrontal es la región cortical con mayor número de proyecciones del núcleo mediodorsal del tálamo. Posee además una amplia gama de

proyecciones hacia otras regiones corticales y subcorticales, recibiendo aferencias sensoriales predominantemente de las áreas somatosensoriales, visual y auditiva de las respectivas áreas corticales de asociación. De esta manera la CPF está involucrada en un gran número de circuitos cortico-subcorticales paralelos que subyacen a sistemas cognitivos, motivo-emocionales y viscerales (Fuster, 2008).

Debido a su crítica ubicación en el cerebro anterior, la CPF ha sido implicada en procesos que median la memoria de trabajo, la motivación, el aprendizaje y ejecución de tareas en orden temporal, selección de estrategias de planeación, monitoreo y modificación del comportamiento secuencial (Fuster J. M., 2008), así como en el procesamiento de todas las modalidades sensoriales y, debido a que también está provista de aferencias viscerales, podría jugar un rol en la evaluación del estado interior-exterior de los organismos (Uylings y cols., 2003).

En los trabajos pioneros que formaron las bases para conocer la regulación neural de la conducta materna encontramos los trabajos de Beach en 1937 y Stone en 1938 que hacían ablaciones del manto cortical que variaban del 1 al 50 % del total de la corteza; el procedimiento era lo suficientemente dramático para afectar la conducta maternal, específicamente la conducta de acarreo, sin que esto se debiera a la falta de capacidad para desplazarse, por lo que se descartaba que el daño a la corteza motora pudiera estar afectando la conducta. Así también, la remoción de áreas mediales de la corteza como la corteza cingulada anterior y posterior, reducía el cuidado maternal, que se observaba primordialmente en la reducción de la conducta de acarreo (Beach, 1937; Stone, 1938). En un interesante trabajo, se demostró también que la inactivación temporal de la CPFm, mediante la administración de tetrodotoxina, se asoció con una dramática reducción de las conductas de acarreo y de agrupación de los críos, efecto que no involucró el componente motor (Febo y cols., 2010).

Aunado a lo anterior, se tienen también evidencias electroencefalográficas de la participación de la CPF en la conducta maternal. En un trabajo previo en nuestro laboratorio, se demostró que la potencia relativa y grado de correlación prefrontal presentaba un patrón característico específico durante el despliegue de las conductas

maternales activas de la rata (acarreo y lamido anogenital) pero no durante las conductas maternales consumatorias o inactivas (echado y lactancia) (Hernández-González y cols., 2005a). En este mismo contexto, se mostró también que sólo en las ratas madre lactantes (y no en hembras vírgenes) se observó un aumento de la correlación interprefrontal durante el olfateo de aserrín proveniente de un nido, pero no durante el olfateo de aserrín proveniente de una caja de hembras (Hernández-González y cols., 2005b). Igualmente, se ha reportado una selectiva activación de esta área cortical en ratas madre durante su experiencia con críos (Febo y cols., 2005), así como un aumento de la expresión de c-fos en la corteza prefrontal de ovejas expuestas al chillido de críos (Numan y cols., 2006).

El valor incentivo de un estímulo se ha propuesto esta mediado por los circuitos límbico-prefrontal, de hecho Rolls y Treves han propuesto que la corteza prefrontal tal vez contribuya a la asignación del valor recompensante o incentivo del estímulo a través de sus conexiones con la amígdala (Rolls, 1999). Al igual que la conducta sexual y como se indicó antes, la conducta maternal tiene un fuerte e implícito componente motivacional de recompensa que ha sido demostrado en pruebas conductuales con el uso de diferentes paradigmas como el laberinto en t o el laberinto elevado (Walf y Frye, 2007).

Núcleo accumbens

Si bien el núcleo accumbens (Acc) se ha descrito como el sitio de integración entre la motivación y la acción motora (interface límbico- motora) (Gruber y cols., 2009), este núcleo está anatómicamente y funcionalmente dividido en un núcleo y una corteza (Di Chiara, 2002). El núcleo es una extensión del estriado dorsal y recibe aferencias glutaminérgicas de la corteza motora, dopaminérgicas de la sustancia nigra, y presenta conexiones de salida hacia el pálido ventral que forma parte de los bucles motores cortico-estriado-pálido-talámicos de carácter extrapiramidal (Mogenson y cols., 1983).

La corteza recibe importantes entradas glutaminérgicas desde el hipocampo y la amígdala centro medial, así como dopaminérgicas desde el tegmento ventral (Brog y cols., 1993). De esta forma la corteza del accumbens recibe aferencias de la corteza prefrontal (infralímbica y prelímbica medial) y la información de salida de la corteza se dirige

también al pálido ventromedial el cual inerva el núcleo dorsomedial del tálamo, este núcleo envía fibras hacia la corteza prefrontal (prelímico dorsal) la cual a su vez proyecta fibras glutaminérgicas al núcleo del accumbens (Heimery cols., 1991). Así mismo la corteza del accumbens recibe una importante entrada neuromodulatoria, tanto dopaminérgica desde el área tegmental-ventral como serotoninérgica desde el rafe medial, que parece desempeñar un papel relevante en el control de flujo de información (Heimer y cols., 1991). Por este patrón de conexión y la situación crítica de la corteza prefrontal se cree que el proceso de integración límbico-motora tiene lugar principalmente en la corteza del accumbens. Existen evidencias que señalan al núcleo accumbens como parte del sistema de recompensa y búsqueda de los estímulos incentivos, referido en el sistema dopaminérgico meso-accumbens, así como en la anticipación de recompensa (Gruber y cols., 2009).

Anatómicamente se localiza dentro del estriado ventral y es definido como una interfase neural, donde la información procesada en estructuras cortico-límbicas es integrada y retransmitida al sistema motor (Zahm, S 1999). Se piensa que juega un papel crítico en la selección y ejecución de conductas adaptativas, por ejemplo, las lesiones citotóxicas de esta estructura causan un decremento en la actividad de exploración en la rata, así como en la locomoción y componente motivacional de conductas específicas como la alimentación entre otras (Numan y cols., 2006).

Tanto el núcleo y la corteza del Acc, han sido ampliamente estudiadas para definir su funcionamiento particular y las implicaciones en diferentes conductas. En la conducta materna la corteza del Acc se ha encontrado que participa directamente en el control de las conductas activas (Acarreo, lamido anogenital de críos y formación del nido); de manera más específica se ha encontrado que juega un papel crítico en la consolidación de la experiencia materna y las lesiones en esta estructura interrumpen por completo tal proceso mnemónico. Estas lesiones incrementan significativamente el tiempo total de acarreo de todos los críos pero no afectan a otros componentes de la conducta materna (Li y Fleming., 2003). La corteza del Acc tiene conexiones recíprocas con otras estructuras de los circuitos de la conducta maternal, tales como el área tegmental ventral el núcleo de la stria terminalis, la amígdala y la sustancia gris periacueductal (PAG) (Brog y cols., 1993). La corteza del núcleo Acc también juega un papel importante en los procesos motivacionales de la conducta sexual, por ejemplo, se ha mostrado que su lesión disminuye la ocurrencia

de erecciones peneanas psicogénicas inducidas en respuesta a los estímulos emitidos por ratas hembra receptivas (Liu y cols., 1998). En lo que se refiere al núcleo del Acc, se ha encontrado que tiene mayor implicación en el procesamiento motor y tiene proyecciones hacia el globo pálido y el área preóptica lateral (Di Chiara, 2002).

