

MODELOS ANIMALES

LOS ANIMALES QUE ENSEÑAN



Jorge Manzo Denes • Genaro Alfonso Coria Avila • Porfirio Carrillo Castilla

COORDINADORES

Modelos animales

LOS ANIMALES QUE ENSEÑAN



Universidad Veracruzana
Secretaría Académica

Dirección General del Área Biológico-Agropecuaria
Instituto de Investigaciones Cerebrales
Instituto de Neuroetología

Modelos animales

LOS ANIMALES QUE ENSEÑAN

Jorge Manzo

Genaro A. Coria Avila

Porfirio Carrillo

COORDINADORES

Modelos animales:

LOS ANIMALES QUE ENSEÑAN

Primera edición - 2021

Instituto de Investigaciones Cerebrales

Instituto de Neuroetología

Dirección General del Área Biológico-Agropecuaria

Jorge Manzo

Genaro A. Coria Avila

Porfirio Carrillo

COORDINADORES

CA-Neurociencias

ISBN: 978-607-8716-48-7

© Todos los derechos reservados. Se prohíbe la reproducción total o parcial de este libro sin la autorización de los autores, así como su distribución venta o consignación.

CÓDICE / EDITORIAL

Violeta No. 7

Colonia Salud

Xalapa, Ver.

CP 91070

Tel. 2288180629

codice@xalapa.com

ÍNDICE DE AUTORES

Aitor Sánchez-Hernández

Área de Psicobiología
Universitat Jaume I
Castellón de la Plana, España.

Antares Basulto-Natividad

Doctorado en Investigaciones Cerebrales
Instituto de Investigaciones Cerebrales
Universidad Veracruzana
Xalapa, Ver., México.

Amando Bautista

Laboratorio de Psicobiología del Desarrollo
Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta
Universidad Autónoma de Tlaxcala
Tlaxcala, Tlax., México.

Caio Maximino

Laboratório de Neurociências e Comportamento
Faculdade de Psicologia
Instituto de Estudos em Saúde e Biológicas
Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Marabá
Pará, Brasil.

Consuelo Morgado-Valle

Instituto de Investigaciones Cerebrales
Universidad Veracruzana
Xalapa, Ver., México.

Daniela Monje Reyna

Departamento de Biología
University of Texas at San Antonio
San Antonio, Texas, USA.

Deissy Herrera-Covarrubias

Instituto de Investigaciones Cerebrales
Universidad Veracruzana
Xalapa, Ver., México.

Dolores B. Vázquez Sanromán

Anatomy and Cell Biology department
Oklahoma State University Center for Health and Sciences
Tulsa Ok., USA.

Elisa Ventura Aquino

Instituto de Neurobiología
Escuela Nacional de Estudios Superiores-Juriquilla
Universidad Nacional Autónoma de México
Querétaro, Qro., México.

Fidel Santamaría

Departamento de Biología
University of Texas at San Antonio
San Antonio, Texas, USA.

Genaro A. Coria-Avila

Instituto de Investigaciones Cerebrales
Universidad Veracruzana
Xalapa, Ver., México.

Gonzalo Emiliano Aranda-Abreu

Instituto de Investigaciones Cerebrales
Universidad Veracruzana
Xalapa, Ver., México

Jorge Manzo Denes

Instituto de Investigaciones Cerebrales
Universidad Veracruzana
Xalapa, Ver. , México.

Juan Francisco Rodríguez-Landa

Laboratorio de Neurofarmacología
Instituto de Neuroetología
Universidad Veracruzana
Xalapa, Veracruz, México.

Jonathan Cueto-Escobedo

Departamento de Investigación Clínica y Traslacional
Instituto de Ciencias de la Salud
Universidad Veracruzana.
Xalapa, Veracruz, México.

Karen Paola Ramos-Riera

Doctorado en Investigaciones Cerebrales
Instituto de Investigaciones Cerebrales
Universidad Veracruzana
Xalapa, Ver., México.

María Elena Hernández Aguilar

Instituto de Investigaciones Cerebrales
Universidad Veracruzana
Xalapa, Ver.

María Fernanda López-Gutiérrez

Instituto de Neurobiología,
Universidad Nacional Autónoma de México.

María Rebeca Toledo Cárdenas

Instituto de Investigaciones Cerebrales
Universidad Veracruzana
Xalapa, Ver, México.

Margaret M. McCarthy

Department of Pharmacology, School of Medicine
University of Maryland
Baltimore, MD, USA.

María Leonor López-Meraz

Instituto de Investigaciones Cerebrales
Universidad Veracruzana
Xalapa, Ver., México.

Marta Miquel

Área de Psicobiología
Universitat Jaume I
Castellón de la Plana, España.

Miguel Pérez Pouchoulen

Department of Pharmacology, School of Medicine
University of Maryland
Baltimore, MD, USA.

Mario Caba

Centro de Investigaciones Biomédicas
Universidad Veracruzana
Xalapa, Ver., México.

Mario Daniel Caba-Flores

Doctorado en Ciencias Biomédicas, CIB
Universidad Veracruzana
Xalapa, Ver., México.

Marisela Hernández González

Instituto de Neurociencias
Universidad de Guadalajara
México.

Miguel Angel Guevara

Instituto de Neurociencias
Universidad de Guadalajara
México.

Norma S. Gómez Torres

Laboratorio de Conducta Animal
Facultad de Ciencias
Universidad Autónoma del Estado de México
México.

Patricia Ibañez-Marín

Área de Psicobiología
Universitat Jaume I
Castellón de la Plana, España.

Pedro Paredes-Ramos

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Universidad Veracruzana
Xalapa, Ver., México.

Pedro Manuel Cortes Esparza

Instituto de Neurociencias
Universidad de Guadalajara
México.

Porfirio Carrillo Castilla

Instituto de Neuroetología
Universidad Veracruzana.
México.

Raúl G. Paredes

Instituto de Neurobiología
Escuela Nacional de Estudios Superiores-Juriquilla
Universidad Nacional Autónoma de México.
México.

Rodrigo Triana Del Río

LeDoux Laboratory. Center for Neural Science - New York
University. Nathan Kline Institute for Psychiatric Research
New York City, USA.

Rubí Viveros-Contreras

Centro de Investigaciones Biomédicas
Universidad Veracruzana
Xalapa, Ver., México.

Raúl Rebolledo-Martínez

Centro de Especialidades Veterinarias del Sureste
Boca del Río, Veracruz
México.

Sheryl E. Arambula

Department of Pharmacology, University
of Maryland, School of Medicine
Baltimore, MD, USA.

Tamara Cibrián-Llanderal

Neurofisiología y Neurobiología de la Conducta
Instituto de Neuroetología
Universidad Veracruzana
Xalapa, Ver., México.

Ulises A. Aguilera Reyes

Laboratorio de Conducta Animal
Facultad de Ciencias
Universidad Autónoma del Estado de México
México.

Wendy Portillo

Instituto de Neurobiología
Universidad Nacional Autónoma de México.
México.

Yesenia Fernández

Doctorado en Ciencias Biológicas
Universidad Autónoma de Tlaxcala
México.

ÍNDICE DE ÁRBITROS

Apolo Carrasco

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Universidad Veracruzana
Veracruz, México.

Lizbeth Donají Chi-Castañeda

Instituto de Investigaciones Cerebrales
Universidad Veracruzana
Xalapa, Ver., México.

Genaro A. Coria-Avila

Instituto de Investigaciones Cerebrales
Universidad Veracruzana
Xalapa, Ver., México.

Georgina I. García

Facultad de Ciencias
Universidad Autónoma del Estado de México
Toluca, México.

Gonzalo E. Aranda-Abreu

Instituto de Investigaciones Cerebrales
Universidad Veracruzana
Xalapa, Ezq., Ver. México

Jorge Manzo Denes

Instituto de Investigaciones Cerebrales
Universidad Veracruzana
Xalapa, Ver.

María de J. Rovirosa

Instituto de Neuroetología
Universidad Veracruzana
Xalapa, Ezq., Ver. México

Margarita Martínez Gómez

Instituto de Investigaciones Biomédicas
Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta
UNAM-UAT

Ma. Rebeca Toledo Cárdenas

Instituto de Investigaciones Cerebrales
Universidad Veracruzana
Xalapa, Ver, México.

Miriam Tecamachaltzi Silvaran

Facultad de Ciencias para el Desarrollo Humano
Universidad Autónoma de Tlaxcala
Tlaxcala, Tlax.

Pedro Paredes-Ramos

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Universidad Veracruzana
Xalapa, Ver., México.

Porfirio Carrillo Castilla

Instituto de Neuroetología
Universidad Veracruzana
México.

Rodrigo Triana Del Río

LeDoux Laboratory. Center for Neural Science - New York
University. Nathan Kline Institute for Psychiatric Research
New York City, USA.

Tamara Cibrián-Llenderal

Neurofisiología y Neurobiología de la Conducta
Instituto de Neuroetología
Universidad Veracruzana
Xalapa, Ver., México.

Ulises Aguilera Reyes

Laboratorio de Conducta Animal, Facultad de Ciencias,
Universidad Autónoma del Estado de México
Toluca, México.

CONTENIDO

Prólogo.	15
<i>Teresa Morales</i>	
I Los hermanos y su influencia en el desarrollo en mamíferos: el conejo como modelo	21
<i>Amando Bautista</i>	
<i>Yesenia Fernández</i>	
II Modelos animales para estudiar la memoria	35
<i>Genaro A. Coria-Avila</i>	
<i>Pedro Paredes-Ramos</i>	
<i>Raúl Rebolledo-Martínez</i>	
<i>Deissy Herrera-Covarrubias</i>	
III Modelos animales para el estudio del autismo	49
<i>Daniela Monje Reyna</i>	
<i>Ma. Rebeca Toledo Cárdenas</i>	
<i>Fidel Santamaría</i>	
<i>Jorge Manzo Denes</i>	
IV La rata de laboratorio como modelo para el estudio de la discapacidad motora producida por el infarto cerebral . . .	69
<i>Miguel Pérez Pouchoulen</i>	
<i>Sheryl E. Arambula</i>	
<i>Margaret M. McCarthy</i>	
V El modelo conejo, entre la píldora anticonceptiva y la lactancia circadiana.	85
<i>Mario Caba</i>	
<i>Rubí Viveros-Contreras</i>	
<i>Mario Daniel Caba-Flores</i>	
VI La ansiedad en los animales y el hombre.	101
<i>Juan Francisco Rodríguez-Landa</i>	
<i>Jonathan Cueto-Escobedo</i>	
<i>Caio Maximino</i>	
VII Social influences in animal models of drug addiction: does age matter?	117
<i>Vazquez-Sanroman Dolores B.</i>	

VIII	Modelos de epilepsia	135
	<i>Karen Paola Ramos-Riera</i>	
	<i>Consuelo Morgado-Valle</i>	
	<i>María Leonor López-Meraz</i>	
IX	Modelos animales para la búsqueda del placer.	153
	<i>Marisela Hernández González</i>	
	<i>Pedro Manuel Cortes Esparza</i>	
	<i>Miguel Angel Guevara</i>	
X	El topillo de la pradera: modelo para entender la neurobiología de las conductas sociales complejas	169
	<i>María Fernanda López-Gutiérrez</i>	
	<i>Wendy Portillo</i>	
	<i>Raúl G. Paredes</i>	
XI	Modelos animales para estudiar el miedo y la ansiedad . .	185
	<i>Rodrigo Triana Del Río</i>	
	<i>Tamara Cibrián-Llenderal</i>	
XII	El cerdo como modelo biológico para el estudio de la conducta	203
	<i>Ulises Aguilera Reyes</i>	
	<i>Norma S. Gómez Torres</i>	
	<i>Porfirio Carrillo Castilla</i>	
XIII	Modelos animales para el estudio de la obesidad	219
	<i>Deissy Herrera-Covarrubias</i>	
	<i>Antares Basulto Natividad</i>	
	<i>Gonzalo E. Aranda-Abreu</i>	
	<i>María Elena Hernández</i>	
XIV	Modelos animales de conducta compulsiva en drogadicción	233
	<i>Marta Miquel</i>	
	<i>Aitor Sánchez-Hernandez</i>	
	<i>Patricia Ibañez-Marin</i>	
XV	Modelos animales para el estudio de la conducta sexual masculina.	249
	<i>Elisa Ventura Aquino</i>	
	<i>Raúl G. Paredes</i>	

Prólogo

En las décadas recientes, las neurociencias se han posicionado como una disciplina emergente destacada dentro de las ciencias biológicas. Hay un creciente número de estudiantes que se entusiasman por el estudio del cerebro y del sistema nervioso (SNC), lo cual va acompañado del desarrollo en herramientas de investigación y análisis, tecnologías y tratamientos para algunas de las enfermedades que padecemos las personas. Este creciente campo tiene impacto no solamente en el ámbito científico, ya que de acuerdo con la Dra. Huda Akil (Escuela de Medicina de Michigan, EUA), las y los científicos del área de las neurociencias pueden contribuir con la sociedad más allá de la academia y la industria, en áreas como la política social, la escritura científica, en interfaces humano-máquina o el análisis de datos (*big data*), la educación, fundaciones no-comerciales, o cualquier otra área donde sea relevante el conocimiento acerca del cerebro (Stix, 2016).

A las personas interesadas en este campo, nos entusiasma estudiar al cerebro, sus conexiones centrales y sus conexiones periféricas con órganos asociados porque, para algunos de nosotros, estudiar el cerebro es un paso hacia el progreso en nuestro viaje humano y hacia el conocimiento de nuestro órgano más sofisticado, el cerebro humano, que es la fuente de nuestra imaginación y al final, de nuestra civilización (Yaksi & Sandi, 2020). El cerebro es un órgano complejo y su funcionamiento no puede ser explicado desde una sola perspectiva, por lo que su estudio requiere de enfoques multidisciplinarios diversos. Algunas personas estudiamos al cerebro con el propósito de desarrollar terapias para trastornos cerebrales, como los psicológicos o las enfermedades neurológicas. Este es un objetivo muy impactante, dado el aumento en los retos que las enfermedades neurodegenerativas representan para la salud mental en nuestra socie-

dad. Por otro lado, muchos de nosotros estudiamos el cerebro para comprender la vida que nos rodea, en su desarrollo y su evolución, que está impulsada por los principios universales de procesos y circuitos que dan base al comportamiento animal. También, nos interesa comprender los procesos cerebrales, ya que este conocimiento puede permitirnos el desarrollo tecnológico en ingeniería de *hardware*, algoritmos y sistemas de inteligencia artificial que pueden procesar conjuntos grandes de datos para abordar preguntas y, que tal vez en el futuro, incluso podría evolucionar para pensar como nosotros (Yaksi & Sandi, 2020).

Actualmente, la variedad de modelos experimentales para el estudio de la estructura y función del sistema nervioso representa muchas ventajas para el investigador, quien debe seleccionar de manera cuidadosa y rigurosa el paradigma más apropiado para analizar y tratar de responder la pregunta científica y los objetivos planteados (<https://neuronline.sfn.org/scientific-research/an-introduction-to-scientific-rigor>). En otras palabras, más que dar prioridad a un método sobre otro, la investigadora deberá conocer el nivel de análisis, el método, la disponibilidad de recursos, la información que obtendrá del método y del enfoque empleado en su investigación. Esto es útil, no solamente en términos de tiempo y esfuerzo personal invertidos en el análisis de un fenómeno, sino también en recursos económicos y número de sujetos de estudio, que pudieran ser limitados por la disponibilidad de la especie animal usada o el financiamiento.

Al plantear un proyecto de investigación nos preguntamos si la especie que estudiaremos es la más adecuada para el fenómeno que queremos estudiar, si el método es adecuado y la información que nos proporcionará es pertinente. Este conocimiento nos permitirá diseñar una estrategia experimental y definir el número de animales o de ensayos, así como de materiales, sustancias y equipamiento necesarios para la realización de la investigación. Además, es importante destacar las ventajas del modelo experimental seleccionado para lograr los objetivos que nos proponemos.

Un aspecto muy interesante de los modelos experimentales usados en las neurociencias es el amplio rango de especies animales donde se analizan distintos procesos del SNC. En este rango se incluyen organismos unicelulares, invertebrados y vertebrados de todas las diferentes Clases. Las personas dedicadas a la investigación en neurociencias emplean una gran diversidad de especies, desde el *C. elegans*, la mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*) y otros invertebrados, hasta especies de primates no humanos, y humanos; incluyendo peces, anfibios, reptiles, aves y varias especies de mamíferos (roedores como la rata y el ratón, topillos, conejos,

cerdos, etc.). También, hay una gran variedad de modelos experimentales *in vitro*. Cada uno de estos modelos representa ventajas sobre los demás, y todos tienen limitaciones que deben tenerse presentes al elegirlos modelo de estudio.

La ventaja de las especies pequeñas es que son de fácil crecimiento y manipulación, y generalmente son empleadas para manipular genes y su expresión, para vincular genes a ciertos comportamientos, para el análisis de circuitos neuronales menos complejos, etc. Por otro lado, el uso de roedores es altamente popular entre las y los científicos ya que son una herramienta donde se cuenta con mucho conocimiento previo y permite el análisis de la estructura/función y la manipulación de procesos cerebrales complejos. Todos estos modelos experimentales permiten estudiar diferentes aspectos que no es posible analizar en los humanos. Sin embargo, estudiamos procesos neuronales y conductas desde diferentes enfoques (genético, anatómico, bioquímico, funcional, etc.), que en las diferentes especies pueden estar conservados en la escala filogenética y nos dan pistas acerca del funcionamiento del cerebro humano.

Un tema crucial en el empleo de modelos animales son las consideraciones éticas que debemos tener presentes al realizar la investigación científica en este campo (https://www.csic.es/sites/www.csic.es/files/cbpc_csic2021.pdf; <https://www.sfn.org/membership/professional-conduct/sfn-ethics-policy>). Al respecto, existen normas nacionales e internacionales que regulan el uso de modelos animales y el trabajo científico realizados en sujetos humanos. La experimentación en animales siempre debe respetar principios generales como: la elección del modelo animal apropiado y el mínimo necesario de individuos a emplear; el evitar o minimizar la incomodidad, el estrés y el dolor; el uso apropiado de la anestesia y la analgesia; el proveer un cuidado post-operativo adecuado, y dar un sacrificio oportuno y sin sufrimiento; así como el proporcionar condiciones de vida adecuadas en términos de alojamiento, alimentación y cuidados veterinarios (para consulta de varios documentos: <https://www.sfn.org/advocacy/policy-positions/policies-on-the-use-of-animals-and-humans-in-research>). Igualmente, los procedimientos experimentales que se realizan en personas deben ser conducidos de acuerdo con las políticas y principios contenidos en políticas federales de protección a las personas y la Declaración de Helsinki (<https://www.who.int/bulletin/archives/79%284%29373.pdf>). Generalmente, las instituciones cuentan con un Comité de Bioética que revisa y aprueba los protocolos experimentales propuestos y supervisa el cumplimiento de las normas nacionales e internacionales de manejo de

las especies empleadas en la experimentación (NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999).

Una mención especial merece el análisis de las diferencias entre los sexos femenino y masculino. En años recientes, se ha dado más relevancia al estudio de las diferencias entre sexos, ya que la mayoría de los estudios experimentales y pruebas pre-clínicas, tradicionalmente se han realizado en individuos del sexo masculino. Ahora sabemos que el tipo de los síntomas presentados en el curso de una enfermedad, así como las respuestas a los medicamentos, pueden verse afectados por el sexo de las personas. Se cree que los mecanismos subyacentes de estas diferencias son multifactoriales e incluyen factores estructurales y biológicos, en particular la influencia de las hormonas sexuales, así como factores psicológicos y socioculturales como los factores de estrés social (Butlen-Ducuing et al., 2021).

El concepto emergente de la medicina de precisión ha destacado la importancia de la inclusión de individuos de sexo femenino en la investigación en neurociencias. Varias de las enfermedades neurodegenerativas se presentan con mayor incidencia en el sexo femenino. Por ejemplo, las mujeres son más afectadas que los hombres por ciertas enfermedades como la enfermedad de Alzheimer, la depresión, la migraña y los ataques de pánico, entre otras; mientras que los hombres son más afectados que las mujeres por la enfermedad de Parkinson, el déficit de atención e hiperactividad, o el autismo. Además, a excepción de la adicción a drogas y el consumo de alcohol, varios desórdenes de tipo emocional como la conducta obsesiva/compulsiva, el estrés post-traumático, la ansiedad, entre otros, se presentan con mayor frecuencia en mujeres (Rincon-Cortés et al., 2019). El enfoque de la medicina de precisión para el tratamiento de enfermedades y su prevención va más allá del sexo del individuo, ya que también toma en cuenta la variabilidad individual en genes, medio ambiente y estilo/historia de vida de las personas.