En estudios donde se lesiona el Acc antes de la gestación, las hembras presentan lactancia deficiente hacia los críos, un comportamiento maternal de mala calidad (medido por el índice de muerte de los críos) y canibalismo, también encontraron que mediante lesiones en el Acc, se afectaba principalmente la experiencia basada en la facilitación del inicio de la conducta materna (experiencia materna) (Numan y cols., 2006). Evidencias dadas por manipulaciones neuroquímicas del Acc, muestran que éste principalmente se involucra en el control de los componentes activos de la conducta materna (acarreo de los críos, lamido de los críos y construcción del nido), posiblemente a través de su papel en la motivación materna. Esta aseveración concuerda con el papel general del Acc que participa en la motivación y atención (Numan y cols., 2006).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA. .

Se ha descrito que la percepción y umbral de detección de los diferentes estímulos sensoriales son sensibles a los cambios hormonales asociados con el ciclo estral de la rata. Los estímulos auditivos juegan un papel importante en la interacción sexual así como en la interacción madre-cría; de hecho, se sabe que la activación cerebral de las madres cambia en respuesta a la audición de chillidos de sus críos. Tanto la corteza prefrontal como el núcleo accumbens han sido asociados con el procesamiento y asignación del valor incentivo de los estímulos, sin embargo no existe información sobre electroencefalografía con respecto a la interacción de cambios hormonales sobre la sensibilidad auditiva durante las fases del ciclo estral, por lo que resulta importante caracterizar la actividad electroencefalográfica de la corteza prefrontal medial y del núcleo accumbens durante la audición de chillido de crías, o de hembras y machos adultos durante las fases estrales de estro y diestro en hembras vírgenes.

OBJETIVO GENERAL

Determinar si la audición de chillidos provenientes de crías, o de hembras y machos adultos se asocia con cambios electroencefalográficos característicos en la corteza prefrontal medial y la corteza del núcleo accumbens durante las etapas diestro y estro de ratas hembra vírgenes.

OBJETIVOS PARTICULARES

1.1 Caracterizar la actividad electroencefalográfica de la corteza prefrontal medial y de la corteza del núcleo accumbens de ratas hembra vírgenes en estro durante la audición de chillidos provenientes de crías, o de hembras y machos adultos.

1.2 Caracterizar la actividad electroencefalográfica de la corteza prefrontal medial y de la corteza del núcleo accumbens de ratas hembra vírgenes en diestro durante la audición de chillidos provenientes de crías, o de hembras y machos adultos.

HIPÓTESIS GENERAL

La actividad electroencefalográfica de la corteza prefrontal medial y del núcleo accumbens presentará cambios característicos ante estímulos auditivos de crías, hembras y machos adultos en relación al ciclo estral de la rata hembra virgen.

HIPÓTESIS ESPECÍFICAS

1.1 La actividad electroencefalográfica de la corteza prefrontal medial y del núcleo accumbens, de las ratas en estro, presentará las principales diferencias ante el chillido de machos adultos respecto al chillido de crías.

1.2 La actividad electroencefalográfica de la corteza prefrontal medial y del núcleo accumbens de las ratas en diestro presentará las principales diferencias ante el chillido de crías respecto al chillido de hembras y machos adultos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Sujetos

Se utilizaron ratas hembra Wistar, vírgenes, de entre 80 y 100 días de edad con un peso de entre 260 y 300gr. Estas fueron mantenidas en el bioterio, bajo un ciclo luz-obscuridad invertido, hospedadas individualmente en cajas-habitación de acrílico con una cama de aserrín y con agua y comida ad-libitum.

Implante de electrodos

Las ratas hembra vírgenes fueron implantadas a permanencia con 4 electrodos de acero inoxidable aislados en toda su extensión excepto en la punta. Tales electrodos fueron colocados bilateralmente en el área prelímbica (P2) de la corteza prefrontal (+3.17mm de bregma, profundidad de -3mm desde la cara interna del cráneo y +7.8 mm desde la línea interaural) y en la corteza del núcleo accumbens (+1.17mm desde bregma, a una profundidad de -5mm desde el cráneo, y a +5.8mm desde la línea interaural), según el atlas estereotáxico de Paxinos y Watson (2005) (Figura 5). Se colocaron también dos tornillos de acero inoxidable de forma bilateral contrapuesta, soldados a un cable de cobre que al igual que los electrodos fueron soldados a un conector “hembra”. Todo el sistema fue fijado al cráneo de la rata con acrílico dental.

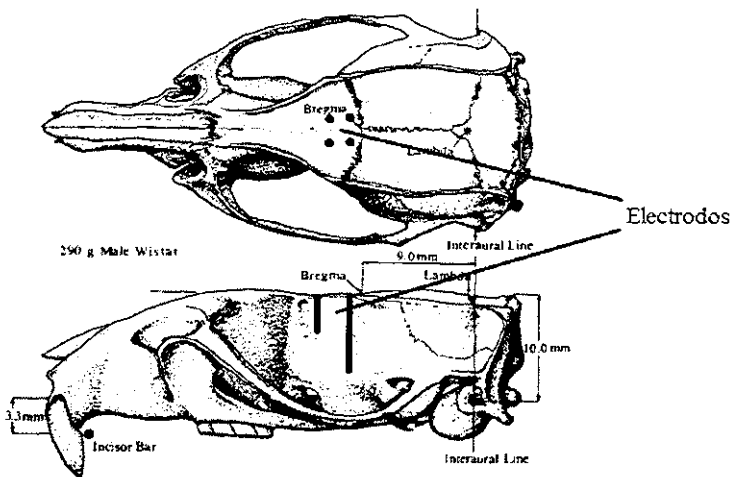


FIGURA 5. Zona de implante de electrodos. Modificado de Paxinos y Watson, 2005.

Después de un periodo de recuperación de 1 semana, se determinó mediante frotis vaginales la fase del ciclo estral en que se encontraba cada rata y, específicamente cuando las hembras estaban en la fase de Proestro-Estro (P-E) o Diestro (D), se procedió a efectuar el primero de dos registros electroencefalográficos durante las diferentes condiciones experimentales.