Retomando la idea de que las personas dedicadas a las neurociencias pueden contribuir en varias áreas profesionales, más allá de la academia y de la industria, este libro destaca la importancia del conocimiento de diferentes enfoques experimentales para el estudio del SNC. En este sentido, representa una fuente de información amplia sobre diferentes modelos animales para estudiar distintas conductas y desórdenes neurodegenerativos que son importantes para los humanos y para otras especies animales. Con su lectura nos hemos percatado de la importancia de la conducta social, de procesos cognitivos como la recompensa, la memoria y el aprendizaje. Así como de desórdenes importantes como el estrés, la ansiedad, la

conducta compulsiva, las adicciones, la discapacidad motora y social, la epilepsia, etc., y de la influencia que distintos procesos como el desarrollo, la ritmicidad circadiana, el metabolismo, y el envejecimiento, entre otros, imponen en el funcionamiento del SNC.

Mi reconocimiento a las y los autores de los diferentes capítulos y sobre todo a los editores de la presente obra. El libro será muy útil para las personas que incursionan por primera vez en la investigación científica en este campo, así como para las que buscan ampliar la perspectiva y enfoque experimental de un fenómeno que ya se encuentren estudiando. Ciertamente este libro no es exhaustivo en términos de la enorme variedad de modelos experimentales que utilizan las personas de este interesante y creciente campo. Sin embargo, tiene un gran mérito al reunir información accesible acerca de una gran variedad de diferentes enfoques experimentales para el análisis de la función del SNC, en condiciones de su funcionamiento basal y en patologías de interés general.

Teresa Morales

Instituto de Neurobiología, UNAM
Juriquilla, Qro. Julio de 2021

REFERENCIAS

- Butlen-Ducuing, F., Balkowiec-Iskra, E., Dalla, C., Slattery, D.A., Ferretti, M.T., Kokras, N., Balabanov, P., De Vries, C., Mellino, S., Santuccion Chadha, A. (2021). Implications of sex related differences in central nervous system disorders for drug research and development. *Nat Rev Drug Discov*. doi: 10.1038/d41573-021-00115-6.
- Código de buenas prácticas científicas del Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Gobierno de España. https://www.csic.es/sites/www.csic.es/files/cbpc_csic2021.pdf
- NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/203498/NOM-062-ZOO-1999_220801.pdf
- Rincon-Cortés, M., Herman, J.P., Lupien, S., Maguire, J., Shansky, R.M. (2019) Stress: Influence of sex, reproductive status and gender. *Neurobiology of Stress*, Feb (10). doi: 10.1016/j.ynstr.2019.100155.
- Stix, G. (2016). Where Will All the New Neuroscientists Go? *Scientific American* 315, 3, 21. doi:10.1038/scientificamerican0916-21.
- Yaksi, E., Sandi, C. (2020). What brains do we study and why do we study them? *Eur J Neurosci.*, 52:4602–4603. <https://doi.org/10.1111/ejn.15025>.

Los hermanos y su influencia en el desarrollo en mamíferos: el conejo como modelo

*Amando Bautista
Yesenia Fernández*

Introducción

Los hermanos son un componente conspicuo del ambiente en el que nacen y crecen los mamíferos. En muchos casos los hermanos están presentes en la vida de los individuos, incluso desde que inicia su desarrollo prenatal, como ocurre en los mamíferos de patrón politoco, aquellos que gestan y paren más de una cría. En otros casos los individuos comparten el nicho familiar con hermanos de diferente edad, como ocurre en la mayoría de los humanos y otros mamíferos de patrón monotoco, especies que típicamente gestan y paren una sola cría. La casi omnipresente presencia de los hermanos durante la vida temprana de los individuos (desde la fecundación hasta la madurez sexual) influye de múltiples maneras en el desarrollo individual, con efectos a corto y/o largo plazo sobre rasgos anatómicos, fisiológicos y conductuales que son relevantes para la supervivencia y reproducción individual (Hudson y Trillmich 2008, Sullo-way 2010, Trillmich y Hudson 2011).

En este capítulo revisaremos, en varias especies de mamíferos, algunos ejemplos donde la presencia de los hermanos influye en el desarrollo individual a lo largo de las diferentes etapas de la ontogenia, haremos énfasis en el modelo del conejo europeo doméstico y silvestre (*Oryctolagus cuniculus*), una de las especies de mamíferos mejor estudiada, si no es que la más estudiada, tanto en condiciones de laboratorio como de vida silvestre. La peculiar conducta maternal del conejo ha permitido el desarrollo de una línea de investigación fundada por la Dra. Robyn Hudson en el Laboratorio de Psicobiología del Desarrollo, CTBC, UATx, que a lo largo de 20

años ha posibilitado el estudio de las interacciones pre y postnatales entre hermanos y sus consecuencias, a corto y largo plazo, sobre el desarrollo conductual y fisiológico individual, a un nivel prácticamente imposible de conseguir en otras especies de mamíferos en las que las madres despliegan una intensa conducta maternal.

El conejo y su peculiar conducta maternal

El conejo europeo (*Oryctolagus cuniculus*) es un mamífero del orden de los lagomorfos que habita desde la península ibérica, donde se le encuentra con mayor frecuencia, hacia el norte del continente europeo, Gran Bretaña y hacia el este hasta Ucrania (Delibes-Mateos y cols. 2018). Vive en grupos pequeños conformados por uno a tres machos y de una a cinco hembras (Bell 1985), estos grupos están asociados a un sistema de madrigueras que les brindan una eficiente protección contra sus múltiples depredadores. Al ser un animal gregario y nocturno utiliza la transmisión química como principal medio de comunicación interespecífica (Bell 1980, Mykytowycz 1962, Mykytowycz y cols. 1976). Su reproducción estacional está asociada a un incremento de las horas de luz en el hemisferio norte.

Las hembras copulan con varios machos y su gestación dura alrededor de 31 días. Uno o dos días antes del parto, la coneja excava una madriguera para la crianza de su camada, esta madriguera es construida aparte del sistema de madrigueras del grupo. Una vez excavada la madriguera, la coneja colecta hierba seca de los alrededores que utilizará para construir un nido, junto con el pelo que ella misma se desprende de su pecho y flancos (Deutsch, 1957). Después de que la coneja a parido a la última cría, aproximadamente después de 10 minutos de iniciado el parto (datos de laboratorio; Hudson y cols. 1999), la coneja sale de la madriguera, tapa la entrada y no regresa a ella hasta 24 hrs después, aproximadamente. En la madriguera permanece por un breve periodo de 3-4 minutos para amantar a las crías de su camada (Broekhuizen y cols. 1986, Hudson y cols. 1996, Lincoln 1974, Rödel y cols. 2012, Zarrow y cols. 1965). Si la hembra quedó gestante en el estro postparto, este robusto patrón conductual se mantendrá durante los 25 días postnatales o se extenderá hasta, aproximadamente, el día 31 si la hembra no esta preñada. Tal ausencia natural de la madre coloca a sus gazapos en una circunstancia de desarrollo peculiar entre las crías de mamíferos, pues implica que el ambiente social postnatal temprano está conformado principalmente por los hermanos de camada (Hudson y cols. 2011). Además, dado que este limitado cuidado maternal se ha mantenido

en condiciones de domesticación, esto nos permite observar, manipular e investigar en el laboratorio las interacciones entre los hermanos de camada sin alterar el sistema natural madre-cría (Bautista y cols. 2003, 2005, 2007, 2013, 2015a, 2015b, 2017, García-Torres y cols. 2015, Hudson y cols. 2011, Reyes-Meza y cols. 2011, Rödel y cols. 2008, 2017, Zepeda y cols. 2019).

Características del conejo neonato

Los mamíferos altriciales serían aquellos que nacen con un estado mayor de inmadurez y por ende requieren, por parte de los padres, una amplia asistencia temporal y de recursos para su supervivencia individual. Por su parte los mamíferos precociales serían aquellos que nacen más desarrollados y con una relativa independencia parental (Freeman y Herron 2007). Dentro de este continuo altricialidad-precocialidad las crías del conejo nacen siendo menos altriciales que, por ejemplo, las crías de varios roedores como el ratón (*Mus musculus*) y la rata (*Rattus norvegicus*). Las capacidades motoras y por lo tanto de desplazamiento de los conejos recién nacidos son superiores a las de las crías de la rata y del ratón; justo después de haber sido expulsadas del vientre materno las crías del conejo son capaces de desplazarse por sí mismas, dirigirse hacia el vientre materno y succionar la leche de los pezones de su madre. En contraste, las crías recién nacidas del ratón y de la rata son incapaces de desplazarse por sí mismas para localizar los pezones de la madre y succionar la leche, para ello necesitan la asistencia de ella. Las crías del conejo en cambio serían relativamente más altriciales, por ejemplo, que las crías del cerdo, si los comparamos en términos de sus habilidades motoras.

Una característica común que comparten las crías del conejo con las otras tres especies (ratón, rata y cerdo) es su incapacidad individual termorregulatoria y por lo tanto su vulnerabilidad ante la rápida pérdida de calor corporal justo después del nacimiento (Geiser 2008). Las crías del conejo doméstico nacen con esta propensión a la rápida pérdida del calor corporal debido a ciertas características intrínsecas de su naturaleza altricial. Nacen sin pelo, por lo tanto, carecen de un abrigo que les provea aislamiento térmico del medio, nacen con una relativamente mayor relación área de superficie corporal/volumen, una reducida actividad constrictora y dilatadora de los vasos sanguíneos, todas estas características promueven la rápida pérdida de calor corporal.

Tales características asociadas a su estado altricial, colocan a las crías del conejo recién nacido en una situación de vulnerabilidad antes factores ambientales tales como el frío, sin embargo, como veremos más adelante,

la presencia postnatal de los hermanos permite mitigar en cierta medida esos efectos negativos del ambiente. Pero vayamos más atrás del nacimiento y del desarrollo postnatal para explorar, en la siguiente sección, cómo la presencia de los hermanos afecta características fisiológicas, morfológicas y conductuales de los mamíferos, incluso durante el desarrollo prenatal.

Presencia prenatal de los hermanos

Es en la década de los 70s, que el científico vom Saal publicó sus primeros hallazgos sobre el fenómeno prenatal en roedores, refiriéndose con este término a la influencia del sexo de los hermanos adyacentes en la diferenciación sexual durante el desarrollo intrauterino. Desde entonces la investigación en este campo ha crecido ampliamente. El fenómeno prenatal se debe a la testosterona que, producida por los fetos masculinos en el tercer tercio de la gestación, puede atravesar el saco amniótico y difundirse por el cuerno uterino (vom Saal 1989). Esto ocurre en una fase específica del desarrollo denominada periodo crítico, generándose así cambios permanentes en la citoestructura cerebral de los fetos adyacentes y en los mismos machos que la producen (Ryan y Vandenberg 2002).

En varias especies de mamíferos politocos, se ha descrito que diferencias individuales en su morfología, fisiología y conducta, se correlacionan con el número de fetos masculinos entre los que se desarrollaron prenatalmente. Típicamente la literatura del tema refiere a un individuo 2M como aquel macho o hembra que como feto se desarrolló entre dos machos, (1M=entre un macho y una hembra o en un extremo del cuerno uterino adyacente a un macho y 0M= entre dos hembras o en un extremo del cuerno uterino adyacente a una hembra) (Bánszegi y cols. 2009, 2010, Ryan y Vandenberg 2002, vom Saal 1989). Por ejemplo, las hembras de conejo doméstico 2M muestran distancia anogenital de mayor tamaño al nacimiento y este rasgo persiste hasta la etapa adulta. Además, tienen mayor despliegue de una conducta estereotipada, la conducta de marcaje por frotamiento de mentón (Fernández 2020), que consiste en el depósito de secreciones de la glándula submandibular sobre objetos que encuentran en el ambiente, frotando repetidamente su barbilla sobre ellos (Bánszegi y cols. 2009). Así mismo, las marcas de las conejas 2M resultan menos atractivas para los machos y producen camadas más ligeras, en comparación con aquellas hembras 1M o 0M (Bánszegi y cols. 2010).



Figura 1. Conejo adulto desplegando la conducta de marcaje por frotamiento del mentón sobre una caja de cristal con textura rugosa (fotografía de Yesenia Fernández).

En condiciones de vida silvestre de los conejos es difícil evaluar el efecto de la posición intrauterina sobre el desarrollo individual y sus consecuencias a largo plazo. Una manera de aproximarse a esta pregunta es investigando la influencia de la razón de sexos intracamada (número de machos/tamaño de camada) sobre algunos rasgos reproductivos en los individuos. Una aproximación así fue desarrollada por el grupo del Dr. Rödel en un encierro en donde alojaba, bajo condiciones seminaturales, a una colonia del conejo europeo silvestre. Ellos encontraron, al indagar si la razón de sexo sesgada, hacia uno u otro lado, afectaba algún rasgo reproductivo en las hembras que, bajo condiciones de alta densidad poblacional de hembras, las hembras masculinizadas, que nacieron de camadas en las que hubo un número relativamente alto de machos, adelantaron su reproducción con respecto a las hembras que habían sido gestadas en camadas cuya razón de sexos estuvo sesgada a hembras. Los autores sugieren que, bajo condiciones de alta densidad de hembras, el adelantado inicio de la reproducción en las hembras masculinizadas les provee de ventajas adaptativas (Monclús y cols. 2014).

Los antecedentes abordados en esta sección son un claro ejemplo de cómo factores del ambiente durante el desarrollo, en este caso la presencia de los hermanos machos, afecta a largo plazo los rasgos morfológicos, fisiológicos y conductuales de las hembras, con consecuencias contundentes sobre un rasgo de la eficiencia biológica, la reproducción.

El peso al nacimiento y el tamaño de camada

En mamíferos el peso al nacimiento está determinado en parte por la genética (Distl 2007, Mappes y Koskela 2004) pero también está modulado

por factores ambientales que afectan o afectaron algunas condiciones maternas, por ejemplo, su alimentación, condición física o madurez (Oksanen y cols. 2007). Por lo tanto, a través de los atributos maternos y sus efectos, las hembras pueden modificar el fenotipo de su descendencia (Mousseau y Fox 1998, Sheldon 2002).

Otro factor ambiental, asociado a la presencia de los hermanos y que afecta el peso al nacimiento, es el número de individuos gestados por la madre. De manera consistente, se ha observado una marcada relación negativa entre el tamaño de la camada gestada y la masa corporal individual, así como en la masa promedio de la camada al nacimiento (revisado en Hudson y cols. 2011).

Diversos estudios han descrito ampliamente en mamíferos, incluyendo al ser humano, las diferencias en el crecimiento, desarrollo y la supervivencia de los individuos como efecto de las diferencias tempranas del peso al nacimiento entre compañeros de camada (Bautista y cols. 2015b, Rödel y cols. 2008, 2015), así como los efectos a largo plazo en rasgos asociados a la reproducción y salud (Festa-Bianchet y cols. 2000, Katanoda y cols. 2017, Oksanen y cols. 2007, Solberg y cols. 2004). Un estudio particular sobre la salud de los humanos, es sobre la asociación lineal inversa entre la masa corporal al nacimiento y el desarrollo de diabetes mellitus (DM) (Katanoda y cols. 2017). Imaginemos a dos mujeres que nacen al mismo tiempo, una de ellas con normo peso al nacer y la otra con bajo peso. Ambas llegan a la edad adulta y su índice de masa corporal (IMC) se encuentra dentro del rango normal. Sin embargo, la mujer que mostró bajo peso al nacer tiene mayor riesgo de padecer DM.

En el caso particular del conejo doméstico, el peso al nacimiento influye significativamente en el desarrollo postnatal temprano. Las crías con mayor peso al nacimiento tienen mayor éxito en la competencia por recursos limitados, como lo describiremos con mayor detalle cuando analicemos la competencia por la leche materna, o por ubicarse en sitios térmicamente ventajosos dentro del agrupamiento que se forman entre los hermanos (Rödel y cols. 2008; Bautista y cols. 2015b). Otro factor que interactúa con el tamaño de la camada gestada y el peso al nacimiento, es el sitio dentro del cuerno uterino en el que se desarrolló el feto. En un experimento en donde cancelamos, mediante ovariectomía unilateral, la función de uno de los dos cuernos uterinos que tienen las conejas y así, en función del orden de nacimiento de las crías, deducir el sitio en el que se desarrollaron, encontramos que las más pesadas al nacimiento fueron aquellas cuyo desarrollo fetal ocurrió cerca del cérvix o cerca del ovario,

mientras que las crías más ligeras fueron aquellas cuyo desarrollo prenatal ocurrió en la parte media del cuerno uterino. El efecto del sitio de desarrollo intrauterino no solo se observó sobre el peso al nacimiento, también estuvo asociado al peso en el destete y persistió hasta el día postnatal 47 (Bautista y cols. 2015a).

Presencia postnatal de los hermanos

Postnatalmente, las interacciones intracamada son un componente importante en el entorno temprano de los mamíferos altriciales que en el caso del conejo doméstico pueden agruparse de acuerdo a dos contextos funcionales: 1) las interacciones que ocurren en el contexto de la succión de la leche materna y 2) las interacciones que ocurren dentro del agrupamiento formado por las crías para termorregular dentro del nido (revisado en Gonzalez-Mariscal y cols. 2015).

La succión de la leche materna está obviamente relacionada con la necesidad de las crías de obtener suficiente leche para sobrevivir al largo periodo de la ausencia materna. Sin embargo, la leche materna típicamente es un recurso limitado para las crías que conforman una camada. A pesar de que es común que las conejas tengan un número mayor número de pezones que de crías, la competencia entre ellas por la leche materna es a menudo severa. En los días que dura el amamantamiento un alto porcentaje de las crías fracasan al menos una vez en obtener leche, la mortalidad intracamada, en buena medida explicada por la competencia por la leche, puede alcanzar hasta el 20% (Drummond y cols. 2000). Dado el corto tiempo (3-4 min) que las crías del conejo tienen para obtener la leche durante la única visita diaria de la madre al nido para amantarlas, las crías deben obtener la suficiente cantidad para su crecimiento y supervivencia hasta la siguiente visita de la madre. En un estudio en donde observamos la conducta de las crías en el momento de la succión, encontramos que las crías compiten por los pezones de la madre no mediante agresión directa sino mediante competencia por acaparamiento, siendo la masa corporal el mejor predictor de éxito en esta contienda. Así, las crías más pesadas de la camada, en comparación con sus hermanas más ligeras, llegan más rápido a los pezones, pasan más tiempo succionando de ellos y, consecuentemente, ingieren una mayor cantidad de leche (Bautista y cols. 2005).

Entre los episodios de succión las crías compiten por sitios térmicamente ventajosos dentro del agrupamiento que forman para termorregular conductualmente. Para acceder a posiciones que les provean mejor aislamiento, las crías se desplazan escalando sobre sus hermanos o empu-

jando su cuerpo para zambullirse entre ellos (Bautista y cols. 2008). Estas dos conductas implican la inversión de una considerable cantidad de energía siendo las crías más ligeras al nacimiento las que despliegan con mayor frecuencia estas conductas proactivas (Rödel y cols. 2008). Así como ocurre durante la competencia por la leche materna, también en este caso las crías con elevada masa corporal son las que tienen mayor éxito para acceder a las posiciones térmicamente ventajosas y consecuentemente las que tienen mayor temperatura corporal, invierten menos energía en la producción de una proteína esencial para la termogénesis fisiológica (UCP1; Bautista y cols. 2013) y la leche que ingieren la convierten más eficientemente a biomasa (Bautista y cols. 2008). Adicionalmente, el efecto del sitio ocupado por las crías, medido por el número de hermanos en contacto (más hermanos en contacto = mayor aislamiento = posición térmica más favorable dentro del agrupamiento) puede observarse en el peso al destete, no únicamente a nivel intracamada sino también a nivel poblacional (Zepeda y cols. 2019).

La presencia postnatal de los hermanos en mamíferos altriciales no solo implica competencia por los recursos maternos limitados como la leche materna y/o los sitios térmicamente ventajosos dentro del agrupamiento de las crías en el nido, los individuos también se benefician de esta compleja interacción intrafamiliar. En el caso de las crías neonatas de mamíferos altriciales la presencia de los compañeros implica un beneficio mutuo en términos de aislamiento. En un experimento de nuestro laboratorio, mantuvimos dentro de cajas nido a crías del conejo bajo tres condiciones de desarrollo: una cría sola, dos crías y el resto de la camada, encontramos que, en los primeros cinco días postnatales, las crías que crecieron solas convirtieron menos eficientemente la leche a biomasa y tuvieron temperaturas corporales promedio más bajas que sus hermanas que habían crecido en compañía de varios hermanos. Incluso aquellas que habían crecido con un solo hermano mostraron ventajas en crecimiento y temperatura corporal (Bautista y cols. 2003). Por lo tanto, la presencia de los hermanos aparentemente reduce el costo energético de la termorregulación fisiológica permitiendo dirigir ese ahorro energético al crecimiento. Los beneficios termorregulatorios de la presencia de los hermanos de camada hallados en este estudio bien podrían generalizarse a otros mamíferos altriciales de patrón politoco como el ratón o la rata, con capacidades termorregulatorias similares a las del conejo doméstico neonato (Bautista y cols. 2003).

Postnatalmente, las crías neonatas del conejo doméstico crecen en un

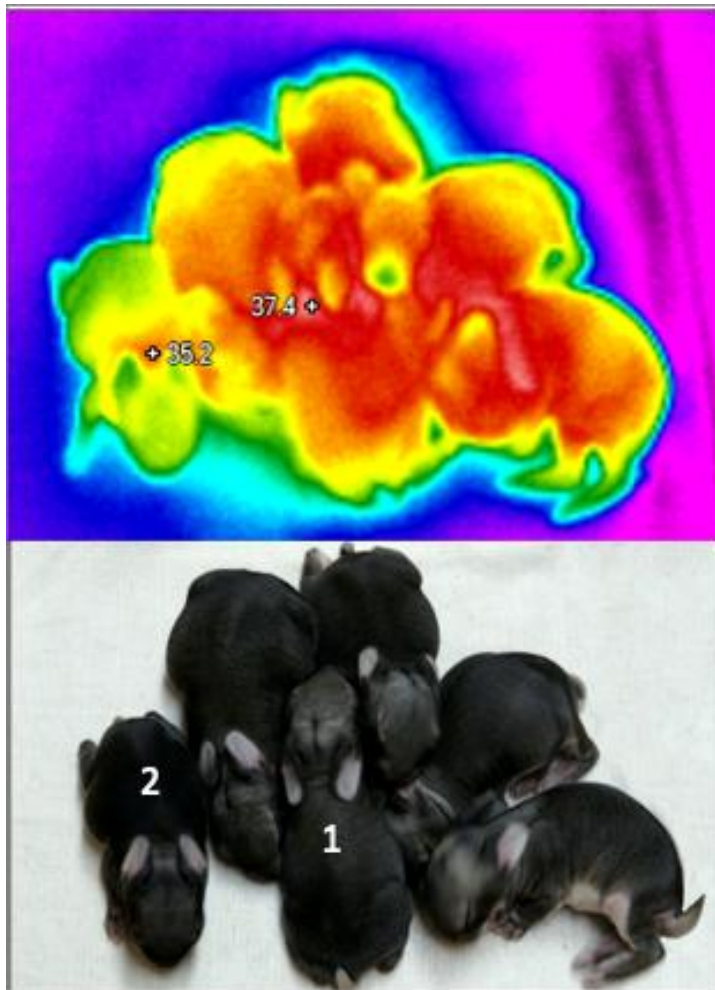


Figura 2. *Panel inferior:* agrupamiento característico de las crías del conejo doméstico a los 2 días posnatales. En el centro del agrupamiento una cría marcada con el número 1 está rodeada por 3 hermanos con quienes mantiene contacto directo y quienes le proveen de un mayor aislamiento térmico en comparación con la cría número 2, ubicada en la periferia, y que sólo mantiene contacto directo con 1 hermano. La consecuencia de ocupar, de manera consistente, diferentes posiciones dentro del agrupamiento afecta la capacidad de las crías para mantener su calor corporal, esto se evidencia mediante una termografía infrarroja (panel superior) en donde se muestra con un marcador el punto más alto de la temperatura corporal en las crías que se encuentran en el centro y en la periferia del agrupamiento; en ambos casos este marcador coincide con el área donde se ubica el tejido adiposo pardo intraescapular, la principal fuente termogénica de las crías neonatas (fotografías de Alfredo Zepeda).

ambiente rico de estímulos provistos por los compañeros de camada. Esta estimulación contribuye positivamente al desarrollo de los individuos. En otro experimento de nuestro laboratorio, metodológicamente similar al descrito en el párrafo anterior, encontramos que las crías de conejo que crecieron aisladas de sus hermanos, pero bajo condiciones de temperaturas ambientales óptimas, también mostraron bajas tasas de crecimiento, un pobre desarrollo locomotor y fueron menos exitosas al competir por agua y alimento cuando fueron juveniles. Esto resalta la importancia de la presencia de los hermanos en términos de una rica fuente de estimulación somatosensorial que impacta positivamente el desarrollo individual (Nicolás y cols. 2011, Muciño y cols. 2009).

En condiciones naturales los beneficios termorregulatorios de la presencia de los hermanos depende del tamaño de la camada y de la temperatura del suelo. Otro de los estudios realizado por el grupo del Dr. Rödel analizó si el tamaño de la camada y la temperatura del suelo a 50 cm de profundidad (similar a la profundidad promedio a la que se encuentran los nidos del conejo silvestre), influían en el crecimiento de las crías, mostró que la ganancia de biomasa fue mayor en aquellas camadas de tres crías pero solo cuando la temperatura del suelo fue menor a 10 °C. Sin embargo, cuando la temperatura ambiental fue mayor a 10 °C, las crías que ganaron más biomasa fueron aquellas que pertenecieron a camadas conformadas únicamente por dos crías. Estos resultados mostraron que, en condiciones de bajas temperatura del suelo, los beneficios térmicos provistos por un mayor número de compañeros de camada superan los costos de la competencia por la leche. El tamaño óptimo de camada desde el punto de vista de las crías depende entonces de las condiciones ambientales experimentadas durante su crianza (Rödel y cols. 2008).

Las interacciones entre hermanos y la ontogenia de la “personalidad”

30

El conejo doméstico también ha resultado ser un buen modelo para estudiar un aspecto poco abordado en mamíferos, el estudio de la “personalidad animal”, particularmente la ontogenia de las diferencias individuales en la conducta y que son consistentes entre contextos y estables en el tiempo (Stamps y Groothuis 2010, Trillmich y Hudson 2011). Considerando que las crías del conejo muestran claras diferencias intracamada en la biomasa al nacimiento y que tales diferencias están asociadas a diferencias conductuales durante la succión de la leche materna y en la competencia por los sitios térmicamente ventajosos, nos preguntamos si estas diferencias

predestete en el fenotipo conductual eran estables hasta la etapa juvenil y hasta la etapa adulta. Esto lo investigamos en crías de conejo para las que determinamos el sitio que ocuparon (central o periférico) dentro del agrupamiento que forman para termorregular conductualmente (ver Figura 2) en el nido durante sus primeros siete días postnatales. Después, pocos días antes del destete, como juveniles y como adultos jóvenes, sometimos a los individuos que habían ocupado posiciones periféricas y centrales dentro del agrupamiento a diferentes pruebas conductuales, medimos la latencia al salto desde una plataforma elevada y su respuesta conductual al chillido de un conespecífico. En el caso de la prueba de salto los individuos que como crías fueron periféricos mostraron una latencia significativamente más corta que sus hermanos que fueron centrales. También, encontramos diferencias en su respuesta conductual al chillido, los individuos periféricos permanecieron menos tiempo inmóviles en comparación de los individuos centrales cuando fueron expuestos al chillido de un conespecífico.

Concluimos que los individuos que en su vida postnatal temprana habían ocupado los sitios periféricos dentro del agrupamiento mostraron respuestas conductuales a largo plazo que indicaban un estilo de personalidad más proactiva, en cambio sus hermanos que como crías ocuparon sitios centrales dentro del agrupamiento, mostraron un estilo de personalidad más reactivo. Por lo tanto, las interacciones tempranas entre los hermanos, específicamente el nicho térmico que ocuparon las crías dentro del agrupamiento en su vida postnatal temprana, contribuyó al desarrollo de los fenotipos conductuales, o estilos conductuales, observados en la edad juvenil y adulta (Reyes-Meza y cols. 2011).

Conclusiones y perspectivas

En los mamíferos la presencia de los hermanos contribuye de manera significativa al desarrollo de diferencias individuales en conducta y fisiología con consecuencias en la supervivencia y posiblemente en la reproducción individual. El conejo, gracias a su peculiar conducta maternal limitada, ofrece un modelo adecuado para estudiar cómo las interacciones entre hermanos modulan la ontogenia de los fenotipos conductuales y fisiológicos. El reto futuro en esta área es indagar los mecanismos neurales y epigenéticos subyacentes a las diferencias individuales en fisiología y conducta, resultantes de las complejas interacciones entre hermanos, algunas de ellas descritas acá para el conejo doméstico.

REFERENCIAS

- Bánszegi O, Altbäcker V, Bilkó Á (2009) Intrauterine position influences anatomy and behavior in domestic rabbits. *Physiol Behav* 98(3):258-262.
- Bánszegi O, Altbäcker V, Dúcs A, Bilkó Á (2010) Testosterone treatment of pregnant rabbits affects sexual development of their daughters. *Physiol Behav* 101:422-427.
- Bautista A, Castelán F, Pérez-Roldán H, Martínez-Gómez M y Hudson R (2013) Competition in newborn rabbits for thermally advantageous positions in the litter huddle is associated with individual differences in brown fat metabolism. *Physiol Behav* 118: 189-194.
- Bautista A, Drummond H, Martínez-Gómez M y Hudson R (2003) Thermal benefit of sibling presence in the newborn rabbit. *Dev Psychobiol* 43:208-215.
- Bautista A, García-Torres E, Martínez-Gómez M y Hudson R (2008) Do newborn domestic rabbits *Oryctolagus cuniculus* compete for thermally advantageous positions in the litter huddle? *Behav Ecol Sociobiol* 62:331-339.
- Bautista A, Mendoza-Degante M, Coureaud G, Martínez-Gómez M, Hudson R (2005) Scramble competition in newborn domestic rabbits for an unusually restricted milk supply. *Anim Behav* 70:1011-1021.
- Bautista A, Reyes V, García-Torres E, Martínez-Gómez M, Hudson R (2007) Newborn rabbits compete for thermally advantageous positions in the litter huddle. *Development Psychobiol* 49(7).
- Bautista A, Rödel HG, Monclús R, Juárez-Romero M, Cruz-Sánchez E, Martínez-Gómez M, Hudson R (2015a) Intrauterine position as a predictor of postnatal growth and survival in the rabbit. *Physiol Behav* 138:101-106.
- Bautista A, Zepeda JA, Reyes-Meza V, Martínez-Gómez M, Rödel HG, Hudson R (2015b) Contribution of within-litter interactions to individual differences in early postnatal growth in the domestic rabbit. *Anim Behav* 108:145-153.
- Bautista A, Zepeda JA, Reyes V, Féron C, Rödel HG, Hudson R (2017) Body mass modulates huddling dynamics and body temperature profiles in rabbit pups. *Physiol Behav* 179:184-190.
- Bell DJ (1980) Social olfaction in lagomorphs. *Symp Zool Soc Lond* 45:141-164.
- Bell DJ (1985) The rabbits and hares: order Lagomorpha. En: Brown RE, MacDonald DW, (Ed.) *Social odours in mammals*. Oxford: Clarendon Press 507-530.
- Broekhuizen S, Bouman E, Went W (1986) Variations in time of nursing in the brown hare (*Lepus europaeus*) and the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Mamm Rev* 16:139-144.
- Delibes-Mateos, M., Villafuerte, R., Cooke, B.D. and Alves, P.C. 2018. *Oryctolagus cuniculus* (Linnaeus, 1758); . En: Smith TA, Johnston HC, Alves P, Hackländer K (Ed.) *Lagomorphs: Pikas, Rabbits, and Hares of the World*. Baltimore, Maryland, USA: Johns Hopkins University Press 99-104.
- Deutsch JA (1957) Nest building behaviour of domestic rabbits under semi-natural conditions. *Anim Behav* 5:53-54.
- Distl O (2007) Mechanisms of regulation of litter size in pigs on the genome level. *Reprod Domest Anim* 2:10-16.
- Drummond H, Vázquez E, Sánchez-Cólon S, Martínez-Gómez M, Hudson R (2000) Competition for milk in the domestic rabbit: survivors benefit from littermate deaths. *Ethology* 106:511-526.
- Fernández Y (2020) Interacciones intra-camada, diferencias individuales en la conducta de marcaje del mentón concentración de estradiol en hembras adultas de conejo doméstico (tesis de maestría). Universidad Autónoma de Tlaxcala, Tlaxcala, México.

- Freeman S, Herron J (2007) Análisis evolutivo 4a edición. Selección sexual. 401-441.
- García-Torres E, Hudson R, Castelán F, Martínez-Gómez M y Bautista A (2015) Differential metabolism of brown adipose tissue in newborn rabbits in relation to position in the litter huddle. *Thermal Biol* 51:33-41.
- Geiser F (2008) Ontogeny and phylogeny of endothermy and torpor in mammals and birds. *Comp Biochem Physiol* 150:176-180.
- González-Mariscal G, Caba M, Martínez-Gómez M, Bautista A, Hudson R (2015) Mothers and offspring: the rabbit as a model system in the study of mammalian maternal behavior and sibling interactions. *Horm. Behav* 77:30-41.
- Hudson R, Bautista A, Reyes-Meza V, Montor JM, Rödel HG (2011) The effect of siblings on early development: a potential contributor to personality differences in mammals. *Dev Psychobiol* 53:564-574.
- Hudson R, Bilkó A, Altbácker V (1996) Nursing, weaning and the development of independent feeding in the rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Mamm Biol* 61:39-48.
- Hudson R, Cruz Y, Lucio RL, Ninomiya J, Martínez-Gómez M (1999) Temporal and behavioral patterning of parturition in rabbits and rats. *Physiol Behav* 66:599-604.
- Hudson R, Trillmich F (2008) Sibling competition and cooperation in mammals: challenges, developments and prospects. *Behav Ecol and Sociobiol* 62:299-307.
- Lincoln DW (1974) Suckling: a time-constant in the nursing behaviour of the rabbit. *Physiol Behav* 13: 711-714.
- Mappes T, Koskela E (2004) Genetic basis of the trade-off between offspring number and quality in the bank vole. *Evol* 58:645-650.
- Monclús R, Pang B, Blumstein DT (2014) Yellow-bellied marmots do not compensate for a late start: the role of maternal allocation in shaping life-history trajectories. *Evol Ecol* 28:721-733.
- Mousseau TA, Fox C (1998) The adaptative significance of maternal effects. *Ecol Evol* 13:403-407.
- Muciño E, Bautista A, Jiménez I, Martínez-Gómez M, Hudson RJ (2009) Differential development of body equilibrium among littermates in the newborn rabbit. *Dev Psychobiol* 51:24-33.
- Mykytowycz R (1962) Territorial function of chin gland secretion in the rabbit, *Oryctolagus cuniculus*. *Nat Lond* 193:799.
- Mykytowycz R, Hesterman ER, Gambale S, Dudzinski ML (1976) A comparison of the effectiveness of the odors of rabbits, *Oryctolagus cuniculus*, in enhancing territorial confidence. *Chem Ecol* 2:13-24.
- Nicolás L, Martínez-Gómez M, Hudson R, Bautista A (2011) Littermate presence enhances motor development, weight gain and competitive ability in newborn and juvenile domestic rabbits. *Develop Psychobiol* 53:37-46.
- Oksanen T, Minna K, Koskela E, Mappes T (2007) The cost of reproduction induced by body size at birth and breeding density. *Evol* 61:2822-2831.
- Reyes-Meza V, Hudson R, Martínez-Gómez M, Nicolás L, Rödel HG, Bautista A (2011) Possible contribution of position in the litter huddle to long-term differences in behavioral style in the domestic rabbit. *Physiol Behav* 104:778-785.
- Rödel HG, Bautista A, Roder M, Gilbert C, Hudson R (2017) Early development and the emergence of individual differences in behavior among littermates of wild rabbit pups. *Physiol Behav* 173:101-109.
- Rödel HG, Dausmann KH, Starkloff A, Schubert M, von Holst D, Hudson R (2012) Diurnal nursing pattern of wild-type European rabbits under natural breeding conditions. *Mamm Biol* 77:441-446.
- Rödel HG, Prager G, Stefanski V, von Holst D, Hudson R (2008) Separating maternal and litter size effects on early postnatal growth in two species of altricial mammals. *Physiol Behav* 93:826-834.

- Rödel HG, Zapka M, Talke S, Kornatz T, Bruchner B, Hedler C (2015) Survival costs of fast exploration during juvenile life in a small mammal. *Behav Ecol Sociobiol* 69:205-217.
- Rödel HG, Hudson R, von Holst D (2008) Optimal litter size for individual growth of European rabbit pups depends on their thermal environment. *Ecol* 155:677-698.
- Ryan BC, Vandenbergh JG (2002) Intrauterine position effects. *Neurosci Biobehav Rev* 26: 665-678.
- Sheldon B (2002) Adaptive maternal effects and rapid population differentiation. *Ecol and Evol.* 17:247-249.
- Stamps J, Groothuis TGG (2010) The development of animal personality: relevance, concepts and perspectives. *Biol Rev* 85:301-325.
- Sulloway FJ (2010) Why siblings are like Darwin's finches: Birth order, sibling competition and adaptive divergence within the family. In Buss, D. Hawley, P. (Ed.), *The evolution of personality and individual differences*: Oxford University Press.
- Trillmich F, Hudson R (2011) The emergence of personality in animals: the need for a developmental approach. *Dev Psychobiol* 53:505-509.
- von Saal FS (1989) Sexual differentiation in litter-bearing mammals: influence of sex of adjacent fetuses in utero. *Anim Scien* 67:1824-1840.
- Zarrow MX, Denenberg VH, Anderson CO (1965) Rabbit: frequency of suckling in the pup. *Science* 159:1835-1836.
- Zepeda JA, Rödel HG, Monclús R, Hudson R, Bautista A (2019) Sibling differences in litter huddle position contribute to overall variation in weaning mass in a small mammal. *Behav Ecol Sociobiol* 73:165.

Modelos animales para estudiar la memoria

Genaro A. Coria-Avila

Pedro Paredes-Ramos

Raúl Rebolledo-Martínez

Deissy Herrera-Covarrubias

“De todo lo que he poseído en mi vida, sólo me quedan mis recuerdos. En verdad, pienso que los recuerdos son el único tesoro verdadero que cualquier ser humano tiene la esperanza de poseer para siempre” Chicome-Xóchitl-Tliléctic-Mixtli”

Introducción

Desde el momento en que nacemos, o quizá antes, desde la relación fisiológica con nuestra madre, las experiencias con el mundo nos hacen formar y fortalecer conexiones neuronales que serán usadas a lo largo de la vida para representar momentos relevantes. A través de millones de años de evolución el sistema nervioso se adaptó para lograr que la información percibida durante una experiencia en particular pudiera guardarse por un tiempo para usarse en momentos futuros, y con ello, lograr mayor adaptación biológica. Esas conexiones formadas en el pasado son las que nos permiten saber quiénes somos en el presente, a qué grupo pertenecemos, dónde encontrar cosas que nos dan placer, o alejarnos de aquello que nos puede dañar. A veces sabemos con exactitud en cual evento del pasado se formó una memoria en particular y porqué preferimos o evitamos algo, y otras veces, aunque no logramos saber exactamente cómo ocurrió, lo expresamos en forma de corazonadas o con una inclinación emocional. Recordar es un proceso fabuloso donde se reactivan en conjunto redes neuronales que en algún momento del pasado usamos durante una experiencia. Quizá por eso decimos que “Recordar es volver a vivir”. Por lo tanto, la pérdida de capacidad para aprender o para recuperar la memoria representa una alteración cognitiva severa que puede resultar en

discapacidad. Sin duda, esto justifica mayor investigación sobre los mecanismos que subyacen a la cognición.