Registros electroencefalográficos

Un día antes de iniciar los experimentos, cada rata se llevó al cuarto de registro (sonoamortiguado y semi-oscuro) y dentro de su misma caja-habitación, fue conectada al polígrafo durante al menos media hora para que se habituara a las condiciones. El día del experimento, cada rata permaneció en el cuarto de registro por al menos media hora antes y luego se conectó al polígrafo, para después de un periodo de 10 minutos de habituación, registrar la actividad EEG basal durante 3 minutos en estado vigilia-quieto.

Posteriormente, se registró la actividad EEG durante la exposición contrabalanceada a 3 diferentes estímulos auditivos, los cuales fueron reproducciones de: 1) chillido audible de crías de 2-8 días de edad, 2) de hembras adultas y de 3) machos adultos. Los estímulos auditivos fueron grabaciones realizadas en cabinas sonoamortiguadas con un micrófono de amplio espectro de chillidos generados mediante la manipulación de los animales, los cuales estuvieron sujetos por uno de los experimentadores con una franela y manipulados para que emitieran chillidos audibles. Las bocinas que reproducen frecuencias de hasta 50 KHz fueron colocadas a una distancia de 50 cm de la caja de registro. El registro EEG durante la exposición de los tres diferentes estímulos auditivos se efectuó, como se mencionó anteriormente, en las dos fases estrales de la rata, en Estro y en Diestro. El tiempo de exposición a cada estímulo auditivo, fue de 3 minutos (duración de la grabación) y se dio un intervalo de 5 minutos entre cada estímulo para eliminar contaminación de la estimulación previa.

Los registros electroencefalográficos fueron efectuados siempre entre las 14:00 horas y las 17:00hrs en un cuarto sonoamortiguado y semiobscurito, a 23°C. Los registros se llevaron a cabo con un cable plano de 6 vías conectado a un polígrafo Grass modelo 7B que permitió filtrar y amplificar la señal que fue transmitida a un convertidor análogo-digital de 8 canales (modelo PCL-812) el cual sirvió como interfase hacia una computadora en la cual se tenían ya instalados los programas computacionales elaborados ex-profeso (Hernández-González y cols., 1997). Se hizo uso específico del programa CAPTUEST2 (Guevara, 2011) que graficó en tiempo real la señal, permitiéndonos capturar la señal EEG al oprimir un botón del teclado correspondiente del 1 al 8 (cada botón corresponde a una conducta especificada). Al presionar un número durante alguna condición, se capturó la actividad EEG a tiempo continuo hasta que se oprimía otro número para dar lugar a la captura de señal EEG de otra condición. La captura terminaba al oprimir la tecla 9. El programa CAPTUEST2 permite iniciar la captura de las señales EEG al mismo tiempo que la reproducción de los sonidos cuya duración fue de 3 minutos obteniendo una cantidad de 90 segmentos por estímulo y de 60 segmentos de basal en estado de vigilia-quieto. Cada segmento con una duración de 2 segundos y una resolución de 1024 puntos escalares y una frecuencia de captura de 512hz.

Cada rata fue sometida a dos registros electroencefalográficos, correspondientes a las fases de proestro-estro y diestro, también en forma contrabalanceada. Al terminar todos los registros, las ratas fueron sacrificadas y se procedió a hacer la determinación histológica.

Análisis histológico

La localización de la punta de electrodos en las estructuras cerebrales de interés se verificó de la siguiente manera. Cada sujeto recibió una dosis letal de pentobarbital y se perfundió por vía intracardiaca con una solución de formalina al 10%. Veinticuatro horas más tarde se extrajeron los cerebros y permanecieron al menos por 40 h en la misma solución. Posteriormente se incluyeron en parafina y se hicieron los cortes coronales de 50 μm de grosor en un micrótopo. Los cortes se colocaron en portaobjetos y fueron teñidos con violeta de cresilo para la obtención de fotografías amplificadas y posterior comparación anatómica tomando como base el atlas de Paxinos y Watson (1997).

Análisis Estadístico

Los datos EEG fueron sometidos a un análisis ANDEVA bajo un modelo experimental mixto de parcelas divididas, donde se compararon cada una de las 4 condiciones (basal y los tres estímulos auditivos) por cada etapa reproductiva del ciclo estral (cuadro 1).

CUADRO 1. Diseño experimental de comparaciones estadísticas.

	Basal	Crías	Hembras	Machos	
Diestro	1	2	3	4	A1
Estro	5	6	7	8	A2
	B1	B2	B3	B4	

Se analizaron 4 diferentes parámetros EEG: potencia absoluta (PA), potencia relativa (PR), correlación interhemisférica y correlación intrahemisférica por cada una de las tres bandas EEG analizadas: 4-7 Hz, 8-14 Hz y 14-30 Hz.

Resultados

La muestra final consistió de 8 ratas hembras las cuales cumplieron al 100% los criterios de inclusión. En todas ellas, se confirmó la ubicación adecuada de la punta de los electrodos de manera bilateral tanto en la CPF como en la corteza del núcleo accumbens.

Potencia absoluta (PA)

Las hembras en la etapa de diestro se caracterizaron por presentar una menor PA de la banda de 8-13 Hz ($t = 2.440$; $p = 0.04477$) en la CPF izquierda ante el chillido de machos respecto a la basal (Figura 6A). Además, y de manera muy consistente, ante el chillido de crías presentaron una mayor PA de la banda de 4-7 Hz respecto al chillido de machos en la CPF derecha ($t = 3.291$; $p = 0.01328$) (Fig. 6 C), así como en el Acc de ambos hemisferios. Izquierdo ($t = 3.034$; $p = 0.01901$) y derecho ($t = 4.228$; $p = 0.00390$) (Figuras 7A y 7C).

En la fase de estro, un similar decremento de la PA de la banda de 4-7 Hz se encontró en la CPF izquierda ante el chillido de machos respecto a basal ($t = 2.713$; $p = 0.03009$) (Figura 6B), así como en la banda de 14-30 Hz respecto al chillido de hembras en la CPF derecha ($t = 3.051$; $p = 0.01855$) (Figura 6D). No hubo diferencias en el Acc durante esta fase estral.

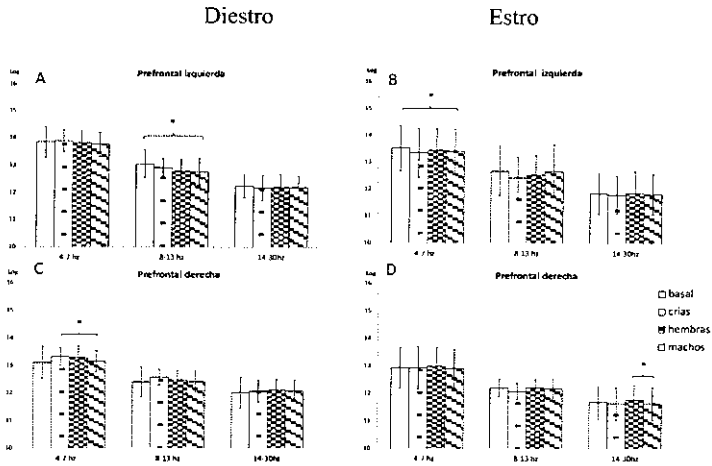


FIGURA 6. Potencia absoluta (log) de las diferentes bandas EEG registradas bilateralmente en la corteza prefrontal durante las diferentes condiciones en las fases estrales analizadas en ratas hembra vírgenes.