Aprendizaje y memoria, no son lo mismo

El aprendizaje y la memoria son conceptos teóricos que nunca se pueden observar directamente, sino solo a través de la conducta (Squire & Kandel, 1987). Aprender significa cambiar nuestra respuesta conductual cuando somos expuestos nuevamente ante circunstancias similares a las que vivimos en el pasado; mientras que memorizar significa almacenar lo aprendido y poder recuperarlo en eventos futuros. Por ejemplo, si al subir una escalera un escalón estuviera ligeramente más alto y tropezaras, se esperaría que en caso de haber aprendido sobre esa experiencia la siguiente vez que subieras por las mismas escaleras cambiarías algo en tu conducta, quizá dando un paso más alto. Lo aprendido (el cambio en la longitud o altura de tus pasos) podría durar unos días y después desaparecer, de tal forma que unos meses después quizá volverías a tropezar al subir por la misma escalera. Este ejemplo sirve para asumir que muchas de las experiencias vividas pueden generar un aprendizaje, pero no todo lo aprendido se guarda en forma de memoria duradera. Curiosamente, otros tipos de memorias con información de tipo emocional y personal sí pueden durar toda la vida. En la actualidad sabemos que para formar una memoria duradera se requiere generar, estabilizar, consolidar y mantener modificaciones a nivel de la sinapsis en las neuronas involucradas (Rudy, 2014). La evidencia obtenida en modelos animales a lo largo de los últimos 150 años ha permitido catalogar los diferentes tipos de aprendizaje y memoria, así como los correlatos neurales y las partes del cerebro donde ocurren. Perros, gatos, conejos, ratas, ratones, babosas marinas (*Aplysia*), monos y humanos han aportado información valiosa para entender que los mismos mecanismos son compartidos por todas las especies, representando un continuo filogenético.

Tipos de memoria

Los estudios en animales y humanos han mostrado que existen diversos tipos de memoria. Esta se puede clasificar por el tiempo que dura almacenada o por el tipo de información guardada (Figura 1). Por ejemplo, en relación al tiempo, existe la memoria de corto plazo que permite guardar información por periodos breves (aproximadamente un minuto). Esta funciona como un sistema operativo que da continuidad cognitiva a las actividades del presente, tales como comunicarnos, saber dónde estamos

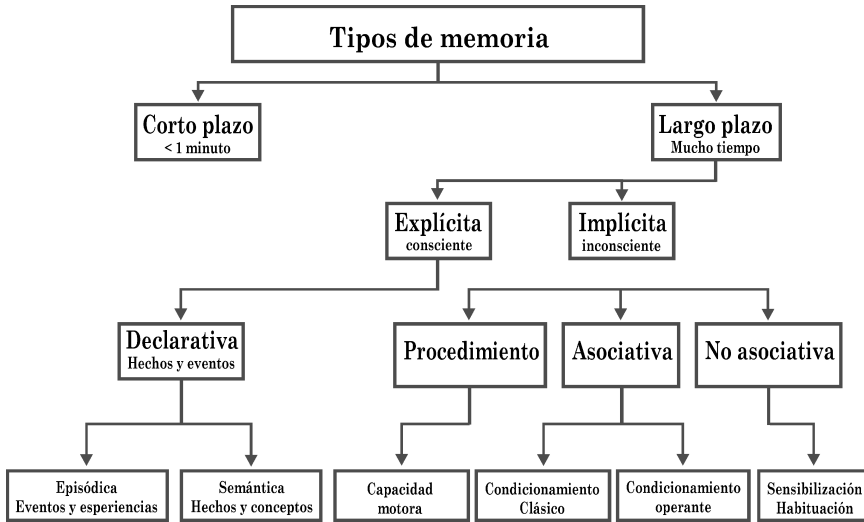


Figura 1. Clasificación de memoria por el tiempo de duración y por el tipo de información guardada.

y con quién, y tomar estrategias conductuales de acuerdo a lo que acaba de ocurrir, por lo que también se le llama memoria de trabajo. Por su duración la memoria también puede ser de largo plazo y durar minutos, días o años. Esta nos permite tomar estrategias conductuales en el presente haciendo comparaciones con información del pasado lejano. La memoria de largo plazo se clasifica además por el tipo de información guardada y puede ser explícita (también llamada declarativa) o implícita (no declarativa). La memoria explícita se clasifica en memoria episódica y memoria semántica. La primera se refiere a información sobre episodios de la vida, es decir, quienes somos, quién es nuestra familia, dónde nacimos o qué desayunamos la semana pasada. La memoria semántica se refiere a la información teórica o conceptos que aprendemos de libros. Se le llama memoria explícita o declarativa porque podemos explicarla o declararla y porque se puede transmitir a otra persona con el uso del lenguaje. Un ejemplo sería una experiencia de la niñez que incluiría los detalles de la historia o la explicación de una fórmula matemática. Por el contrario, la memoria implícita se refiere a un conocimiento que no se puede explicar, ni pasar a otra persona por medio de la declaración. Solo el individuo que vivió el aprendizaje puede conservar esa información. La memoria implícita se divide en memoria de procedimiento, memoria asociativa y no asociativa. Un ejemplo de memoria de procedimiento es la que te permite

aprender movimientos específicos, como andar en bicicleta o caminar. La memoria asociativa se refiere a las respuestas fisiológicas o conductuales que resultan del condicionamiento clásico y operante, respectivamente. El aprendizaje no asociativo se refiere al aumento o disminución de respuestas reflejas después de haber sido expuestos a estímulos fuertes o débiles, resultando en sensibilización o habituación a los estímulos.

Modelos animales para estudiar memoria

Todos los modelos en animales para estudiar el aprendizaje y/o la memoria se basan en dos premisas: 1) Las experiencias que producen aprendizaje modifican la conducta, y 2) las modificaciones de la conducta tienen que durar cierto tiempo. Por lo tanto, todas las pruebas de memoria tratan de exponer a los animales a circunstancias donde deban de modificar su conducta (la frecuencia, intensidad o rapidez de una respuesta), para después explorar si esa misma respuesta puede recuperarse en un plazo corto o largo. A continuación, mencionamos cómo se descubrieron los tipos de memoria y algunos modelos que han surgido para estudiarlas.

El perro de Pavlov y la memoria emocional

Ivan P. Pavlov (1849-1936) describió las bases fisiológicas del condicionamiento clásico, también conocido en su honor como “aprendizaje Pavloviano”. Este tipo de aprendizaje genera memorias reflejas de tipo fisiológico y emocional, las cuales modulan el comportamiento de manera involuntaria, inconsciente y a veces para toda la vida. Una memoria emocional que dura toda la vida tiene gran relevancia, pues puede representar momentos agradables como la euforia o desagradables como el miedo.

Originalmente los experimentos en los perros de Pavlov estaban diseñados para entender la fisiología de la digestión. Tenían pequeños tubos implantados quirúrgicamente en los orificios de salida de las glándulas que producen saliva con el objetivo de medir la producción de la misma. Así, cada vez que daba comida a sus perros podía medir la saliva acumulada en un contenedor calibrado al final del tubo. Pavlov observó que la sola presencia de comida desencadenaba la respuesta de salivación, entonces, parecía lógico pensar que, cuando la comida tocaba la lengua, el sistema nervioso procesaba información para que las glándulas salivales respondieran. Sin embargo, con el paso de los días descubrió algo mucho más interesante. Los perros comenzaban a salivar cuando Pavlov llegaba al laboratorio, ¡antes de que se les ofreciera comida! Así supuso que el sistema nervioso también aprendía a hacer asociaciones para predecir lo que

iba a ocurrir y adelantarse para lograr mejor eficiencia. Por ejemplo, podría asumirse que salivar antes de que llegue la comida a la boca es tener una mayor eficiencia digestiva.

Pronto se le ocurrió un experimento muy sencillo para probar su hipótesis. Antes de ofrecer la comida comenzaba a tocar una campana, la cual por sí sola no hacía que los perros salivaran. Con las repeticiones encontró que, los perros comenzaban a salivar si el sonido se convertía en un estímulo de suficiente intensidad, incluso sin la presencia de comida. Pavlov determinó que un estímulo neutro (como el sonido de una campana) que antecede a un estímulo incondicionado (como la comida) llega a convertirse en un estímulo condicionado, capaz de generar una respuesta similar a la del estímulo incondicionado (Pavlov, 1927). Estos hallazgos le significaron el premio nobel de fisiología en 1904, y se convirtieron en fundamentos relevantes para la psicología y la psiquiatría actual. Gracias al estudio del condicionamiento clásico se entiende que muchas respuestas fisiológicas y algunas emociones como el miedo, la ansiedad, o los deseos por algo, pueden ser reflejos condicionados expresados de manera anticipada con la mera presencia de un estímulo predictor, como resultado de un aprendizaje asociativo, involuntario, inconsciente y de larga duración. Al entender tales mecanismos, los clínicos pueden hacer aproximaciones cognitivo-conductuales para ayudar a los pacientes con alteraciones del comportamiento.

Prueba de reflejos condicionados

Los reflejos condicionados pueden explorarse a través de la evitación activa o pasiva. En el caso de estudiarse en animales de laboratorio se utiliza una caja con dos compartimentos de igual tamaño, pero con paredes y piso de rejilla diferentes. Las cajas más sofisticadas contienen un dispositivo que emite un sonido y para cada compartimento una señal de luz. Cuando se explora la evitación activa, las ratas deben evitar un estímulo aversivo mediante la ejecución de una respuesta motora. Por ejemplo, una vez dentro de la caja deben ser capaces de memorizar que con las repeticiones la luz se convierte en un predictor (estímulo condicionado, EC) de un estímulo incondicionado aversivo como los shocks en la planta de las patas. Una rata que ha guardado la información del pasado (asociación entre luz y el shock inminente) se moverá (activamente) al compartimento 2 cuando detecte la luz en el compartimento 1, y no esperará hasta recibir los shocks. De manera alternativa se puede evaluar la memoria emocional por evitación pasiva. Para ello las ratas reciben un shock cuando se mueven al

compartimento preferido (comúnmente el más oscuro), con lo cual se moverán al lado menos preferido (color claro, o iluminado). Después de varias asociaciones las ratas son puestas en el lado claro. Si la rata conserva alguna memoria evitará de manera pasiva visitar el lado oscuro.

Prueba de miedo condicionado

Al igual que con los reflejos condicionados, los animales pueden mostrar conductas indicadoras de emociones, como el miedo. Cuando el miedo es generado de manera incondicionada en un sujeto se dice que fue el resultado de la exposición ante un estímulo que de manera natural evoca miedo (sin necesidad del aprendizaje). Por ejemplo, una rata que se queda inmóvil frente a un depredador, como los gatos. Por el contrario, cuando el miedo es generado por una memoria condicionada, se dice que es porque el individuo aprendió a asociar estímulos neutros (un perfume, un sonido, o una luz) con la presencia del gato. Los estímulos neutros se convierten en estímulos condicionados que pueden generar la respuesta del miedo, como la inmovilidad total, también llamada congelamiento. En la prueba de miedo condicionado hay una fase de entrenamiento, en la cual una rata es expuesta a un estímulo neutro (sonido o luz) que será asociado a través de varias repeticiones con un estímulo aversivo incondicionado. Para poder controlar mejor los experimentos, el estímulo aversivo que se usa no es un gato, sino una leve descarga eléctrica que emite ligeros shocks en la planta de las patas. Después de un tiempo se presenta a los animales el estímulo condicionado (sonido o luz). Si se presenta la respuesta de congelamiento se asume que el animal mantuvo una memoria con la información de asociación.

Prueba de preferencia de lugar condicionado

Las memorias o respuestas condicionadas también pueden formarse por recuerdos recompensantes. En la prueba del CPP (siglas de Conditioned Place Preference) se exploran las memorias emocionales que producen preferencias inconscientes. Por ejemplo, en las ratas se usan arenas con tres compartimentos. Un compartimento experimental suele ser oscuro, con piso de rejas, mientras que el compartimento opuesto experimental es claro con piso de malla. Estas diferencias son importantes para ofrecer al animal distintas cualidades sensoriales entre los compartimentos experimentales. Entre los dos compartimentos experimentales hay un compartimento más, denominado neutro por ser más pequeño y con características físicas que le hacen menos apetecible a la rata permanecer ahí. Por ejemplo, suele ser un

espacio reducido, de color gris, y con piso de barras. En una primera prueba se coloca a la rata en el compartimento neutro y se abren las compuertas que conectan a los dos lados experimentales. En un tiempo de 10 min la rata explora ambo lados y aquel donde pase más tiempo se considera el preferido incondicionalmente. En días siguientes se comienzan a hacer asociaciones entre un estímulo presuntamente reforzador (placentero) y el lado menos preferido, pero con las puertas cerradas. Se asume que al pasar tiempo en el lado menos preferido de manera obligada y después de la experiencia reforzadora modificará la valencia de ese estímulo. Por ejemplo, una rata sería inyectada con morfina y posterior a la inyección se colocaría en el lado originalmente no preferido. En una segunda fase de prueba las ratas se colocan nuevamente en el compartimento neutro y se abren las compuertas de los lados experimentales para volver a ser explorados. Los cambios de preferencia de lugar indican una preferencia condicionada, y sirven para asumir el valor reforzante de ciertos estímulos. Es decir, el compartimento originalmente no preferido se convierte en el preferido por la asociación con la morfina. Otros estímulos conocidos que producen CPP son el sexo, la mayoría de las drogas, las cosquillas, el acceso a crías, el juego, y la estimulación eléctrica de algunas partes del cerebro. Cuando se administran antagonistas (bloqueadores de la activación) de los opioides, como la naloxona, se pierden la CPP asociada a morfina, sexo, o cosquillas, indicando que los opioides forman parte del sustrato neural que modula algunos placeres.

El gato de Thorndike y la memoria operante

Edward Thorndike (1874-1949) dio inicio al estudio de las bases científicas del aprendizaje operante. En sus experimentos introducía a un gato en una jaula cerrada, pero con la posibilidad de abrirse con ciertos movimientos de cuerdas o palancas colocadas en el interior. Eventualmente, un gato encerrado se tornaba aburrido y respondía con algún movimiento que por casualidad resultaba en la apertura de la puerta. Con las repeticiones el movimiento se hacía más exitoso y lograba asociarse con el escape, hasta lograr cierta eficiencia. Thorndike denominó sus hallazgos como “la ley del efecto” para explicar cómo las consecuencias que siguen a nuestra conducta pueden asociarse con las consecuencias y con ello incrementar o disminuir la probabilidad de que se repita dicha conducta. A partir de sus estudios muchos otros psicólogos que le siguieron, como Watson y Skinner, reforzaron y enriquecieron las bases de las conductas operantes motivadas. En el caso del gato de Thorndike la conducta era seguida por la posibilidad de escapar. Por lo tanto, el valor incentivo del escape debía asociarse de manera retró-

grada con la conducta inmediata anterior que lo provocó (Thorndike, 1933). Existen muchos otros estímulos con consecuencias reforzadoras de la conducta, tales como la comida, el sexo, la euforia, la sensación de poder, etc. Si la expresión de la conducta se explora de manera inmediata puede representar una memoria de corto plazo (memoria de trabajo), mientras que con el tiempo representa memoria de largo plazo.

Prueba DMTP/DNMTP

Las pruebas de igualación demorada con la posición / no igualación con la posición (DMTP / DNMTP, por sus siglas en inglés para Delayed Matching To Position/Non-Matching To Position tasks) se utilizan para evaluar memoria de corto plazo sin que se confunda con motivación. La memoria de trabajo implica mantener información por un tiempo breve relacionada a un estímulo que acaba de ser ocultado. La información no requiere que el individuo haga operaciones mentales, pero debe servir para resolver situaciones relacionadas a la información del objeto presentado, por ejemplo, recibir un estímulo reforzador. Para probar esta memoria en la rata de laboratorio se utiliza una caja de comportamiento operante. En la primera fase (muestreo), la rata debe apretar una palanca dentro de la caja. Al ser apretada la palanca se retrae para ocultarse y la rata puede ir a la parte posterior de la caja para recoger la recompensa, que usualmente es un cubito de alimento. Hasta aquí, el movimiento de la palanca y la recompensa de comida es una asociación simple que requiere motivación por la comida. Por ello, la movilización de la rata hacia la parte posterior garantiza, de algún modo, que al volver a ser expuesta a las palancas no las apriete de manera refleja, sino por el uso de la memoria. Después se dejan pasar unos cuantos segundos, en tiempo fijo o variable y se presentan dos palancas para que la rata decida apretar una de ellas (fase de prueba). En la prueba DMTP se asume que si su memoria de trabajo funciona elegirá la misma palanca que le dio la recompensa y cada vez tendrá menos errores, a pesar de alternar entre la palanca asociada a la recompensa y la otra que no la da. De manera alternativa existe la prueba DNMTP, con la cual el animal debe presionar la palanca opuesta a la que eligió la primera vez. Para poder ser confiables ambas pruebas deben tener una buena fase de muestreo. Se sabe que la memoria de trabajo se afecta de manera inmediata con el tiempo transcurrido, por lo tanto, entre más tiempo de retraso transcurra entre el muestreo y la prueba disminuirá el porcentaje de respuestas correctas.

Existen variantes de las pruebas DMTP. Por ejemplo, si le muestras a un animal algo apetecible pondrá atención al lugar donde lo guardes y ten-

drá que mantener esa información por un tiempo hasta tener la posibilidad de ir y obtenerlo. Se muestra a un animal un pedazo de comida y se coloca dentro de un compartimento (de un total de dos). Después se bloquea la vista para que no vea la pista y se genere el reto a conservar la información. Posteriormente se le da acceso para que elija el lugar indicado. Un animal con buena memoria aprende esta tarea con rapidez y tendrá muy pocos errores. Se ha mostrado que animales con lesiones en regiones cerebrales como la corteza prefrontal (CPF) expresan muchos errores en esta prueba, es decir, tienen déficits para formar memoria de corto plazo.

Mecanismos neurales asociados a la memoria

La Aplysia de Kandel y la Plasticidad Neural

A principios de 1960 Eric Kandel comenzó a describir algunos de los mecanismos de aprendizaje no asociativo como la habituación, deshabituación y la sensibilización en caracoles marinos (del género *Aplysia*). Además, profundizó en los efectos del aprendizaje asociativo Pavloviano y su efecto en la plasticidad del sistema nervioso. Con ese modelo generó mucha información sobre cómo el sistema nervioso cambia su organización para generar memoria de corto y luego de largo plazo. En sus experimentos, aprovechó un reflejo natural de la *Aplysia californicans* llamado reflejo de retiro (withdrawal reflex), el cual consiste en una contracción rápida de la branquia cuando se toca suavemente el sifón del animal. Con la estimulación del sifón en repetidas ocasiones y con baja intensidad el reflejo en la branquia disminuye, produciendo así la habituación. Es decir, una respuesta más débil cuando se da, de manera repetida, el mismo estímulo. También demostró que con un lapso de tiempo de descanso el reflejo regresa, produciéndose entonces la deshabituación espontánea. Curiosamente, reportó que si un estímulo aversivo, como un leve shock eléctrico en la cola, se asocia en contingencia con el estímulo suave en el sifón, entonces el reflejo en la branquia se hace más intenso produciendo, con el mismo estímulo, una respuesta de mayor intensidad conocida como sensibilización. Todos los animales podemos habituarnos o sensibilizarnos a estímulos de esa misma forma y disminuir o exagerar nuestras respuestas conductuales, respectivamente. Se demostró que la presencia de interneuronas entre el sifón y la branquia son responsables del proceso de habituación y deshabituación, mientras que otras interneuronas entre la cola, el sifón y la branquia son las responsables de la sensibilización. Muchas fobias en los humanos responden a los mecanismos de sensibilización, mientras que los tratamientos de las mismas pueden basarse en desensi-

bilización o habituación. Con este modelo animal Eric Kandel recibió el premio nobel de fisiología en el año 2000, pues logró explicar el papel que tienen los receptores transmembranales presinápticos y las cascadas bioquímicas que dirigen el mecanismo de la memoria, a saber, la activación de la enzima adenil ciclasa, esta incrementa el adenosín monofosfato cíclico (AMPC), que a su vez activa a la proteína cinasa a lo que resulta en la liberación de glutamato hacia la neurona postsináptica. Este proceso molecular fortalece a las sinapsis para mantener la memoria de corto plazo. Mediante la repetición constante, las enzimas cinasas comienzan a generar cambios en el núcleo celular para activar síntesis proteica que determinará la plasticidad neuronal, es decir, más espinas dendríticas que fortalecen la conectividad entre esas neuronas (Kandel, Schwartz, & Jessell, 2001).