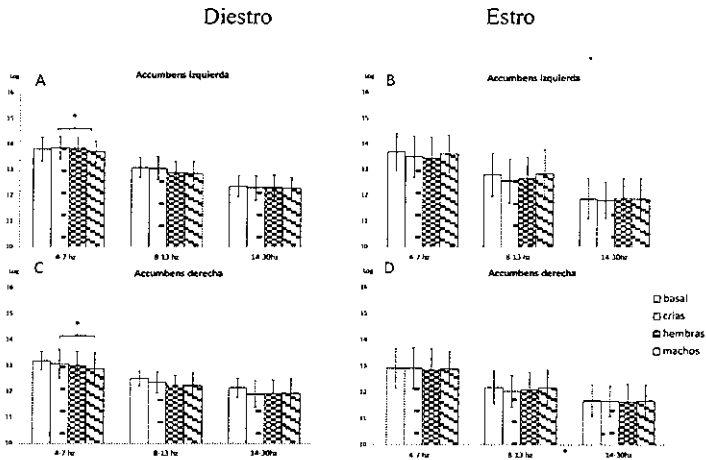


FIGURA 7. Potencia absoluta (log) de las diferentes bandas EEG registradas bilateralmente en la corteza del núcleo accumbens durante las diferentes condiciones en las fases estrales analizadas en ratas hembra vírgenes.

Potencia Relativa (PR)

No se encontraron diferencias en la corteza prefrontal en ninguna de las fases estrales (Figura 8). En las ratas en diestro, sólo en el Acc derecho (Figura 9D) de las hembras que escucharon el chillido de machos se observó una mayor PR de la banda de 14-30 Hz respecto al chillido de crías ($t = 2.532$; $p = 0.03910$).

Tanto en el Acc izquierdo ($t = -2.524$; $p = 0.03957$) como derecho ($t = -2.797$; $p = 0.02665$) de las ratas en estro se encontró una menor PR de la banda de 8-13 Hz durante el chillido de crías respecto al chillido de hembras (Figuras 9B y 9D), además de un aumento de la PR de la banda de 4-7 Hz durante el chillido de crías respecto al chillido de hembras sólo en el Acc izquierdo ($t = 2.940$; $p = 0.02170$) (Figura 9C).

Se encontraron además importantes interacciones entre fases estrales sólo en relación al chillido de machos. Tanto en el Acc izquierdo ($t = 3.279$; $p = 0.01351$) (Figuras 9A y 9C) como en el derecho ($t = -3.326$; $p = 0.01266$) (Figuras 9B y 9D) de las ratas hembra, al escuchar el chillido de machos presentaron, durante el estro, una menor PR de la banda de frecuencias rápidas (14-30 Hz) respecto a la etapa de diestro.

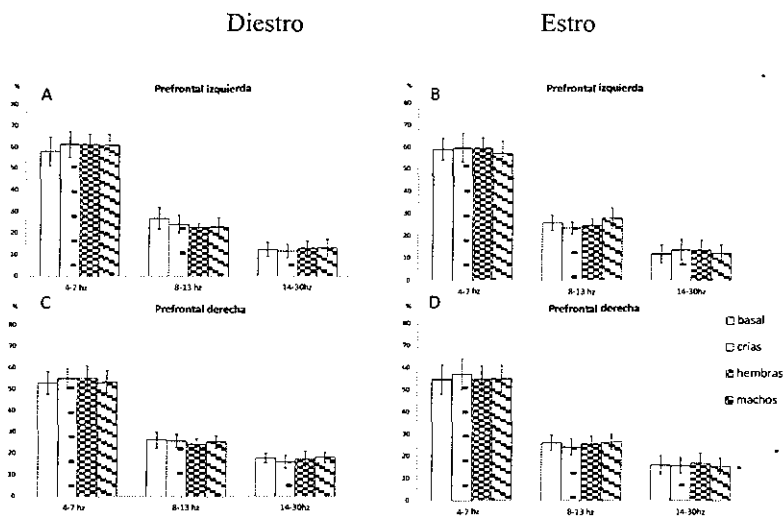


FIGURA 8. Potencia relativa (%) de las diferentes bandas EEG registradas bilateralmente en la corteza prefrontal durante las diferentes condiciones en las fases estrales analizadas en ratas hembra vírgenes.

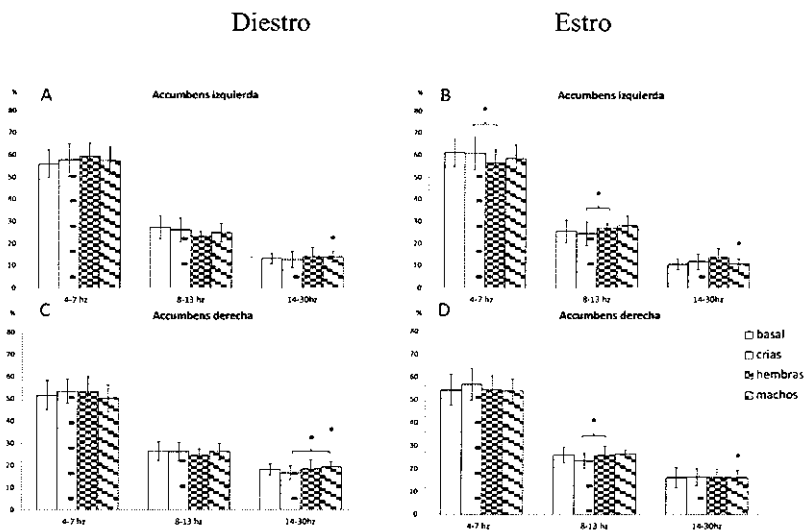


FIGURA 9. Potencia relativa (%) de las diferentes bandas EEG registradas bilateralmente en la corteza del núcleo Accumbens durante las diferentes condiciones en las fases estrales analizadas en ratas hembra vírgenes.

Correlación Interhemisférica

Sólo durante la fase de estro, las ratas hembra presentaron una mayor correlación interhemisférica prefrontal (entre CPF izquierda y CPF derecha) de la banda de 8-13 Hz durante el chillido de machos respecto al chillido de crías ($t = -2.802$; $p = 0.02645$) (Figura 10B). Un similar comportamiento de la correlación entre Acc izquierdo y Acc derecho fue presentado por las bandas de 4-7 Hz ($t = -2.587$; $p = 0.03610$) y 8-13 Hz ($t = -2.966$; $p = 0.02092$), la cual aumentó durante el chillido de machos respecto al chillido de crías (Figura 10D).