El conejo de Bliss y Lomo, y la Potenciación a Largo Plazo

Entre 1960 y 1970 Terje Lomo y Timothy Bliss describieron en el hipocampo de conejos una respuesta que denominaron la potenciación a largo plazo (LTP, por sus siglas en inglés), la cual sigue siendo actualmente la explicación fisiológica más fuerte sobre los cambios que deben ocurrir en las sinapsis para mantener la información en forma de memoria. El hipocampo es conocido por regular la entrada de la información que será almacenada a corto plazo, además de enviar, a las diferentes cortezas cerebrales, la información que se almacenará a largo plazo. Así, cuando los axones de la vía perforante del hipocampo del conejo eran estimulados eléctricamente por un solo pulso eléctrico simple, se podía detectar que al final de ellos en el área llamada giro dentado se detectaba un potencial postsináptico excitatorio (EPSP, por sus siglas en inglés). Lo que Bliss y Lomo descubrieron es que, si la vía perforante se estimulaba de manera repetida con baja intensidad, entonces un pulso eléctrico simple generaba EPSP más intensos y de larga duración, es decir una LTP. Sus hallazgos mostraron cómo la estimulación repetida de baja intensidad produce cambios en los neurocircuitos involucrados en una memoria, haciéndolos eléctricamente más potentes (Bliss & Lomo, 1973). En otras palabras, el modelo de LPT explica porqué se fortalecen los neurocircuitos cuando repetimos el mismo aprendizaje una y otra vez.

El ratón de Tonegawa y la estimulación de un engrama

El premio nobel de fisiología (1987) Susumo Tonegawa mostró el papel del hipocampo en la formación y recuperación de memorias de tipo emocio-

nal. En sus experimentos usó ratones para mostrar que si se estimula de manera específica las neuronas del hipocampo que estuvieron activas durante el aprendizaje en el pasado, entonces las memorias de ese aprendizaje se recuperan y producen conductas similares a la experiencia misma. Primero, él y su equipo indujeron la respuesta de miedo en ratones a través de un shock leve en la planta de las patas y utilizaron un marcador molecular (C-Fos y canal rodopsina 2, ChR2) para identificar y hacer esas neuronas sensibles a la luz. Posteriormente, utilizó la luz para activar de manera específica a las neuronas marcadas, pero no a las adyacentes, y observó la respuesta de miedo únicamente solo en ratones que tuvieron esa experiencia en el pasado, no en aquellos que no la habían experimentado. Con sus hallazgos demostró que la activación del hipocampo es suficiente para activar engramas completos donde se guarda la memoria (Liu et al., 2012).

Pruebas de memoria episódica

Las múltiples memorias de H.M.

La información que Brenda Milner recolectó durante 50 años (1957-2008) sobre Henry Molaison (H.M.) revolucionó nuestro conocimiento sobre el aprendizaje y la memoria. H.M. ha sido hasta ahora la persona más famosa en la historia por haber perdido la capacidad de formar nuevas memorias episódicas después que, como parte de una terapia para epilepsia farmacológicamente intratable, gran parte de la corteza temporal inferior le fuera removida de manera bilateral por el cirujano William B. Scoville. Posterior a la cirugía Milner realizó múltiples pruebas en H.M. y comprobó que aunque no tenía la capacidad de formar recuerdos relacionados a episodios de su vida posterior a la fecha de la cirugía, sí mantenía intactas otras memorias del pasado, y además era capaz de aprender nuevas tareas de tipo procedimental, Pavloviano, operante, o sensibilizarse y habituarse. Por ejemplo, H.M. fue capaz de aprender a dibujar una estrella siguiendo el reflejo de su mano en un espejo, y con la práctica mejoraba constantemente. Milner demostró que existen múltiples sistemas de memoria, guardados en diferentes partes del cerebro, pero que la porción temporal inferior donde yace el hipocampo es crucial para la formación de memoria explícita episódica.

45

El mono de Mishkin

Los experimentos de Mortimer Mishkin en monos también corroboraron que existen diferentes tipos de memoria y que cada tipo se guarda en regiones específicas del cerebro. Por ejemplo, con experimentos electrofi-

siológicos, farmacológicos, de neuroimagen y lesiones experimentales, mostró el papel de los núcleos basales en la formación de memorias de procedimiento y hábitos, mientras que las estructuras límbicas participan en el almacenamiento de emociones e información episódica. Además, utilizando en monos las pruebas de igualación demorada con la posición (DMTP) mostró que las lesiones al lóbulo temporal medial o de las conexiones a la corteza temporal inferior afectaban la formación de nuevas memorias, muy parecido a lo que le había ocurrido a H.M. muchos años antes (Murray & Mishkin, 1998).

Prueba de reconocimiento de objeto

Uno de los grandes retos en la investigación de la memoria episódica es la relacionada con la dificultad de preguntar a los animales si recuerdan cierto episodio del pasado. Cuando se trata de explorar esta memoria en las ratas se aprovecha su predisposición natural para explorar ambientes y cosas nuevas. Si la rata es expuesta a un ambiente que ya conoce, pero que contiene algún objeto nuevo, pasará más tiempo explorando el objeto nuevo comparado con el tiempo que pasará explorando otros objetos ya conocidos dentro de la misma caja. En la fase de entrenamiento las ratas son expuestas a varios objetos para que los exploren y se mide el tiempo de esa exploración. En la fase de prueba la rata es expuesta a dos objetos, uno conocido y uno nuevo. Si la rata explora más tiempo el objeto nuevo se asume que lo identifica como desconocido, porque nunca ha tenido contacto. Si la rata explora igual ambos objetos se asume que no recuerda el objeto conocido, es decir, no recuerda el episodio donde lo exploró previamente.

Prueba de reconocimiento social

La prueba de reconocimiento social es muy parecida a la de reconocimiento de un objeto. Las ratas son individuos sociales y curiosos, y prefieren explorar a un individuo nuevo que a uno ya conocido. En la primera fase la rata es expuesta a otra rata y se permite que interactúen socialmente. En la segunda fase se le presentan dos ratas, una conocida y una no conocida. Comúnmente la rata experimental prefiere explorar por más tiempo a la rata nueva. Con ello se asume que su memoria está intacta. Si, por el contrario, pasa igual tiempo explorando al nuevo y al conocido, se asume que no conservó memoria de haber conocido a uno de ellos.

Laberinto acuático de Morris

La prueba de memoria en el laberinto acuático de Morris es quizá la más po-

pular de todas las pruebas de memoria. Esta prueba es muy sencilla y reta al animal a memorizar señales del lugar para ser usadas en la búsqueda de una plataforma oculta debajo del agua opaca. El laberinto de Morris es esencialmente una alberca redonda para roedores dividida en cuatro cuadrantes. Permite evaluar condiciones como velocidad, cruce de cuadrantes (distancia) y latencia (tiempo transcurrido) antes de encontrar la plataforma oculta, así como movimientos y motivación. Cuando una rata es puesta a nadar mostrará una tendencia natural a buscar una plataforma para descansar. Las siguientes veces que la rata es expuesta a la prueba debe encontrar la plataforma con menos errores cada vez y en menor tiempo. Al cambiar la ubicación de la plataforma se puede evaluar el reaprendizaje. Esta prueba permite evaluar el efecto dañino del envejecimiento, lesiones (i.e. en hipocampo), o drogas. Cuando la plataforma se coloca de manera visible permite inferir la motivación y capacidad motora de los animales para subirse a ella, pero si se coloca oculta permite inferir memoria. Se deben colocar objetos o imágenes en la sala de prueba (i.e. en la pared) para facilitar el proceso de memoria y ubicación espacial de las ratas.

Laberinto radial

En esta prueba se utiliza un laberinto con múltiples brazos que representan posibles entradas a partir de un espacio central de salida. Se usan animales en ayuno y se les ofrece comida en alguno de los brazos. Se asume que las ratas deben utilizar su memoria espacial para recordar la ubicación donde ya consumió la comida. Así, la entrada repetida a un brazo donde ya se consumió se considera como una falta de memoria.

Conclusiones

El estudio del aprendizaje y la memoria en los diferentes modelos animales ha permitido profundizar sobre los múltiples tipos de memoria, así como sus bases anatómicas y celulares. Gracias a la información experimental se sabe más del proceso normal de generación, conservación y pérdida de memoria en los humanos, por ejemplo, con la edad. Sin embargo, se requieren de más estudios en modelos animales para comprender los mecanismos de enfermedades o condiciones anormales que llevan a las disfunciones cognitivas.

REFERENCIAS

- Bliss, T. B., & Lomo, T. (1973). Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J. Physiol*, 232(2). doi:doi: 10.1113/jphysiol.1973.sp010273.
- Liu, X., Ramirez, S., Pang, P. T., Puryear, C. B., Govindarajan, A., Deisseroth, K., & Tonegawa, S. (2012). Optogenetic stimulation of a hippocampal engram activates fear memory recall. *Nature*, 484, 7394.
- Murray, E. A., & Mishkin, M. (1998). Object recognition and location memory in monkeys with excitotoxic lesions of the amygdala and hippocampus. *J Neurosci*, 18(16). doi:doi: 10.1523/JNEUROSCI.18-16-06568.1998.
- Pavlov, I. (1927). *Conditioned reflexes*. Oxford: University Press.
- Rudy, J. W. (2014). *The neurobiology of learning and memory* (Second ed.). Southerland MA: Sinauer Associates.
- Squire, L. R., & Kandel, E. R. (1987). *Memory from mind to molecules*. New York: W. J. Freeman and Company.
- Thorndike, E. L. (1933). A proof of the law of effect. *Science*, 77(1989). doi:doi: 10.1126/science.77.1989.173-a

III

Modelos animales para el estudio del autismo

Daniela Monje Reyna

Ma. Rebeca Toledo Cárdenas

Fidel Santamaría

Jorge Manzo Denes

Introducción

El Trastorno del Espectro Autista (TEA), comúnmente llamado autismo, se refiere a un conjunto de desórdenes de aparición temprana en el neurodesarrollo y que tiene como características centrales deficiencias en la conducta social y de comunicación, así como intereses y comportamientos estereotipados.^{1,2} No obstante, el TEA cubre una gama heterogénea de manifestaciones (fenotipos) donde la severidad del trastorno puede presentarse desde manera leve a severa, junto con otras comorbilidades como ansiedad, depresión, epilepsia y déficit de atención e hiperactividad, disfunciones gastrointestinales, desordenes de sueño, entre otros². Su etiología es multifactorial, viéndose involucrados factores genéticos, ambientales, exposición a drogas, toxinas, infecciones virales y disfunciones del sistema inmune pre y postnatal.³ En este trastorno se presentan circuitos de conectividad cerebral anormal, implicados en el procesamiento de la información sensorial compleja, del lenguaje, la comunicación, los circuitos afectivos, de percepción y movimiento, entre otros. El incremento en la incidencia de los casos de TEA en todo el mundo ha motivado el interés y esfuerzo para la investigación sobre el proceso neuropatológico de fondo. De manera global se estima que 1 de cada 100 niños padece TEA⁴, en EUA 1 de cada 68², y una cifra equivalente en México. El autismo hasta el momento no se puede revertir y solo se cuenta con diferentes estrategias de aproximación terapéutica y preventiva, así como tratamientos farmacológicos dirigidos hacia las comorbilidades.^{2,6,7} Presenta un prominente sesgo de género donde los niños son 4.5 veces más afectados que las niñas.^{2,5}

La complejidad clínica de esta patología ha hecho sumamente difícil

determinar cómo los factores genéticos y ambientales interactúan, alterando los procesos del neurodesarrollo que, en última instancia, producen la sintomatología del TEA.² Esta variabilidad y diversidad presentan un desafío para el modelamiento del autismo en animales. No obstante, su uso en la investigación presenta la ventaja de obtener información muy detallada, que puede llenar los vacíos de conocimiento sobre este trastorno en los seres humanos. Así, los modelos animales nos permiten establecer un sistema experimental para evaluar algunas hipótesis, que por razones éticas y prácticas es imposible de probar en humanos.⁷ La fortaleza de emplear modelos animales, es, entre otros, la posibilidad de integrar, en un solo organismo, diferentes tipos de evaluaciones, como las conductuales, los mecanismos moleculares, los procesos celulares, los genéticos, la neuroimagen en vivo o postmortem o la electrofisiología, conjunciones que serían imposibles, o muy difíciles, de realizar durante la investigación en humanos.^{7,8,9}

Los modelos animales cumplen un papel esencial en dos direcciones: una, para potenciar acciones donde los hallazgos se trasladen al humano de manera predictiva, esto es, utilizar descubrimientos del área de ciencia básica para explorar y entender un mecanismo con el fin de poder desarrollar nuevas estrategias de intervención o terapias; la segunda, para trasladarlos de manera inversa, esto es, utilizando el mecanismo de un modelo animal para explorar aplicaciones en la práctica clínica humana.⁷

Los criterios para un buen modelo animal se han discutido extensamente.^{7,9} Para un modelo de autismo el objetivo básico es que potencie la etiología del trastorno desde un paradigma experimental, con la generación de un animal que exhiba cambios en la conducta relacionados a las características centrales del autismo. De manera general un buen modelo animal debe tener tres atributos: uno, validez de constructo (correspondencia con las bases biológicas que ocasionan el trastorno); dos, validez aparente (asemeja las características de la enfermedad) y tercero, la validez predictiva (la posibilidad de predecir nuevos mecanismos en el trastorno y así diseñar nuevos tratamientos). Aunque es claro que ningún modelo animal representa completamente la complejidad de los TEA en humanos, de manera general los modelos que se han desarrollado y, que son muy útiles, son los que se describen a continuación.

Animales modificados genéticamente, donde se manipula un solo gen, genes de riesgo emergentes o copias y número de variantes. La manipulación genética no modela de manera perfecta todas las características patológicas del TEA, para ello también se utilizan los modelos idiopáticos

(varias causas) y que mediante cepas endogámicas manifiestan algunos comportamientos del autismo. Otros modelos son los que emplean intervenciones ambientales como la exposición a teratógenos (que causan alteraciones congénitas, por ejemplo durante el desarrollo) y, por último, también se han desarrollado modelos que intervienen en la activación alterada del sistema inmune.^{2,10,11,12}

A continuación, se expondrán los modelos animales que cumplen claramente con los atributos mencionados y que se emplean actualmente. Estos son: modelos en roedores, el pez cebra, el nemátodo *C. elegans*, la rana *Xenopus laevis* y la mosca *Drosophila melanogaster*.

Modelos en roedores

Los modelos en roedores se han usado para evaluar hipótesis tanto genéticas como de factores ambientales, es el modelo animal que cuenta con mayores referencias y el más utilizado históricamente. Los modelos desarrollados abarcan desde la modificación de un solo gen, variantes en el número de sus copias, modificaciones epigenéticas, infecciones prenatales y disfunciones del sistema inmune, así como alteraciones de genes de riesgo múltiple e interacciones genéticas y medioambientales.¹¹ En los modelos de roedores se pueden simular una gran cantidad de características de los TEA, y desde luego las características centrales (los déficits sociales y de comunicación y las conductas repetitivas). Los fenotipos evaluados con mayor frecuencia son los relacionados a las características centrales de los TEA en humanos, y que en roedores se comparan a sus interacciones sociales, vocalizaciones ultrasónicas y conductas repetitivas. Además también se pueden observar características neuroanatómicas como cambios en la arquitectura dendrítica.^{12,13,14}

Los modelos de ratón se emplean principalmente para la modificación de factores genéticos y son llamados comúnmente *knockout* o KO, ratones modificados genéticamente para que uno o más de sus genes estén inactivados. Los modelos en la rata de laboratorio se emplean de manera más común para la manipulación de inductores medioambientales o teratógenos.^{10,12,14}

Modelos Genéticos

La manipulación de las variantes genéticas ofrece la oportunidad de investigar *in vivo* las consecuencias fisiológicas y conductuales de las mutaciones durante la codificación de los genes que producen las proteínas asociadas con el autismo. Además, estos modelos son especialmente útiles dado el alto nivel de homología con el genoma humano.¹⁵ Dentro de este

tipo de mutaciones, las principales modelos son donde participan las proteínas neuroliguinas, neurexinas, shank, Mecp2, Foxp, Cntnap2, Ube3a y Tsc1/ Tsc2.

Neuroliguinas (NL)

Forman parte de las proteínas de células de adhesión que median el desarrollo sináptico y que se han visto implicadas en el autismo. Los mutantes NL tienen defectos en un subconjunto de procesamiento y conductas sensoriales, son hipertensivos al estrés oxidativo y a los compuestos de mercurio, sus deficiencias conductuales son sumamente parecidas a los rasgos asociados con el autismo. Este, que es un modelo en ratón, ha reportado marcadas deficiencias en el volumen (menor tamaño) en estructuras cerebrales como el hipocampo, el núcleo estriado y el tálamo. Además, a nivel conductual, este modelo presenta vocalizaciones y conductas sociales disminuidas.^{2,10,12,14}

Neurexinas (NRXNs)

Son unas proteínas de membrana presináptica que se unen a las proteínas de adhesión postsináptica. Ratones mutantes en esta proteína muestran una respuesta menor en el reflejo de sobresalto, lo que indica un déficit en la respuesta sensoriomotora. También aumentos en la conducta de acicalamiento y deficiencias para construir un nido. Sin embargo, muestran aprendizaje de habilidades espaciales normal, así como una respuesta motora normal.^{10,12,13,14}

Shanks

La familia Shank (Shank1, Shank2, Shank3) se refieren a proteínas de andamiaje que regulan muchas vías de señalización y que se localizan post sinápticamente en las sinapsis excitatorias. Los modelos con mutaciones en genes SHANK que muestran comportamientos de tipo autista son principalmente Shank2 y Shank3, ya que los modelos con alteraciones en Shank1 presentan funciones motoras reducidas, pero no problemas en las interacciones sociales.^{11,12} El modelo de ratón Shank2 muestra una disminución en la función del receptor de glutamato N-metil-D-aspartato (NMDA), y a nivel conductual muestra acicalamientos repetitivos, anormalidades en algunos comportamientos sociales y en la expresión de vocalizaciones. El modelo mutado en Shank3 muestra una función reducida del receptor NMDA, déficits en la transmisión glutaminérgica y muestra conductualmente diferentes grados de severidad en el trastorno, como en

los comportamientos de daño a sí mismo, acicalamientos repetitivos y deficiencias en la interacción social.^{12,16} En este modelo, se han estimulado los receptores glutamatérgicos mediante D-ciclocerina (un agonista parcial de NMDA) o moduladores alostéricos de receptores metabotrópicos de glutamato (unciGluR5) y se ha logrado normalizar la función de los receptores NMDA, mejorando a su vez la interacción social del animal.^{17,18}

Mecp2

Estos modelos con mutaciones en el gen MECP2 muestran un alto grado de consistencia fenotípica con el síndrome clínico de los TEA en humanos. Este modelo ha evidenciado que la ausencia de este gen resulta de reducción de los cuerpos (somas) en neuronas de distintos tipos^{19,20} y una complejidad dendrítica reducida.^{19,21} Esto conduce a una plasticidad sináptica igualmente reducida o a la disminución de la habilidad de las neuronas para cambiar su fuerza sináptica en respuesta a la actividad. También se ha mostrado que la pérdida de este gen, en ratones macho de cuatro semanas resulta, en una disminución del peso cerebral con un adelgazamiento de la neocorteza.²² Por otra parte los animales con sobreexpresión de MeCP2 muestran hipoactividad, evitación social, ansiedad y convulsiones.^{12,19}

Foxps y Cntnap2

La familia de genes FOXP incluye tres genes expresados en el sistema nervioso central: FOXP1, FOXP2 y FOXP4. Ratones *knockout* de FoxP2 muestran comportamientos vocales reducidos y eventualmente muerte prematura. También se ha evidenciado una conexión entre los genes FOXP2 y CNTNAP2, y se ha reportado que el nivel de mRNA en CNTNAP2 está significativamente aumentado en el cerebelo de ratones *knockout* Foxp2.^{12,23,24} En modelos *knockout* de CNTNAP2 se ha encontrado fuerte evidencia neurobiológica de que este gen es un factor de riesgo para el TEA. Además, el gen CNTNAP2 contiene información para la activación del gen CASPR2, que es necesario para el desarrollo y arborización dendrítica, así como para la estabilización de las espinas dendríticas. Presentan una migración anormal de neuronas en el cuerpo calloso y en la corteza somatosensorial, menor cantidad de interneuronas GABAérgicas en esa misma región, además del hipocampo y en el estriado.^{22,25}

Ube3a

El gen UBE3A tiene una importante función en la modulación y plastici-

dad de las sinapsis.^{2,10} Este gen proporciona instrucciones para producir la proteína ubiquitina-proteína ligasa E3A, que funciona como una enzima que a su vez degrada a otras proteínas. La ubiquitina-proteína ligasa E3A cumple un papel fundamental para el desarrollo normal del Sistema Nervioso Central, ya que regula el balance de la síntesis de proteínas, la degradación de éstas y el empalme entre las células nerviosas.^{2,10,26} En el cerebro, solo se encuentra activa la copia de este gen heredado de la madre, esta activación genética parental específica se le conoce como impronta genética. Este modelo genético recapitula la mayoría de las características esenciales del TEA, incluyendo anormalidades motrices y cognitivas. Al incrementar este gen tres veces, se logra reproducir los comportamientos repetitivos y alteraciones en la conducta social y de comunicación que son marca distintiva de este trastorno.²⁶ Morfológicamente el peso de la corteza y el cerebelo es menor en este modelo, sin embargo, el cerebelo no presenta afectaciones respecto a la densidad celular y complejidad dendrítica. En el área CA1 del hipocampo se presentan una menor densidad de las vesículas presinápticas y densidad de espinas dendríticas. Los estudios sobre este modelo indican que dependiendo el tipo de mutación que presente el UBE3A en los TEA será ganancia o pérdida de funciones a nivel sináptico.^{2,26}

TSC

Las mutaciones en el gen TSC1/2 (gen que ocasiona el complejo de esclerosis tuberosa) es utilizado para estudiar la contribución cerebelar en la patogénesis del autismo, ha permitido mostrar que la pérdida de TSC1 en las células de Purkinje de la corteza cerebelar resulta en despliegues de tipo autista que incluyen comportamientos repetitivos y vocalizaciones e interacción social anormal, aunado a la disminución de la excitabilidad de las células de Purkinje.^{2,10,14} Ratones KO en TSC1 muestran incremento en la densidad de las espinas dendríticas de las neuronas de la corteza temporal. Este defecto se debe a la disminución de la poda sináptica que se produce durante el desarrollo.^{2,14}

En modelos KO sobre TSC2, se ha observado una reducción en la densidad de las células de Purkinje en las células cerebelares.²⁷ Y en la capa V de la corteza temporal un incremento en la densidad de espinas dendríticas y una poda sináptica disminuida.^{2,14}

Modelos idiopáticos de Autismo en roedores

Para caracterizar de manera más robusta las características del TEA se uti-

lizan los modelos de ratón y rata de cepas endogámicas, estos modelos son llamados idiopáticos ya que los comportamientos de tipo autista que presentan no son ocasionados por mutaciones genéticas conocidas y replican con validez las características centrales del autismo. Los principales modelos idiopáticos se encuentran en los ratones BTBR-T+ tfl/J y BALB/cByJ.

BTBR-T+ tfl/J.

Este modelo está ampliamente caracterizado y bien replicado para las características centrales del TEA.²⁹ Las características más sobresalientes de este modelo es la ausencia de cuerpo calloso y la reducción extrema de la comisura hipocampal, lo cual también ha sido encontrado en humanos con TEA.^{2,8,28,30} Otros cambios en la sustancia blanca incluyen conectividad interhemisférica posterior anormal y una orientación distorsionada de las células gliales en algunos de los tractos afectados de la sustancia blanca.³¹ También presenta un volumen cerebral disminuido en comparación con animales control y estudios de resonancia magnética muestran la disminución del volumen de la sustancia gris en las áreas dorsofrontal, retroesplénica, occipital, de la corteza parietal, el cíngulo y áreas subcorticales como el tálamo lateral y posterior, el hipotálamo posterior y el hipocampo ventral.³⁰ Aunado a esto muestran un aumento en el volumen de los bulbos olfatorios, la corteza prefrontal medial la corteza insular, la amígdala y el hipocampo dorsal.³⁰

También se ha reportado mayor número de neuronas que expresan serotonina en las porciones caudales del rafe dorsal y medial, pero disminuida en terminales axónicas en el hipocampo (CA1).³² Neurogénesis disminuida en el giro dentado³³ e incremento en las sinapsis excitatorias de la corteza frontal anterior.³⁴

BALB/cByJ (BALB)

Esta cepa presenta significativos déficits de socialización comparados con otras cepas de ratón. Principalmente se utiliza para modelar niveles de interacción social en diferentes escenarios y etapas del desarrollo, como pueden ser: interacción macho-macho, hembra-hembra, interacciones de apareamiento y conducta parental. BALB/cByJ también presenta otros fenotipos de relevancia para el autismo como son altos niveles de ansiedad, conducta agresiva, mayor tamaño cerebral, subdesarrollo del cuerpo calloso y bajos niveles cerebrales de síntesis de serotonina.^{2,15,35}

Modelos ambientales

El rol del medioambiente puede ser causal, intermediario o protector en la etiología del autismo. Explorar estos factores brinda el conocimiento para la prevención y desarrollo de intervenciones basadas en evidencias. En este apartado se tocan dos modelos que han sido bien establecidos, caracterizados y que cumplen con los atributos para un buen modelo animal. Estos son el modelo VPA y los modelos por disfunción del sistema inmune.

Modelo VPA

El ácido 2-propilpentanoico o ácido valproico es un fármaco usualmente prescrito como antiepiléptico, para trastorno bipolar, migraña o dolor neuropático en humanos.^{10,36,37} La administración de esta droga en mujeres embarazadas triplica el riesgo de que su hijo padezca autismo.^{38,39} Este efecto también es observado tanto en ratones como en ratas, y se expresa replicando las 3 características centrales del TEA. El modelo VPA se ha utilizado en etapas gestacionales (prenatal) y post gestacionales (postnatal).^{36,37} La neuropatología observada en este modelo depende de la dosis y la etapa a la que es administrada. Su principal mecanismo de acción es sobre la desacetilación de las histonas, convirtiéndolo en un modulador epigenético que incrementa el estrés oxidativo.¹⁰

De manera prenatal la administración de VPA en hembras gestantes de rata se administra en una dosis que va entre 400 a 600 mg/kg en el día 12, lo que incide en un período crítico durante la embriogénesis relacionado con el cierre del tubo neural, lo que resulta de un desarrollo neural alterado.^{2,10,36} Bajo este modelo se ha demostrado que con una alta dosis se ocasiona una disminución en el peso del cerebro, reducción del grosor de la corteza prefrontal y reducción en la densidad celular de la neocorteza; mientras que con una dosis baja se incrementa el grosor de la corteza y su densidad celular. Otra área cerebral afectada con este modelo es el cerebelo, donde se reporta disminución en el tamaño, densidad celular y complejidad de la arborización dendrítica de las neuronas de Purkinje.^{40,41} También se ha reportado que la exposición en útero con este teratógeno conduce a una menor expresión de interneuronas de parvalbumina en la corteza parietal y occipital, así como un menor número de interneuronas que expresan la enzima descarboxilasa de glutamato en el giro dentado, cerebelo y corteza.⁴²

En la crías de rata, algunos modelos administran el VPA en dosis que van de entre 200 a 400 mg/kg en el día postnatal 14¹⁰, y otros utilizan una dosis de 150 mg/kg entre los días postnatales 6 al 12.³⁷ En este modelo, la

administración del VPA se basa en que éstos primeros días postnatales son un periodo sensitivo, en el cual a pesar de que la proliferación neuronal y la organización cerebelar están completas, no así la diferenciación neuronal, la mielinización, la sinaptogénesis y génesis de la glía que en el cerebelo, estriado e hipocampo aún continúan.^{10,43} El modelo postnatal de VPA muestra que con una sola dosis es suficiente para emular efectos de largo plazo del TEA y, a nivel conductual, se presentan las características centrales del autismo además de comportamientos de ansiedad y depresión.^{2,43}

Modelo por disfunciones del sistema inmune e infecciones prenatales

El sistema inmunológico juega un papel importante en la patogénesis del autismo.^{2,44} Los modelos animales que se han desarrollado para estudiar la participación del sistema inmunológico son: el virus de influenza, donde la madre lo contrae en etapa de gestación; y la enfermedad de Borna, una enfermedad viral contraída por crías recién nacidas.^{44,45} En ambos casos los modelos conducen a que en una edad posterior las crías presentan cambios conductuales. Estos modelos han demostrado que las crías presentan sobre todo déficits en interacción social como conductas de juego, conductas estereotipadas e interés de exploración disminuida en la adultez. Las anormalidades cerebrales encontradas son la degeneración completa del giro dentado, el adelgazamiento de la neocorteza y la pérdida de células de Purkinje en el cerebelo.^{44,45,46}

Pez Cebra (*Danio rerio*)

Este modelo de pez se encuentra muy bien caracterizado a nivel social y genético. Tiene una gran versatilidad para estudiar el TEA, que va desde vías moleculares asociadas con sinaptogénesis, conectividad cerebral y aspectos comportamentales y toxicológicos, permitiendo propuestas para nuevas intervenciones terapéuticas.⁴⁷

Este modelo presenta un sólido fenotipo conductual desde la edad temprana y hasta la adultez. Las larvas exhiben conductas sensorio-motrices relativamente sencillas, definidas y estereotipadas que lo convierten en un sistema vertebrado abierto a una revisión de amplia escala genética y química. Esta transparencia de su sistema tanto en larvas como en peces adultos hace de esta especie un poderoso modelo para su uso con tecnología de optogenética.^{47,48}

La socialización es un componente esencial del pez cebra, que expresa

fuertes preferencias hacia individuos de su misma especie, viven en grupos de género mixto (cardumen) con jerarquías estructuradas y pueden discriminar a los individuos con los que están emparentados y a individuos que les son conocidos. Debido a estas características, las perturbaciones en la sociabilidad son fácilmente observables y aumenta aún más el valor de esta especie para modelar trastornos que involucren conductas sociales.^{47,48}

El modelo también se fortalece por la información que existe a nivel de su genética y sobre su desarrollo. Un ejemplo de esto es que su secuenciación revela una similaridad de 71 % con los genes humanos.⁴⁹ En un análisis de 858 genes humanos asociados al TEA, se encontró que el 62% de ellos son ortólogos (similares por un antepasado común y que difieren por la especie).⁵⁰ Aunado a estas características genéticas, estudios sobre el desarrollo y ablaciones cerebrales, han identificado estructuras funcionalmente análogas con las deficiencias sociales relacionadas con el autismo.⁴⁷

Este modelo también es apropiado para el uso de estudios farmacológicos, especialmente porque los métodos de administración son más sencillos (inmersión en agua) además de que la barrera hematoencefálica de este pez permanece incompleta hasta el 8vo día post fertilización, lo que permite una mejor penetración de los fármacos.^{47,48}

Medidas de evaluación conductual

Existen múltiples pruebas para caracterizar el fenotipo de las conductas autistas en el pez cebra. Dentro de estas pruebas, algunas se centran en las características centrales del autismo y otras evalúan los síntomas de las comorbilidades, como ansiedad, agresión, trastornos de sueño y convulsiones.^{47,48} De manera general las pruebas utilizadas son la preferencia social, respuesta de evitación, conductas agresivas (incluidas hacia el mismo individuo) comportamiento locomotor y estereotipado y formación de cardumen. Todo esto implica cohesión y sentido de grupo y pertenencia, a la vez que permite evaluar respuestas motoras y sociales.^{47,48}

Modelos farmacológicos

MK-801

El MK-801 es un fármaco utilizado para inducir sintomatología de fenotipo autista. Es un antagonista del receptor glutamérgico N-metil-D aspartato (NMDA) el cual está implicado en la formación de memoria y que en este modelo se ha reportado una importante disminución de la preferencia social.^{51,52}

VPA

El ácido valproico (VPA), administrado de forma temprana desregula factores de transcripción importantes para el desarrollo cerebral, señales de transducción y la modulación de reguladores epigenéticos como las histonas deacetilasas.⁵³ Diversos estudios reportan déficits en la conducta social, disminución de la conducta locomotoras y conductas repetitivas como nado en círculos.^{47,48} Aunado a las alteraciones conductuales, bajo el modelo VPA también se ha reportado reducción en la expresión de 3 genes implicados en el autismo, SHANK3a, NRXN 1 y NLGN 3.⁴⁷

C. elegans

Caenorhabditis elegans es un nemátodo no parásito de aproximadamente 1 mm de longitud y de corto tiempo de vida.⁵⁴ En 1998 fue el primer organismo multicelular que su genoma fue secuenciado de forma completa⁵⁵, lo que mostró que posee un sistema nervioso muy similar a los mamíferos y se estima que el 80% de las proteínas de este nemátodo son ortólogas al humano.^{54,55,56,57} La bioquímica básica del sistema nervioso del *C. Elegans* es parecida a la de los mamíferos, ya que posee componentes sinápticos, receptores, canales iónicos y similares transportadores de vesículas. Su sistema usa neurotransmisores clásicos como glutamato, GABA, dopamina, serotonina y acetilcolina. No obstante, una diferencia importante de resaltar es que carece de canales de sodio dependientes de potencial.^{54,56} El punto más fuerte de este modelo es que de manera simplificada y con un monitoreo eficiente, se puede realizar el estudio de fenotipos celulares y moleculares, del desarrollo neuronal, así como la conectividad y neurofisiología asociadas con la genética del autismo.⁵⁴

A nivel de comportamiento, este nemátodo muestra variedad de comportamientos sociales que incluyen la agrupación de individuos, estrategias de alimentación en grupos, apareamiento, atracción mutua y sentido de densidad poblacional.^{54,58} Además *C. elegans* tiene 14 pares de neuronas sensoriales que le permiten desplegar un comportamiento de locomoción sensorial complejo.⁵⁹ Estas conductas permiten realizar evaluaciones de interacción social y de interacción multisensorial, lo que es de gran valor para el estudio del TEA, ya que una de las grandes discapacidades de las personas que padecen autismo es la integración y modulación de estímulos sensoriales.⁶⁰

Genes relacionados con el autismo

En este modelo se pueden estudiar una gran variedad de genes ortólogos

asociados al autismo, a la vez que los datos se pueden contrastar con modelos de roedores y con estudios en humanos. Entre ellos se encuentran: neuroliquinas(NLGN1), neurexinas(NRXN1), Shank3 y NBEA.^{54,57}

Xenopus laevis

El organismo *Xenopus* es un tetrápodo que en términos de su fisiología, desarrollo de órganos, y expresión genética se acerca evolutivamente a los vertebrados más que cualquier otro modelo acuático.^{61,62} Este modelo es muy útil para investigar embriogénesis, desarrollo de órganos, expresión genética y fisiología. La facilidad con la que se pueden realizar intervenciones moleculares en el modelo de *Xenopus* ha contribuido significativamente a la comprensión del desarrollo cerebral.⁶³

La principal contribución de este modelo hacia el autismo ha sido con el uso del ácido valproico (VPA), que como se mencionó anteriormente afecta el desarrollo a múltiples niveles: sináptico, celular, de circuitos y comportamiento.⁶² Así, el modelo *Xenopus* toma ventaja para expandir la comprensión de los cambios celulares básicos y de los circuitos afectados inducidos por el VPA.

En este modelo se reporta que las larvas son expuestas al VPA en las etapas 42-49, lo que corresponde al periodo en que el circuito retinotectal es establecido y experimenta un refinamiento dependiente de la actividad de crecimiento junto con grandes cantidades de proliferación y diferenciación neuronal.⁶² Dentro de las afectaciones reportadas tras la administración de VPA, se encuentra el incremento de conectividad sináptica y la disminución de excitabilidad intrínseca⁶², lo cual es consistente con los hallazgos en los modelos de roedor.^{64,65} También se reporta que en larvas VPA las neuronas del tectum óptico (equivalente al colículo superior en mamíferos) disparan un menor número de potenciales de acción.⁶² A nivel conductual se reportan alteraciones en la socialización, ya que en los sujetos control las larvas se mantienen en grupos, mientras que las larvas VPA permanecen distribuidas y mantienen mayor distancia con los demás miembros.⁶²

Drosophila melanogaster

Este modelo ha sido usado para la revisión e identificación de genes que conducen al fenotipo autista, permitiendo conocer las consecuencias de alteraciones genéticas con una mayor comprensión de los mecanismos moleculares subyacentes a este trastorno y relacionados a las funciones simpáticas y de plasticidad.^{66,67,68} A continuación, se mencionan los genes

más representativos que se han estudiado en este modelo asociados al TEA.

dfmr1

Este gen juega un papel central en la plasticidad sináptica. En mutantes con la eliminación de este gen se presenta un mayor crecimiento sináptico⁶⁹, déficits de memoria, de aprendizaje asociativo^{70,71}, alteración de ritmos circádicos⁷² e incremento en conductas de aseo, lo que equivaldría al acicalamiento en roedores.⁷³

Neurexinas y Neuroliginas

Estas proteínas median el desarrollo sináptico y se han visto implicadas en el autismo. Los mutantes de *Drosophila* con la eliminación de dNlgs y dNrx resultan con defectos en el desarrollo de las sinapsis neuromusculares, como son alteraciones en el número de botones sinápticos, estructura aberrante pre y post sináptica y transmisión sináptica afectada.^{74,75,76}

Shank

La familia de proteínas Shank están implicadas en regular la morfología y maduración sináptica. El modelo de *Drosophila* solo cuenta con un ortólogo para esta familia de proteínas, que es llamado Prosap/Shank. Estos mutantes con eliminación de Shank presentan una reducción del 24% en botones sinápticos y un número excesivamente grande de estructuras sinápticas inmaduras.^{66,77}

Red dopaminérgica

Los desajustes en la red dopaminérgica se han asociado a alteraciones cerebrales que pueden conducir al TEA^{78,79,80} y se han observado mutaciones en los genes implicados en su señalización, como el DAT (el transportador de dopamina) en humanos. Este gen para DAT fue reconocido como hDAT-T356M, ocasiona una disminución en la capacidad de acumular dopamina a nivel intracelular debido a un incremento en el flujo de salida de ésta. La misma mutación se ha replicado en el modelo de *Drosophila* y los animales exhiben mayor excitabilidad comparado con los controles debido al incremento de niveles de dopamina y a un flujo de salida anormal de la misma.⁸¹

Conclusiones

La neurobiología del autismo, como de muchas otras alteraciones del de-

sarrollo neural, se ha ido conociendo paso a paso con el trabajo en humanos pero también, de manera importante, con investigaciones en diversos modelos animales. El gran espectro de conductas autistas, que van de la mano con subyacentes modificaciones genéticas, moleculares y morfológicas, entre otras, requiere por lo tanto de una amplia gama de modelos a fin de que puedan estudiarse casi una a una de manera particular. Los diferentes modelos animales han servido para ello, por lo que su uso en la ciencia del autismo seguirá siendo un pilar de enorme valor. Esta breve descripción de modelos animales y su contribución al conocimiento, muestra que la similitud que tenemos con ellos hace factible que podamos seguir teniendo acercamientos apropiados para entender cada vez más el trastorno, con el propósito de poder desarrollar nuevos acercamientos terapéuticos.