Además, una importante interacción entre fases fue detectada, ya que durante el chillido de machos las ratas en estro presentaron una mayor correlación entre cortezas prefrontales en la banda de 8-13 Hz respecto a la etapa de diestro ($t = -3.066$; $p = 0.01817$) (Figuras 10A y 10B).

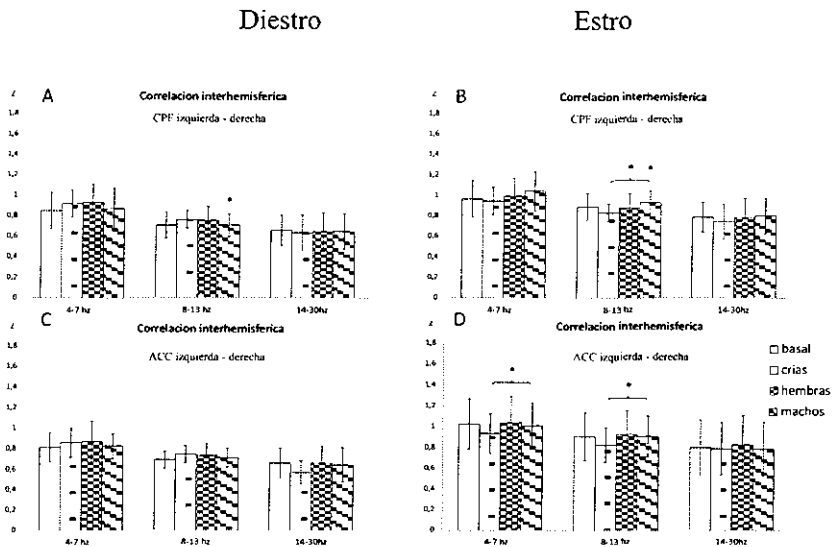


FIGURA 10. Correlación interhemisférica (en z) de las diferentes bandas EEG durante las diferentes condiciones en las fases estrales analizadas en ratas hembra virgenes.

Correlación Intrahemisférica

Sólo las ratas en estro se caracterizaron por presentar una mayor correlación intrahemisférica (entre CPF y Acc) de la banda de 8-13 Hz durante el chillido de machos respecto al chillido de crías tanto en el hemisferio izquierdo ($t = -3.592$; $p = 0.00883$) (Figura 11B) como en el derecho ($t = -2.395$; $p = 0.04781$) (Figura 6D).

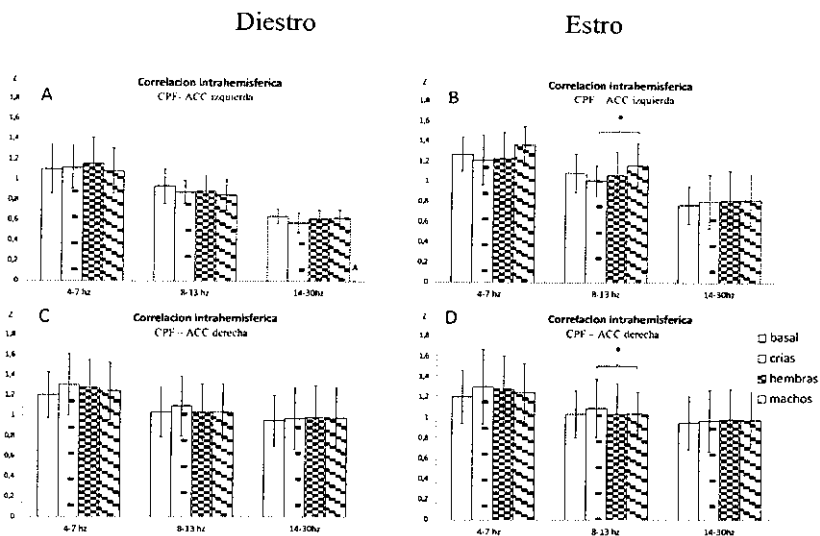


FIGURA 11. Correlación intrahemisférica de las diferentes bandas EEG registradas durante las diferentes condiciones en las dos fases estrales analizadas en ratas hembra vírgenes.

DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio muestran que la actividad electroencefalográfica, así como la correlación entre la corteza prefrontal medial y la corteza del núcleo accumbens presentaron cambios característicos en respuesta a los estímulos auditivos, los cuales fueron dependientes de la fase estral en que se encontraba la rata hembra. Más aún, ambas estructuras presentaron una respuesta EEG diferencial ante los diferentes estímulos auditivos emitidos por crías, así como por machos o hembras adultas.

Los datos EEG obtenidos coinciden con otros estudios en los cuales se ha reportado que la funcionalidad cerebral cambia en relación al ciclo estral (Contreras y cols., 2000; Corsi Cabrera y cols., 1992) y muestran además que la sensibilidad de ambas estructuras, las cuales forman parte del sistema dopaminérgico mesolímbico, varía dependiendo del tipo de estímulo auditivo y de la fase del ciclo estral en que se encuentre la rata.

El sistema dopaminérgico mesocorticolímbico se origina en las células del área tegmental ventral (ATV) que proyectan a través del fascículo medial del cerebro anterior al Acc, tubérculo olfatorio, corteza prefrontal y amígdala. Este circuito también incluye conexiones con el hipotálamo y aferentes al Acc desde corteza límbica, corteza olfatoria y especialmente amígdala (Wise, 1990). La mayoría de las estructuras que conforman al circuito mesocorticolímbico forman parte también del denominado sistema recompensante o sistema de reforzamiento, el cual implica a aquellas estructuras cerebrales en las cuales es capaz de inducirse la conducta de auto-estimulación y que participan de manera importante en el procesamiento y asignación del valor incentivo de los estímulos para inducir o mantener los estados motivo-emocionales dirigidos a una meta (Wise, 1990).

Tanto la conducta sexual como la maternal son conductas motivadas que, a diferencia de las conductas motivadas primarias (aquellas de las que depende la sobrevivencia del individuo, como comer o beber), no resultan de deficiencias fisiológicas, sino que en mucho son inducidas por la detección de estímulos externos relacionados con una potencial pareja sexual o seres inmaduros que requieren de cuidado. Las señales sensoriales emitidas por la potencial pareja sexual o la cría, constituyen como un todo el estímulo incentivo, conformado por las modalidades olfatorias, auditivas, visuales, somatosensoriales e incluso gustativas. Tales estímulos deben ser primero detectados y

posteriormente procesados a nivel del sistema nervioso central para que sean adecuadamente percibidos como incentivos potencialmente recompensantes.

Para que este procesamiento se lleve a cabo, es necesario que en el organismo se cumplan ciertas condiciones fisiológicas y hormonales que propicien y permitan la adecuada percepción y reconocimiento de las señales sensoriales asociadas con recompensa sexual y/o maternal.

En este trabajo, se encontró que la actividad EEG tanto de la CPF como del accumbens presentó los principales cambios en relación al chillido de críos y al chillido de machos adultos, mientras que en relación al chillido de hembras prácticamente no hubieron diferencias en ninguna de las fases estrales respecto a los demás estímulos, lo que pudiera asociarse con la menor relevancia que representó para las hembras vírgenes el escuchar el chillido de otras hembras.

La falta de evidencias bibliográficas sobre la funcionalidad EEG ante estímulos auditivos en estas estructuras es una gran limitante para la discusión, sin embargo, trataremos de establecer algunas interpretaciones. Las ratas en diestro se caracterizaron por presentar tanto en la CPF como en el Acc una mayor PA de la banda de 4-7 Hz y una menor PR de la banda de 14-30 Hz durante el chillido de crías respecto al chillido de machos, lo que evidencia la diferente sensibilidad electroencefalográfica de la CPF y del Acc a los estímulos auditivos relacionados con la reproducción. En trabajos anteriores, se ha mostrado que la menor prevalencia de frecuencias lentas y la mayor proporción de frecuencias rápidas se asocian con un estado de activación o de alerta (Vanderwolf, 1969; 1990; 1992), la cual probablemente resultó de la audición de los chillidos de los machos. Asimismo, se ha descrito que ratas histerovarietomizadas que se encuentran en proestro y ratas androgenizadas muestran una rápida activación de la conducta maternal, mientras que las ratas que se encuentran en la fase de diestro expresan menos las conductas maternas en respuesta a la exposición continua de críos.

De hecho, en los trabajos de sensibilización maternal, se ha descrito que las ratas en proestro se sensibilizan más rápidamente que las ratas en diestro, así, es probable que los cambios EEG asociados al chillido de críos en las ratas en diestro se asocien con los procesos inhibitorios de la conducta maternal, los cuales hacen más difícil la ocurrencia de respuestas de cuidado hacia los críos (Siegel y Rosenblatt, 1975).

A diferencia del diestro, durante el estro las ratas vírgenes presentaron sólo en el Acc tanto izquierdo como derecho una menor PR de la banda de 8-13 Hz durante el chillido de crías respecto al chillido de hembras, lo cual pudiera asociarse con la mayor atractividad o relevancia que representa el chillido de crías para las hembras vírgenes en esta fase estral, incrementando la probabilidad de que se induzca más fácilmente la conducta maternal.

Esta diferenciación electroencefalográfica de los estímulos auditivos emitidos por crías y machos, también se evidenció en el grado de acoplamiento entre la CPF y el Acc, pero de manera particular, sólo en la etapa de estro.

Durante el chillido de crías las ratas en etapa de estro presentaron una menor correlación interhemisférica prefrontal de la banda de 8-13 Hz así como una menor correlación interhemisférica entre accumbens izquierdo y derecho de la banda de 4-7 y de 8-13 Hz respecto al chillido de machos. Un decremento similar se observó también en la correlación intrahemisférica (entre CPF y Acc de ambos hemisferios, izquierdo y derecho) en la banda de 8-13 Hz durante el chillido de crías respecto al chillido de machos. Así, es probable que este mayor grado de acoplamiento entre la CPF y el Acc izquierdo y derecho que se manifestó ante el chillido de machos se asocie con la mayor sensibilidad y receptividad de la hembra a los estímulos auditivos emitidos por los machos, aspectos conductuales que son característicos de esta etapa del ciclo estral.

Esta sugerencia se fundamenta aún más por la interacción encontrada entre fases estrales, ya que sólo en relación al chillido de machos, se encontró que las ratas en estro presentaron una menor PR de la banda de 14-30 Hz respecto a la etapa de diestro, similarmente, una menor correlación interprefrontal de la banda de 8-13 Hz se asoció con el chillido de machos en las ratas en estro, respecto a las que estaban en diestro. El hecho de que durante el estro se haya presentado una menor correlación entre las cortezas prefrontales no quiere decir que éstas participen menos en el procesamiento de los estímulos auditivos emitidos por los machos, sino simplemente que están funcionando de manera independiente, lo cual probablemente sea un requisito funcional para que en esta etapa estral la rata hembra sea más sensible y receptiva a los estímulos emitidos por el macho.

Diferentes estudios han mostrado que al igual que en la mujer, en la rata también se presenta una relación entre los cambios hormonales y su efecto sobre aspectos cognitivos, perceptuales, motivacionales y emocionales. Fernández-Guasti y Picazo (1990) reportaron

cambios en el nivel de ansiedad en ratas hembras durante las diferentes fases del ciclo estral. Hay evidencias de que durante el estro vaginal y conductual hay un incremento en la conducta ambulatoria en campo abierto y que el aprendizaje medido como evasión condicionada se altera significativamente durante la fase preovulatoria de ratas. Se ha reportado también que ratas madre lactantes muestran una mayor “sensibilidad” a estímulos sensoriales relacionados con la conducta maternal como son las vocalizaciones ultrasónicas o el olor de las crías, muestran una mayor agresión hacia los intrusos que acechan la camada (Fleming y col., 1989) y muestran menor timidez o miedo para adentrarse a laberintos complicados en busca de sus crías (Hard y Hansen, 1985). Así, los datos EEG reportados en este trabajo ofrecen un sustento y datos objetivos de que los cambios conductuales durante el ciclo estral de la rata, reportados en los diferentes trabajos mencionados, resultan de cambios específicos en la funcionalidad cerebral.

Existen evidencias de que los roedores producen vocalizaciones ultrasónicas que son especialmente emitidas por los machos cuando son introducidos en espacios novedosos (Sales, 2009), en relación a la conducta copulatoria, en las crías al nacer y durante los primeros días de vida, así como en la rata madre (Haack, 1983). Sin embargo poco se ha estudiado sobre los cambios electroencefalográficos producidos ante los estímulos auditivos. Así, los datos EEG presentados en este estudio, apoyan la propuesta de que la CPF juega un papel crítico en la asignación del valor incentivo de los estímulos, la motivación y el orden temporal de eventos (Fuster 1997), en tanto que el Acc funciona como centro integrador y de procesamiento de los estímulos emitidos a distancia, tal como ha sido propuesto en otros trabajos (Liu y cols., 1998).