REFRENCIAS

- Iakoucheva, L. M., Muotri, A. R., & Sebat, J. (2019). Getting to the Cores of Autism. *Cell*, 178(6), 1287–1298. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.07.037>
- Varghese, M., Keshav, N., Jacot-Descombes, S., Warda, T., Wicinski, B., Dickstein, D. L., Harony-Nicolas, H., De Rubeis, S., Drapeau, E., Buxbaum, J. D., & Hof, P. R. (2017). Autism spectrum disorder: neuropathology and animal models. *Acta neuropathologica*, 134(4), 537–566. <https://doi.org/10.1007/s00401-017-1736-4>
- Meshalkina, D. A., N Kizlyk, M., V Kysil, E., Collier, A. D., Echevarria, D. J., Abreu, M. S., Barcellos, L., Song, C., Warnick, J. E., Kyzar, E. J., & Kalueff, A. V. (2018). Zebrafish models of autism spectrum disorder. *Experimental neurology*, 299(Pt A), 207–216. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2017.02.004>
- Bossu, J. L., & Roux, S. (2019). Les modèles animaux d'étude de l'autisme - Le modèle « valproate » [The valproate model of autism]. *Medecine sciences: M/S*, 35(3), 236–243. <https://doi.org/10.1051/medsci/2019036>
- Baio, J., Wiggins, L., Christensen, D. L., Maenner, M. J., Daniels, J., Warren, Z., Kurzius-Spencer, M., Zahorodny, W., Robinson Rosenberg, C., White, T., Durkin, M. S., Imm, P., Nikolaou, L., Yeargin-Allsopp, M., Lee, L. C., Harrington, R., Lopez, M., Fitzgerald, R. T., Hewitt, A., Pettygrove, S., ... Dowling, N. F. (2018). Prevalence of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 8 Years - Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 Sites, United States, 2014. *Morbidity and mortality weekly report. Surveillance summaries* (Washington, D.C.: 2002), 67(6), 1–23. <https://doi.org/10.15585/mmwr.ss6706a1>
- Doyle, C. A., & McDougale, C. J. (2012). Pharmacologic treatments for the behavioral symptoms associated with autism spectrum disorders across the lifespan. *Dialogues in clinical neuroscience*, 14(3), 263–279. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2012.14.3/c.doyle>
- Bauman, M. D., & Schumann, C. M. (2018). Advances in nonhuman primate models of autism: Integrating neuroscience and behavior. *Experimental neurology*, 299(Pt A), 252–265. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2017.07.021>
- Kazdoba, T. M., Leach, P. T., Yang, M., Silverman, J. L., Solomon, M., & Crawley, J. N. (2016). Translational Mouse Models of Autism: Advancing Toward Pharmacological Therapeutics. *Current topics in behavioral neurosciences*, 28, 1–52. https://doi.org/10.1007/7854_2015_5003
- Schmeisser, K., & Parker, J. A. (2018). Worms on the spectrum - C. elegans models in autism research. *Experimental neurology*, 299(Pt A), 199–206. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2017.04.007>
- Ergaz, Z., Weinstein-Fudim, L., & Ornoy, A. (2016). Genetic and non-genetic animal models for autism spectrum disorders (ASD). *Reproductive toxicology (Elmsford, N.Y.)*, 64, 116–140. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2016.04.024>
- Silverman, J. L., & Ellegood, J. (2018). Behavioral and neuroanatomical approaches in models of neurodevelopmental disorders: opportunities for translation. *Current opinion in neurology*, 31(2), 126–133. <https://doi.org/10.1097/WCO.0000000000000537>
- Tania, M., Khan, M. A., & Xia, K. (2014). Recent advances in animal model experimentation in autism research. *Acta neuropsychiatrica*, 26(5), 264–271. <https://doi.org/10.1017/neu.2013.58>

- Baudouin, S. J., Gaudias, J., Gerharz, S., Hatstatt, L., Zhou, K., Punnakal, P., Tanaka, K. F., Spooren, W., Hen, R., De Zeeuw, C. I., Vogt, K., & Scheiffele, P. (2012). Shared synaptic pathophysiology in syndromic and non-syndromic rodent models of autism. *Science (New York, N.Y.)*, 338(6103), 128–132.
<https://doi.org/10.1126/science.1224159>
- Bey, A. L., & Jiang, Y. H. (2014). Overview of mouse models of autism spectrum disorders. *Current protocols in pharmacology*, 66, 5.66.1–5.66.26.
<https://doi.org/10.1002/0471141755.ph0566s66>
- Brodin E. S. (2007). BALB/c mice: low sociability and other phenotypes that may be relevant to autism. *Behavioural brain research*, 176(1), 53–65.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2006.06.025>
- Peça, J., Feliciano, C., Ting, J. T., Wang, W., Wells, M. F., Venkatraman, T. N., Lascola, C. D., Fu, Z., & Feng, G. (2011). Shank3 mutant mice display autistic-like behaviours and striatal dysfunction. *Nature*, 472(7344), 437–442.
<https://doi.org/10.1038/nature09965>
- Won, H., Lee, H. R., Gee, H. Y., Mah, W., Kim, J. I., Lee, J., Ha, S., Chung, C., Jung, E. S., Cho, Y. S., Park, S. G., Lee, J. S., Lee, K., Kim, D., Bae, Y. C., Kaang, B. K., Lee, M. G., & Kim, E. (2012). Autistic-like social behaviour in Shank2-mutant mice improved by restoring NMDA receptor function. *Nature*, 486(7402), 261–265.
<https://doi.org/10.1038/nature11208>
- Deutsch, S. I., Pepe, G. J., Burket, J. A., Winebarger, E. E., Herndon, A. L., & Benson, A. D. (2012). D-cycloserine improves sociability and spontaneous stereotypic behaviors in 4-week-old mice. *Brain research*, 1439, 96–107.
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2011.12.040>
- Lombardi, L. M., Baker, S. A., & Zoghbi, H. Y. (2015). MECP2 disorders: from the clinic to mice and back. *The Journal of clinical investigation*, 125(8), 2914–2923.
<https://doi.org/10.1172/JCI78167>
- Asaka, Y., Jugloff, D. G., Zhang, L., Eubanks, J. H., & Fitzsimonds, R. M. (2006). Hippocampal synaptic plasticity is impaired in the Mecp2-null mouse model of Rett syndrome. *Neurobiology of disease*, 21(1), 217–227.
<https://doi.org/10.1016/j.nbd.2005.07.005>
- Chapleau, C. A., Calfa, G. D., Lane, M. C., Albertson, A. J., Larimore, J. L., Kudo, S., Armstrong, D. L., Percy, A. K., & Pozzo-Miller, L. (2009). Dendritic spine pathologies in hippocampal pyramidal neurons from Rett syndrome brain and after expression of Rett-associated MECP2 mutations. *Neurobiology of disease*, 35(2), 219–233.
<https://doi.org/10.1016/j.nbd.2009.05.001>
- Fukuda, T., Itoh, M., Ichikawa, T., Washiyama, K., & Goto, Y. (2005). Delayed maturation of neuronal architecture and synaptogenesis in cerebral cortex of Mecp2-deficient mice. *Journal of neuropathology and experimental neurology*, 64(6), 537–544.
<https://doi.org/10.1093/jnen/64.6.537>
- Fujita, E., Tanabe, Y., Momoi, M. Y., & Momoi, T. (2012). Cntnap2 expression in the cerebellum of Foxp2(R552H) mice, with a mutation related to speech-language disorder. *Neuroscience letters*, 506(2), 277–280.
<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2011.11.022>
- Zatkova, M., Bakos, J., Hodosy, J., & Ostatnikova, D. (2016). Synapse alterations in autism: Review of animal model findings. *Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, Czechoslovakia*, 160(2), 201–210.
<https://doi.org/10.5507/bp.2015.066>
- Grossman, A. W., Elisseeu, N. M., McKinney, B. C., & Greenough, W. T. (2006). Hippocampal pyramidal cells in adult Fmr1 knockout mice exhibit an immature-appearing profile of dendritic spines. *Brain research*, 1084(1), 158–164.
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2006.02.044>
- Vatsa, N., & Jana, N. R. (2018). UBE3A and Its Link with Autism. *Frontiers in molecular neuroscience*, 11, 448.
<https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00448>

- Reith, R. M., McKenna, J., Wu, H., Hashmi, S. S., Cho, S. H., Dash, P. K., & Gambello, M. J. (2013). Loss of Tsc2 in Purkinje cells is associated with autistic-like behavior in a mouse model of tuberous sclerosis complex. *Neurobiology of disease*, 51, 93–103. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2012.10.014>
- Wahlsten, D., Metten, P., & Crabbe, J. C. (2003). Survey of 21 inbred mouse strains in two laboratories reveals that BTBR T/+tf/tf has severely reduced hippocampal commissure and absent corpus callosum. *Brain research*, 971(1), 47–54. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(03\)002354-0](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(03)002354-0)
- Ellegood, J., Babineau, B. A., Henkelman, R. M., Lerch, J. P., & Crawley, J. N. (2013). Neuroanatomical analysis of the BTBR mouse model of autism using magnetic resonance imaging and diffusion tensor imaging. *NeuroImage*, 70, 288–300. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2012.12.029>
- Dodero, L., Damiano, M., Galbusera, A., Bifone, A., Tsafaris, S. A., Scattoni, M. L., & Gozzi, A. (2013). Neuroimaging evidence of major morpho-anatomical and functional abnormalities in the BTBR T+TF/J mouse model of autism. *PloS one*, 8(10), e76655. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076655>
- Miller, V. M., Gupta, D., Neu, N., Cotroneo, A., Boulay, C. B., & Seegal, R. F. (2013). Novel inter-hemispheric white matter connectivity in the BTBR mouse model of autism. *Brain research*, 1513, 26–33. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2013.04.001>
- Guo, Y. P., & Commons, K. G. (2017). Serotonin neuron abnormalities in the BTBR mouse model of autism. *Autism research: official journal of the International Society for Autism Research*, 10(1), 66–77. <https://doi.org/10.1002/aur.1665>
- Stephenson, D. T., O'Neill, S. M., Narayan, S., Tiwari, A., Arnold, E., Samaroo, H. D., Du, F., Ring, R. H., Campbell, B., Pletcher, M., Vaidya, V. A., & Morton, D. (2011). Histopathologic characterization of the BTBR mouse model of autistic-like behavior reveals selective changes in neurodevelopmental proteins and adult hippocampal neurogenesis. *Molecular autism*, 2(1), 7. <https://doi.org/10.1186/2040-2392-2-7>
- Isshiki, M., Tanaka, S., Kuriu, T., Tabuchi, K., Takumi, T., & Okabe, S. (2014). Enhanced synapse remodelling as a common phenotype in mouse models of autism. *Nature communications*, 5, 4742. <https://doi.org/10.1038/ncomms5742>
- Fairless, A. H., Dow, H. C., Kreibich, A. S., Torre, M., Kuruvilla, M., Gordon, E., Morton, E. A., Tan, J., Berrettini, W. H., Li, H., Abel, T., & Brodtkin, E. S. (2012). Sociability and brain development in BALB/cJ and C57BL/6J mice. *Behavioural brain research*, 228(2), 299–310. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.12.001>
- Chaliha, D., Albrecht, M., Vaccarezza, M., Takechi, R., Lam, V., Al-Salami, H., & Mamo, J. (2020). A Systematic Review of the Valproic-Acid-Induced Rodent Model of Autism. *Developmental neuroscience*, 42(1), 12–48. <https://doi.org/10.1159/000509109>
- Reynolds, S., Millette, A., & Devine, D. P. (2012). Sensory and motor characterization in the postnatal valproate rat model of autism. *Developmental neuroscience*, 34(2-3), 258–267. <https://doi.org/10.1159/000336646>
- Bromley, R. L., Mawer, G., Clayton-Smith, J., Baker, G. A., & Liverpool and Manchester Neurodevelopment Group (2008). Autism spectrum disorders following in utero exposure to antiepileptic drugs. *Neurology*, 71(23), 1923–1924. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000339399.64213.1a>

- Christensen, J., Grønborg, T. K., Sørensen, M. J., Schendel, D., Parner, E. T., Pedersen, L. H., & Vestergaard, M. (2013). Prenatal valproate exposure and risk of autism spectrum disorders and childhood autism. *JAMA*, 309(16), 1696–1703. <https://doi.org/10.1001/jama.2013.2270>
- Main, S. L., & Kulesza, R. J. (2017). Repeated prenatal exposure to valproic acid results in cerebellar hypoplasia and ataxia. *Neuroscience*, 340, 34–47. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.10.052>
- Ingram, J. L., Peckham, S. M., Tisdale, B., & Rodier, P. M. (2000). Prenatal exposure of rats to valproic acid reproduces the cerebellar anomalies associated with autism. *Neurotoxicology and teratology*, 22(3), 319–324. [https://doi.org/10.1016/S0892-0362\(99\)00083-5](https://doi.org/10.1016/S0892-0362(99)00083-5)
- Watanabe, Y., Murakami, T., Kawashima, M., Hasegawa-Baba, Y., Mizukami, S., Imatanaka, N., Akahori, Y., Yoshida, T., & Shibutani, M. (2017). Maternal Exposure to Valproic Acid Primarily Targets Interneurons Followed by Late Effects on Neurogenesis in the Hippocampal Dentate Gyrus in Rat Offspring. *Neurotoxicity research*, 31(1), 46–62. <https://doi.org/10.1007/s12640-016-9660-2>
- Wagner, G. C., Reuhl, K. R., Cheh, M., McRae, P., & Halladay, A. K. (2006). A new neurobehavioral model of autism in mice: pre- and postnatal exposure to sodium valproate. *Journal of autism and developmental disorders*, 36(6), 779–793. <https://doi.org/10.1007/s10803-006-0117-y>
- Patterson P. H. (2009). Immune involvement in schizophrenia and autism: etiology, pathology and animal models. *Behavioural brain research*, 204(2), 313–321. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.12.016>
- Lancaster, K., Dietz, D. M., Moran, T. H., & Pletnikov, M. V. (2007). Abnormal social behaviors in young and adult rats neonatally infected with Borna disease virus. *Behavioural brain research*, 176(1), 141–148. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2006.06.013>
- Shen, L., Liu, X., Zhang, H., Lin, J., Feng, C., & Iqbal, J. (2020). Biomarkers in autism spectrum disorders: Current progress. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, 502, 41–54. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2019.12.009>
- Meshalkina, D. A., N Kizlyk, M., V Kysil, E., Collier, A. D., Echevarria, D. J., Abreu, M. S., Barcellos, L., Song, C., Warnick, J. E., Kyzar, E. J., & Kalueff, A. V. (2018). Zebrafish models of autism spectrum disorder. *Experimental neurology*, 299(Pt A), 207–216. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2017.02.004>
- Dwivedi, S., Medishetti, R., Rani, R., Sevilimedu, A., Kulkarni, P., & Yogeewari, P. (2019). Larval zebrafish model for studying the effects of valproic acid on neurodevelopment: An approach towards modeling autism. *Journal of pharmacological and toxicological methods*, 95, 56–65. <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2018.11.006>
- Amores, A., Catchen, J., Ferrara, A., Fontenot, Q., & Postlethwait, J. H. (2011). Genome evolution and meiotic maps by massively parallel DNA sequencing: spotted gar, an outgroup for the teleost genome duplication. *Genetics*, 188(4), 799–808. <https://doi.org/10.1534/genetics.111.127324>
- Alsop, D., & Vijayan, M. (2009). The zebrafish stress axis: molecular fallout from the teleost-specific genome duplication event. *General and comparative endocrinology*, 161(1), 62–66. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2008.09.011>
- Maaswinkel, H., Zhu, L., & Weng, W. (2013). Assessing social engagement in heterogeneous groups of zebrafish: a new paradigm for autism-like behavioral responses. *PloS one*, 8(10), e75955. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0075955>
- Zimmermann, F. F., Gaspar, K. V., Siebel, A. M., & Bonan, C. D. (2016). Oxytocin reversed MK-801-induced social interaction and aggression deficits in zebrafish. *Behavioural brain research*, 311, 368–374. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.05.059>

- Marchion, D. C., Bicaku, E., Daud, A. I., Sullivan, D. M., & Munster, P. N. (2005). Valproic acid alters chromatin structure by regulation of chromatin modulation proteins. *Cancer research*, 65(9), 3815–3822. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-04-2478>
- Schmeisser, K., & Parker, J. A. (2018). Worms on the spectrum - C. elegans models in autism research. *Experimental neurology*, 299(Pt A), 199–206. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2017.04.007>
- C. elegans Sequencing Consortium (1998). Genome sequence of the nematode C. elegans: a platform for investigating biology. *Science* (New York, N.Y.), 282(5396), 2012–2018. <https://doi.org/10.1126/science.282.5396.2012>
- Lai, C. H., Chou, C. Y., Ch'ang, L. Y., Liu, C. S., & Lin, W. (2000). Identification of novel human genes evolutionarily conserved in Caenorhabditis elegans by comparative proteomics. *Genome research*, 10(5), 703–713. <https://doi.org/10.1101/gr.10.5.703>
- Bargmann C. I. (1998). Neurobiology of the Caenorhabditis elegans genome. *Science* (New York, N.Y.), 282(5396), 2028–2033. <https://doi.org/10.1126/science.282.5396.2028>
- Macosko, E. Z., Pokala, N., Feinberg, E. H., Chalasani, S. H., Butcher, R. A., Clardy, J., & Bargmann, C. I. (2009). A hub-and-spoke circuit drives pheromone attraction and social behaviour in C. elegans. *Nature*, 458(7242), 1171–1175. <https://doi.org/10.1038/nature07886>
- Piggott, B. J., Liu, J., Feng, Z., Wescott, S. A., & Xu, X. Z. (2011). The neural circuits and synaptic mechanisms underlying motor initiation in C. elegans. *Cell*, 147(4), 922–933. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.08.053>
- Iarocci, G., & McDonald, J. (2006). Sensory integration and the perceptual experience of persons with autism. *Journal of autism and developmental disorders*, 36(1), 77–90. <https://doi.org/10.1007/s10803-005-0044-3>
- Nenni, M. J., Fisher, M. E., James-Zorn, C., Pells, T. J., Ponferrada, V., Chu, S., Fortriede, J. D., Burns, K. A., Wang, Y., Lotay, V. S., Wang, D. Z., Segerdell, E., Chaturvedi, P., Karimi, K., Vize, P. D., & Zorn, A. M. (2019). Xenbase: Facilitating the Use of Xenopus to Model Human Disease. *Frontiers in physiology*, 10, 154. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00154>
- James, E. J., Gu, J., Ramirez-Vizcarrondo, C. M., Hasan, M., Truszkowski, T. L., Tan, Y., Oupravanh, P. M., Khakhalian, A. S., & Aizenman, C. D. (2015). Valproate-induced neurodevelopmental deficits in Xenopus laevis tadpoles. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 35(7), 3218–3229. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4050-14.2015>
- Gao, J., & Shen, W. (2021). Xenopus in revealing developmental toxicity and modeling human diseases. *Environmental pollution* (Barking, Essex: 1987), 268(Pt B), 115809. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115809>
- Rinaldi, T., Silberberg, G., & Markram, H. (2008). Hyperconnectivity of local neocortical microcircuitry induced by prenatal exposure to valproic acid. *Cerebral cortex* (New York, N.Y.: 1991), 18(4), 763–770. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhm117>
- Walcott, E. C., Higgins, E. A., & Desai, N. S. (2011). Synaptic and intrinsic balancing during postnatal development in rat pups exposed to valproic acid in utero. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 31(37), 13097–13109. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1341-11.2011>
- Bellosta, P., & Soldano, A. (2019). Dissecting the Genetics of Autism Spectrum Disorders: A Drosophila Perspective. *Frontiers in physiology*, 10, 987. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00987>
- Doi, A., Takagi, M., Fujimoto, K., Kakihara, J., Hayashi, Y., Tatsumi, H., et al. (2016). Long rp⁺ tachycardia with unusual entrainment responses: what is the mechanism? *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* 27, 1242–1244. doi: 10.1111/jce. 12987