CONCLUSIONES

1. La sensibilidad de la actividad electroencefalográfica de la CPF y del Acc a los estímulos auditivos emitidos por crías o machos adultos varía dependiendo de la fase estral en que se encuentre la rata hembra virgen.
2. En la etapa de diestro, la actividad EEG de la CPF y del Acc se caracterizó por presentar una mayor PA de la banda de 4-7 Hz y una menor PR de la banda de 14-30 Hz durante el chillido de crías respecto al chillido de machos, en tanto que durante el proestro-estro las ratas vírgenes presentaron sólo en el Acc tanto izquierdo como derecho una menor PR de la banda de 8-13 Hz durante el chillido de crías.
3. Es probable que estos cambios EEG en relación a los chillidos de crías y machos adultos, característicos de cada fase estral, se asocien con un estado de activación o de alerta de las ratas en diestro ante el chillido de machos así como con una mayor atraktividad o relevancia que representa el chillido de crías para las hembras vírgenes en estro, incrementando la probabilidad de que se induzca más fácilmente la conducta maternal.
4. Esta diferenciación electroencefalográfica de los estímulos auditivos emitidos por crías y machos, también se evidenció en el grado de acoplamiento entre la CPF y el Acc, pero de manera particular, sólo en las ratas en etapa de estro.
5. Es probable que el mayor grado de acoplamiento entre la CPF y el Acc izquierdo y derecho que se manifestó ante el chillido de machos se asocie con la mayor sensibilidad y receptividad de la hembra a los estímulos auditivos emitidos por los machos, aspectos conductuales que son característicos de esta etapa del ciclo estral.

REFERENCIAS

- Ágmo, A. (1999). Sexual motivation. An inquiry into events determinating the occurrence of sexual behavior. *Behavioral Brain Research*. 105 129–150.
- Brady, A. M. and O'Donnell P. (2004). Dopaminergic modulation of prefrontal cortical input to nucleus accumbens neurons in vivo. *The Journal of Neuroscience*. 24 (5):1040-1049.
- Beach, F. A. (1937). The neural basis of innate behavior: I. The effects of cortical lesions upon the maternal behavior pattern in the rat. *Journal of Comparative Psychology*. Washington, DC. 24, 393–436
- Beach, F. A. (1948). *Hormones and Behavior*. Hoeber, New York.
- Beach, F. A. and Jaynes, J. (1956). Studies of maternal retrieving in rats: III. Sensory cues involved in the lactating female's response to her young. *Behaviour* 10, 104–125.
- Brog, J. S. Salyapongse A., Deutch A. Y., Zahm D. S. (1993). The patterns of afferent innervation of the core and shell in the accumbens part of the rat ventral striatum: immunohistochemical detection of retrogradely transported fluoro-gold. *Journal of Comparative Neurology*. Dec 8; 338 (2):255-78.
- Cervantes M., Ruelas R., Alcalá V. (1992). EEG signs of "Relaxation Behavior" during breast feeding in a nursing woman. *Archives of Medical Research*. 23:123-127.
- Corsi-Cabrera M., Juárez J., Ponce-de-León M., Ramos J., Velázquez P.N. (1992). EEG activity during estral cycle in the rat. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*. 83:265-269.

Contreras M.C., Molina M., Saavedra M., Martínez-Mota L. (2000). Lateral septal neuronal firing rate increases during proestrus-estrus in the rat. *Physiology and Behaviour*. 68:279-284.

Di Chiara G. (2002). Nucleus accumbens shell and core dopamine: differential role in behavior and addiction. *Behavioral and Brain research*. Amsterdam. Dec 2; 137(1-2):75-114.

Duffy, E. (1962). *Activation and Behavior*. New York, Wiley.

Febo, M., Numan, M., Ferris, C. (2005). Functional Magnetic Resonance Imaging Shows Oxytocin Activates Brain Regions Associated with Mother–Pup Bonding during Suckling. *Journal of Neuroscience*. 25:11637–11644.

Febo, M., Felix-Ortiz, A.C., Johnson, T.R. (2010). Inactivation or inhibition of neuronal activity in the medial prefrontal cortex largely reduces pup retrieval and grouping in maternal rats. *Brain Research*. Amsterdam. 1325: 77-88.

Fernández-Guasti A., Picazo O. (1990). The actions of diazepam and serotonergic anxiolytics vary according to the gender and the estrous cycle phase. *Pharmacology Biochemistry Behavior*. 37:77-81.

Fernández-Guasti A. Picazo O. (1992). Changes in burying behavior during the estrous cycle: effects of estrogen and progesterone. *Psychoneuroendocrinology*. 17.6: 681-689.

Fleming A.S., Cheung U.S., Myhal N., Kessler Z. (1989). Effects of maternal hormones on “timidity” and attraction to pup-related odors in females. *Physiology and Behaviour*. 46: 449-453.

Fleming, A. S., Morgan, H. D., and Walsh, C. (1996). Experiential factors in postpartum regulation of maternal care. In *Advances in the Study of Behavior* (J. S. Rosenblatt and C. T. Snowdon, Eds.), Vol. 25, pp. 295–332. Elsevier Academic Press, San Diego.

Fleming A.S., O'Day D.H., Kraemer G.W., 1999 Neurobiology of mother–infant interactions: experience and central nervous system plasticity across development and generations. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 23 673–685.

Freeman M. E. (2006). Neuroendocrine control of the ovarian cycle of the rat. En Knobil, Neill's *Physiology of reproduction*. Elsevier Academic Press San Diego. P 2327-2367.

Fuster J. M. (2008). *The prefrontal cortex*. Elsevier Academic Press. San Diego.

Gruber A.J., Hussain R.J., O'Donnell P. (2009). The nucleus accumbens: A switchboard for goal-Directed behaviors. *PLoS ONE* 4(4): e5062.

Heape, W. (1900). The “sexual season” of mammals and the relation of the “pro-estrus” to menstruation. *Quarterly Journal Microscopical Sciences*. 44, 1–70.

Hebb, D. O. (1955). Drives and the C. N. S. *Psychological Review*. Washington, DC. 62, 243–254.

Hebb, D. O. (1958). *A Textbook of Psychology*. WB Saunders, Philadelphia.

Heimer L., Zahm 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 (1):89-125.

Hernández-González, M. (2002). Aspectos motivacionales de la conducta sexual. En *Motivación animal y humana*. Ed. Manual moderno. P 127- 152

Hernández González M. (1996). Actividad eléctrica del área tegmental ventral y de la región locomotora mesencefálica durante la conducta copulatoria de la rata macho. Tesis de doctorado. Centro de neurobiología UNAM.

Hernández-González, M., Navarro-Meza, M., Prieto-Beracoechea, C.A. and Guevara, M.A. (2005a). Electrical activity of prefrontal cortex and ventral tegmental area during rat maternal behavior. *Behavioral Processes*, 70: 132-143.

Hernández-González, M., Prieto-Beracoechea, C.A., Navarro-Meza, M. and Guevara, M.A. (2005b). Prefrontal and tegmental electrical activity during olfactory stimulation in virgin and lactating rats. *Physiology and Behavior*, 83: 749-758.

Holy T.E., Guo Z. (2005). Ultrasonic songs of male mice. *PLoS Biology*. 3(12): e386.

Hull E.M., Wood R. I., McKenna K.E. (2006). Neurobiology of Male Sexual Behavior. En Knobil., Neill's Physiology of reproduction. Elsevier Academic Press San Diego. P 2327-2367.

Kendrick, K.M.; Da Costa, A.P.C.; Broad, K.D.; Okhura, S; Guevara, R.; Levy, F.; Keverne, E.B. (1997). Neural control of maternal behavior and olfactory recognition of offspring. *Brain Research. Amsterdam. Bull.* 44: 383-395.

Li M., Fleming A. S. (2003). The nucleus accumbens shell is critical for normal expression of pup-retrieval in postpartum female rats. *Behavioural Brain Research*. 145 99-111

Liu Y.C., Sachs B.D., Salamone J.D., 1998. Sexual behavior in male rats after radiofrequency or dopamine-depleting lesions in nucleus accumbens. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* New York. 60(2):585-92.

Lorberbaum, J.P.; Newman, J.D.; Horwitz, A.R.; Dubno, J.R.; Bruce Lydiard, R.; Hamner, M.B.; Bohning, D.E.; George, M.S. (2002). A potential role for thalamocingulate circuitry in human maternal behavior. *Biological Psychiatry*. New York. 51: 431-445.

Mead L.A., Vanderwolf C.H. (1992). Hippocampal electrical activity in the female rat: the estrous cycle, copulation, parturition and pup retrieval. *Brain Research*. 50:105-113.

Meissel, R.L., Sachs B.D. (1994). The physiology of male sexual behavior. In: Knobil E. and Neil J.F. *The physiology of reproduction*, Raven Press, New York: 3-105.

Mogenson G.J., Swanson L.W., Wu M. (1983). Neural projections from nucleus accumbens to globus pallidus, substantia innominata, and lateral preoptic-lateral hypothalamic area: an anatomical and electrophysiological investigation in the rat. *Journal of Neurosciences*. 3(1):189-202.

Numan M., Fleming A. S., and Levy F. (2006). Maternal behavior. En *Physiology of reproduction*. Elsevier. P 1921- 1993.

Paxinos G., Watson. Ch. (2005). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Elsevier Academic Press San Diego.

Pfaff D. W., Sakuma Y., Kow L.-M, Lee A. W. L., and Easton A. (2006). Et al. Hormonal, neural, and genomic mechanisms for female reproductive behaviors, Motivation, and Arousal en Knobil, Neill's., *Physiology of reproduction*. Elsevier. P 1825-1892.

Quadagno, D. M., Shryne, J., Anderson, C., and Gorski, R. A. (1972). Influence of gonadal hormones on social, sexual, emergence, and open field behaviour in the rat (*Rattus norvegicus*). *Animal Behavior*. 20, 732–740.

Ramos J., Corsi – Cabrera M., Guevara M.A., Arce C. (1993). EEG activity during cognitive performance in women. *International Journal of Neuroscience*. Vol. 69, pp. 185 – 195.

Rolls E. T. (1999). *The Orbitofrontal Cortex and Reward*. Oxford Journals. Life Sciences & Medicine. *Cerebral Cortex*. Vol. 10, Issue 3 Pp. 284-294.

Robbins, T., and Everitt, B. (1996). Arousal systems and attention. In *Handbook of Cognitive Neuroscience* (M. Gazzaniga, Ed.), pp. 703–720. MIT Press, Cambridge.

Rosenblatt J. S. (2002). Hormonal bases of parenting in mammals. In *Handbook of Parenting* (M. H. Bornstein, Ed.), Lawrence Erlbaum Associates, Mahwah, NJ. Vol. 2, pp. 31–60.

Sales, G. D. (1972). Ultrasound and aggressive behaviour in rats and other small mammals. *Animal Behaviour*. 20, 88.

Seebeek, T. A., Ed. (1977). *How Animals Communicate*. Indiana University Press, Bloomington. IN.

Siegel, H. I., and Rosenblatt, J. S. (1975). Estrogen-induced maternal behavior in hysterectomized-overiectomized virgin rats. *Physiology and Behavior*. 14, 465–471.

Siegel, H. I., and Rosenblatt, J. S., (1978). Duration of estrogen stimulation and progesterone inhibition of maternal behavior in pregnancy-terminated rats. *Hormones and Behaviour*. 11, 12–19.

Sisneros, J. A., and Bass, A. H. (2003). Seasonal plasticity of peripheral auditory frequency sensitivity. *Journal of Neurosciences*. 23,1049–1058.

- Solís-Ortiz S., Ramos J., Arce C., Guevara M.A., Corsi-Cabrera M. (1994). EEG oscillations during menstrual cycle. *International Journal of Neuroscience*. 76:279-292.
- Stone, C. P. (1938). Effects of cortical destruction on reproductive behavior and maze learning in albino rats. *Journal of Comparative Psychology*. Washington, DC. 26, 217–236.
- Strelau, J. (1994). *The Concepts of Arousal and Arousability as Used in Temperament Studies*. American Psychological Association, Washington, DC.
- Uylings H. B.M, Groeneweg en H. J., B. Kolb. (2003). Do rats have a prefrontal cortex? *Behavioural Brain Research*. 146 3–17 Review.
- Vanderwolf C.H. (1969). Hippocampal electrical activity and voluntary movement in the rat, *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*. Limerick. 26 407418.
- Vanderwolf C.H. (1990). An introduction to the electrical activity of the cerebral cortex: relations to behavior and control by subcortical inputs, in: Kolb B., Tees R.C. (Eds.), *The Cerebral Cortex of the Rat*. MIT Press. Cambridge. MA. pp. 151-189..
- Vanderwolf C.H. (1992). The electrocorticogram in relation to physiology and behavior: a new analysis. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*. 82 165-175.
- Walf A.A. & Frye Ch. A. (2007). The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nature Protocols* 2, - 322 - 328
- Walsh, C., Fleming, A.S., Lee, A., Magnusson, J. (1996). The effects of olfactory and somatosensory desensitization on fos-like immunoreactivity in the brains of pup-exposed postpartum rats. *Behavioral Neuroscience*. Washington, DC. 110: 1-20.
- Wise, R.A. (1990). Interactions between medial prefrontal cortex and meso-limbic components of brain reward circuitry. In HBM Uylings., CG Van Eden., JPC de Bruin.,

MA Comer., & MPG Feenstra (eds). The prefrontal cortex: Its structure, function and pathology. Progress in Brain Research. Amsterdam. 85: 255-262.

Young, W. C. (1961). The hormones and mating behavior. In Sex and Internal Secretions (W. C. Young, Ed.), Vol. 1.

Zahm D.S. (1999). Functional-anatomical implications of the nucleus accumbens core and shell subterritories. Annals of the New York Academy of Sciences. 877:113-28.