- Tian, Y., Zhang, Z. C., and Han, J. (2017). Drosophila studies on autism spectrum disorders. *Neurosci. Bull.* 33, 737–746. doi: 10.1007/s12264-017-0166-6
- Morales, J., Hiesinger, P. R., Schroeder, A. J., Kume, K., Verstreken, P., Jackson, F. R., et al. (2002). Drosophila fragile X protein, DFXR, regulates neuronal morphology and function in the brain. *Neuron* 34, 961–972. doi: 10.1016/s0896-6273(02)00731-6
- Choi, C. H., McBride, S. M., Schoenfeld, B. P., Liebelt, D. A., Ferreira, D., Ferrick, N. J., et al. (2010). Age-dependent cognitive impairment in a Drosophila fragile X model and its pharmacological rescue. *Biogerontology* 11, 347–362. doi: 10.1007/s10522-009-9259-6
- Doll, C. A., and Broadie, K. (2016). Neuron class-specific requirements for fragile X mental retardation protein in critical period development of calcium signaling in learning and memory circuitry. *Neurobiol. Dis.* 89, 76–87. doi: 10.1016/j.nbd.2016.02.006
- Sofola, O., Sundram, V., Ng, F., Kleyner, Y., Morales, J., Botas, J., et al. (2008). The Drosophila FMRP and LARK RNA-binding proteins function together to regulate eye development and circadian behavior. *J. Neurosci.* 28, 10200–10205. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2786-08.2008
- Tauber, J. M., Vanlandingham, P. A., & Zhang, B. (2011). Elevated levels of the vesicular monoamine transporter and a novel repetitive behavior in the Drosophila model of fragile X syndrome. *PLoS one*, 6(11), e27100. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027100>
- Sun, M., Xing, G., Yuan, L., Gan, G., Knight, D., With, S. I., et al. (2011). Neuroligin2 is required for synapse development and function at the Drosophila neuromuscular junction. *J. Neurosci.* 31, 687–699. doi: 10.1523/jneurosci.3854-10.2011
- Chen, Y. C., Lin, Y. Q., Banerjee, S., Venken, K. J., Ismat, A., et al. (2012). Drosophila neuroligin 2 is required presynaptically and postsynaptically for proper synaptic differentiation and synaptic transmission. *J. Neurosci.* 32, 16018–16030. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1685-12.2012
- Hahn, N., Geurten, B., Gurvich, A., Piepenbrock, D., Kastner, A., Zanini, D., et al. (2013). Monogenic heritable autism gene neuroligin impacts Drosophila social behaviour. *Behav. Brain Res.* 252, 450–457. doi: 10.1016/j.bbr.2013.06.020
- Xing, G., Gan, G., Chen, D., Sun, M., Yi, J., Lv, H., et al. (2014). Drosophila neuroligin3 regulates neuromuscular junction development and synaptic differentiation. *J. Biol. Chem.* 289, 31867–31877. doi: 10.1074/jbc.M114.574897
- Liebl, F. L., & Featherstone, D. E. (2008). Identification and investigation of Drosophila postsynaptic density homologs. *Bioinformatics and biology insights*, 2, 369–381. <https://doi.org/10.4137/bbi.s2010>
- Gadow, K. D., Devincent, C. J., Olvet, D. M., Pisarevskaya, V., and Hatchwell, E. (2010). Association of DRD4 polymorphism with severity of oppositional defiant disorder, separation anxiety disorder and repetitive behaviors in children with autism spectrum disorder. *Eur. J. Neurosci.* 32, 1058–1065. doi: 10.1111/j.1460-9568.2010.07382.x
- Nakamura, K., Sekine, Y., Ouchi, Y., Tsujii, M., Yoshikawa, E., Futatsubashi, M., et al. (2010). Brain serotonin and dopamine transporter bindings in adults with high-functioning autism. *Arch. Gen. Psychiatry* 67, 59–68. doi: 10.1001/archgenpsychiatry.2009.137
- Paval, D. (2017). A dopamine hypothesis of autism spectrum disorder. *Dev. Neurosci.* 39, 355–360. doi: 10.1159/000478725
- Hamilton, P. J., Campbell, N. G., Sharma, S., Erreger, K., Herborg Hansen, F., Saunders, C., et al. (2013). De novo mutation in the dopamine transporter gene associates dopamine dysfunction with autism spectrum disorder. *Mol. Psychiatry* 18, 1315–1323. doi: 10.1038/mp.2013.102

IV

La rata de laboratorio como modelo para el estudio de la discapacidad motora producida por el infarto cerebral

Miguel Pérez Pouchoulen

Sheryl E. Arambula

Margaret M. McCarthy

Introducción

La investigación científica y la tecnología son dos piezas claves para el entendimiento de la función del cerebro, en desarrollo y maduro. Diariamente se publican centenas de artículos científicos de investigaciones realizadas en todo el mundo sobre el cerebro, su función y sus trastornos. Dada las limitaciones para el estudio de personas, una de las estrategias que se han tenido para estudiar al cerebro son los modelos animales. El uso de roedores para la investigación en el campo o área de las neurociencias es esencial para generar conocimientos que ayudan a entender mejor los desordenes cerebrales, y su vez, crear estrategias y/o tratamientos que mejoren la calidad de vida de los individuos que viven con alguna discapacidad cerebral. Así en este capítulo, describiremos el uso de la rata de laboratorio como modelo animal para estudiar las enfermedades cerebrovasculares, como el infarto cerebral y sus complicaciones motoras (Figura 1), mediante el uso de técnicas conductuales enfocadas a la evaluación de habilidades físicas y a la detección de discapacidades motoras.

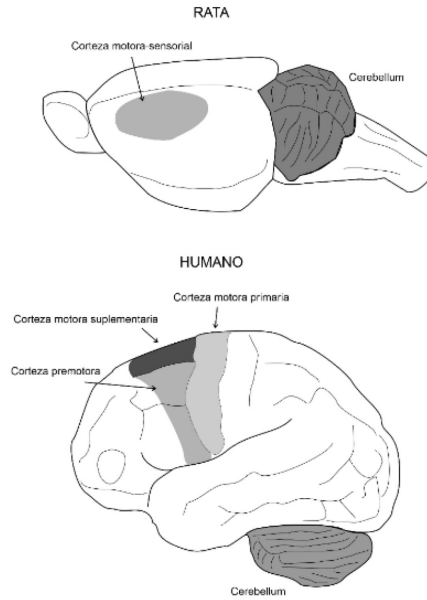


Figura 1. Representación anatómica del cerebro de rata y del humano. Ambos cerebros tienen un circuito neural regulador del sistema motor (áreas resaltadas con diferentes tonos de gris) y el infarto cerebrovascular puede afectar parcialmente o totalmente algunas de estas zonas impactando la función de las neuronas ubicadas en estas áreas cerebrales.

Infarto cerebral

El infarto cerebral es un problema de salud pública global y una de las tres principales causas de muerte en muchos países alrededor del mundo, siendo la principal causa de discapacidad en Estados Unidos (Hidalgo et al., 2005; Cantu-Brito et al., 2011, Mendieta et al., 2018). En México, la incidencia del infarto cerebral es de 230 casos por cada 100,000 habitantes mayores a 35 años (Cantu-Brito et al., 2011). A pesar de esto y de la gran cantidad de recursos financieros y científicos destinados para estudiar su fisiopatología y tratamientos efectivos, las secuelas pueden ser inminentes e irreversibles.

El infarto cerebral se clasifica en dos tipos: el infarto cerebral isquémico y el infarto cerebral hemorrágico. El primero es causado por un bloqueo de una arteria (rara vez por el bloqueo de una vena), y el segundo por el sangrado a nivel cerebral. Los infartos cerebrales isquémicos representan aproximadamente un 85 % de los casos de infartos cerebrales, y los hemorrágicos representan un 15 % aproximadamente (Arauz A & Ruiz-Franco A, 2012).

Infarto cerebral isquémico

El infarto cerebral isquémico puede ser transitorio o permanente dependiendo de la duración de los síntomas presentes en los pacientes, pero de manera general, si los síntomas del evento isquémico duran menos de 60 min y hay una recuperación espontánea, sin evidencia de daño cerebral, entonces se considera como transitorio (Arauz A & Ruiz-Franco A, 2012).

La fisiopatología del infarto cerebral isquémico empieza con la oclusión de un vaso sanguíneo propiciando muchos eventos bioquímicos como la formación de radicales libres, procesos de inflamación celular, desequilibrio de iones que entran a la célula, entre otros, que resultan en una disminución de energía y la muerte de neuronas. Así, una de las principales características del infarto cerebral isquémico es la pérdida de funciones neurológicas, mismas que dependen del sitio o zona del cerebro en donde se origine el ataque isquémico. Sin embargo, alteraciones del lenguaje, problemas visuales y debilidad corporal, son síntomas frecuentemente observados. Las causas de los infartos cerebrales isquémicos son diversas, pero el más común es la aterosclerosis de vasos sanguíneos grandes como la carótida. Otra causa del infarto cerebral isquémico es la oclusión de una arteria cerebral por un émbolo originado en el corazón. Algunas otras condiciones médicas como la diabetes o la hipertensión arterial también pueden desencadenar una isquemia cerebral, y claro, existen casos en los que no es posible determinar la causa del infarto isquémico. El tratamiento farmacológico es la fuente más estudiada para la prevención del infarto cerebral isquémico, pero son pocas las opciones eficaces que existen en el mercado.

Infarto cerebral hemorrágico

Este tipo de infarto cerebral representa menos de 20 % de todos los casos de enfermedades cerebrovasculares y la probabilidad de padecerlo se incrementa después de los 35 años de edad. El infarto cerebral hemorrágico es consecuencia de una ruptura de la pared de unas arterias muy delgadas y pequeñas localizadas en una región del cerebro llamada ganglios basales. Tal ruptura se presenta de manera súbita con síntomas como náuseas y vómito, pero sobre todo la deficiencia de la función neurológica sensitivo-motor. El tratamiento puede ser farmacológico o quirúrgico, dependiendo, entre otras, de la edad del paciente, el tamaño y ubicación del hematoma (Arauz A & Ruiz-Franco A, 2012).

Hipoxia e isquemia

Una de las causas más comunes de daño cerebral en infantes es la hipoxia y la isquemia (HI) sufrida durante el nacimiento, y se estima que a nivel mundial causa de 0.7-1.6 millones de muertes anualmente, convirtiéndose en la causa principal de mortalidad infantil especialmente en zonas con reducido acceso a un cuidado obstétrico avanzado (Badawi et al., 1998; Zupan and Ahman, 2006). Las consecuencias de este evento dependen de la duración y de la intensidad del insulto al momento que se presenta, pero generalmente, la HI severa tiene una alta mortalidad, mientras que la HI moderada resulta en alteraciones motoras, cognitivas y conductuales, y la HI ligera, aunque tiene una probabilidad menor de producir algún trastorno del desarrollo, puede causar problemas cognitivos o conductuales tiempo después en la vida adulta del individuo (Arauz A & Ruiz-Franco A, 2012). Curiosamente, los niños tienen un mayor riesgo de estar expuesto a un proceso de HI durante el nacimiento comparado con las niñas. Asimismo, los infantes machos tardan más tiempo en recuperarse y se ven más afectados que las hembras. A pesar de esta importante diferencia biológica, aún se desconocen los mecanismos biológicos causantes de la alta frecuencia y severidad de HI durante el nacimiento en los infantes machos. Este punto es precisamente una de las razones relevantes para estudiar los efectos de la HI sobre el cerebro utilizando modelos animales incorporando machos y hembras en las investigaciones.

La isquemia se caracteriza por una reducción del flujo sanguíneo en el cerebro. A veces, esta reducción del flujo de sangre se presenta en todo el cerebro (generalizada), y otras veces, se presenta en regiones específicas del mismo (localizada), dependiendo del origen de la isquemia (Arango-Davila et al., 2004; Arauz A & Ruiz-Franco A, 2012).

Al mismo tiempo, la reducción del flujo sanguíneo se acompaña de una disminución del nivel de oxígeno en la zona afectada, a este proceso se le conoce como hipoxia, si la reducción de oxígeno es parcial, o anoxia, si la reducción de oxígeno es total. Así, entre más tiempo el cerebro pasa sin oxígeno, las consecuencias conductuales empeoran.

En este capítulo, solo nos enfocaremos a describir las pruebas conductuales más comúnmente usadas en la investigación neurocientífica para evaluar problemas motores asociados con traumas cerebrales que impactan la vida de las personas, desde recién nacidos hasta adultos, en áreas tan esenciales como la caminata, el equilibrio y la coordinación, al agarre de objetos, el lenguaje e incluso la visión por mencionar algunos. Así, describiremos las pruebas conductuales del laboratorio utilizadas para el es-

tudio de problemas sensoriomotores o motores en la rata, probablemente el animal más usado en la investigación neurocientífica.

La prueba de la escalera (*staircase test*)

Esta prueba evalúa el uso independiente de ambas extremidades superiores en la rata, pero también se utiliza para evaluar la capacidad de alcance de las mismas (Montoya et al., 1991). Por lo general, el motivador más usado en esta prueba es el cereal con sabor a chocolate o simplemente algo dulce para facilitar la ejecución de la conducta por parte de la rata. El reto para la rata en esta prueba es que tiene que insertar sus patas a través de un espacio limitado y lo suficientemente alejado para promover la extensión de sus extremidades. Las piezas de comida se colocan en diferentes escalones de la escalera, una a la vez, esto implica que la rata tiene que coordinar sus movimientos para agarrar una pieza a la vez, las cuales están ubicadas a diferentes distancias de la misma. Esta conducta es típica de la rata en su ambiente natural, por lo cual se facilita la observación y análisis de la misma en el laboratorio. Esta prueba mide el tiempo que tarda la rata en tomar cada una de las piezas de comida, es decir, si la rata tiene alguna lesión motora que afecte sus extremidades superiores, entonces la rata tardará mas tiempo en obtener el alimento. Asimismo, se cuantifica el número total de piezas de comida que la rata es capaz de tomar al final de la prueba y se compara con el grupo de animales control, es decir, aquellos que no tienen una lesión cerebral. Los animales con problemas sensoriales y de destreza motora por lo general no pueden agarrar las piezas de comida y solo terminan moviéndolas de escalón. Por el grado de dificultad de esta prueba, los animales requieren de un pre-entrenamiento y de ser privados de comida por unas horas antes de la prueba para incrementar su motivación por comer. La sensibilidad de esta prueba determina disfunciones motoras a largo plazo producidas por la isquemia (C. Hobbs et al., 2008; C. E. Hobbs & Oorschot, 2008; Schuch et al., 2016) que afecten directamente la capacidad de agarre de las ratas.

La prueba del nado (*swim task-forepaw inhibition*)

Esta prueba inicialmente fue descrita a principios de los años '80 y los investigadores notaron que las ratas, cuando nadan, usan sus patas traseras para impulsarse y las delanteras para estabilizarse, colocándolas por debajo del mentón (Matthew Derrick et al., 2009; Gómez et al., 2013). Sin embargo, después de una lesión cerebral este patrón de movimiento cambia. Por ejemplo, las ratas pueden usar las patas delanteras para impulsarse,

además de estabilizarse, y esto se utiliza como un indicador de daño cerebral pues la función motora original de las extremidades se ve alterada. Para la realización de esta prueba, los animales necesitan ser entrenados por un par de días para aprender a nadar en una piscina rectangular y cruzarla por completo. Posteriormente, al tercer día los animales realizan tres ensayos que servirán como referencia para el análisis conductual después de la lesión. En cada prueba, se mide el número de veces que las ratas mueven sus extremidades frontales, que suele observarse exclusivamente en aquellas con lesión cerebral. Como en todo experimento científico, los datos obtenidos de los animales lesionados se comparan con datos de animales control, es decir, que no presentan la lesión cerebral, por lo tanto, el uso de las extremidades se mantiene normal. Esta prueba es altamente sensible al daño cerebral a corto y largo plazo, por lo tanto, es una prueba muy útil para evaluar alteraciones motoras en la rata de laboratorio (M. Derrick, 2004; Matthew Derrick et al., 2009; Drobyshevsky et al., 2007).

La prueba de cinta adhesiva (*adhesive removal test*)

Aunque esta prueba originalmente se creó para analizar la función táctil después de un daño cerebral (Schallert & Whishaw, 1984), posteriormente se sumó a la batería de pruebas conductuales para estudiar alteraciones motoras como consecuencia del infarto cerebral y la hipoxia-isquemia (Durán-Carabali et al., 2017; Nijboer et al., 2010; Sanches et al., 2017). Por consiguiente, esta prueba evalúa la función sensorio-motora de las extremidades frontales de la rata y aprovecha la conducta natural de acicalamiento de la misma. Esta prueba consiste en colocar una pieza de cinta adhesiva sobre la parte dorsal (superior) de ambas patas frontales de la rata. El tamaño de la cinta adhesiva debe ser igual para cada extremidad, y se mide el tiempo que le lleva a la rata remover la cinta desde el primer contacto con ella en cada extremidad. De esta manera, se determinan las deficiencias sensoriales motoras de cada extremidad por separado y juntas. Generalmente, las ratas con una lesión unilateral en el cerebro remueven primero la cinta adhesiva colocada en la pata asociada al lado del cerebro que no tuvo daño, es decir, que se mantuvo intacto. Esta prueba requiere de un pre-entrenamiento antes de causar la lesión y se recomienda ejecutar el análisis en la misma caja de alojamiento de la rata de manera consistente, tanto en la etapa del pre-entrenamiento como en la etapa de la evaluación, después de la lesión cerebral para evitar factores que alteran la atención de la rata. Como la lesión cerebral, por lo general, es unilateral significa que el mismo animal sirve como su propio control de referencia.

Esta prueba es lo suficientemente sensible para detectar alteraciones sensorio-motoras a largo plazo.

La prueba del cilindro (*cylinder test*)

La prueba del cilindro es una de las pruebas más sencillas para determinar problemas espaciales y motores, no requiere de un pre-entrenamiento (Schallert & Whishaw, 1984). Esta prueba evalúa el uso espontáneo de las cuatro extremidades de la rata, y es comúnmente usada para evaluar la función cerebral después de un infarto cerebral. Esta prueba requiere de un cilindro de plexiglás (o acrílico) suficientemente alto para evitar que la rata escape del mismo. Se observa la conducta exploratoria de la rata y se cuantifica el número de exploraciones verticales que la rata ejecuta, anotando las veces que usa sus extremidades traseras y delanteras para sostenerse por sí misma o sobre la pared. Los animales con daño cerebral unilateral, comparado con animales sin lesión, presentan una asimetría en el uso de sus extremidades frontales al explorar verticalmente el cilindro. La prueba del cilindro es altamente eficiente para detectar alteraciones motoras a largo plazo, y se recomienda realizarla bajo condiciones de oscuridad (o luz roja), pues los roedores, en general, son más propensos a explorar en ambientes oscuros y presentan menores niveles de ansiedad (Rachel P. Allred & Jones, 2008; Biernaskie, 2004; Hsu & Jones, 2006). Esta prueba tampoco requiere de un pre-entrenamiento o habituación antes de la prueba final para reducir factores adicionales que puedan alterar la conducta de la rata. Otras pruebas conductuales que evalúan parámetros similares son “*grid walking*” y “*open field*” (por sus nombres en Inglés).

Prueba de alcance (*reaching chamber/pellet retrieval task*)

Otra prueba muy útil para evaluar el uso de las extremidades superiores en ratas es la prueba de alcance, que contrario a lo que se pensaba, no es tan diferente a la observada en primates. Esta prueba se utiliza generalmente en modelos de lesión cerebral unilateral, es decir, cuando la lesión solo ocurre en un lado del cerebro, ya sea izquierdo o derecho (Miklyeva & Whishaw, 1996). El periodo de entrenamiento de esta prueba es largo, y para motivar al animal a ejecutar la prueba lo más eficientemente posible, se le limita el acceso a la comida para incentivarlos el día de la prueba. Esta prueba requiere de una caja de plexiglás (acrílico transparente) y una bandeja hecha del mismo material, colocada enfrente de la pared que tiene una ranura vertical, por la cual la rata únicamente tendrá acceso al alimento. Al interior de la caja, se coloca una pared adicional que funciona como

una división para bloquear el uso de una de las extremidades de la rata. Así, la rata utiliza la extremidad no bloqueada para alcanzar la comida. Se cuantifica el número de intentos fallidos y exitosos, así como el total de intentos, que la rata ejecuta durante el tiempo de prueba para determinar una discapacidad motora. Adicionalmente, también se puede medir el tiempo total (latencia) desde que la rata obtiene la comida hasta que se la termina. Los animales control no tienen lesión cerebral, pero de igual manera realizan la prueba. Este modelo animal es altamente relevante para el estudio de la discapacidad motora en humanos debido a que la discapacidad de las extremidades superiores o de las manos es común en pacientes que sufrieron un infarto cerebral, y en ratas puede ser usada hasta tres meses después del daño cerebral para detectar problemas motores (R. P. Allred et al., 2005; Rachel P. Allred & Jones, 2008; Hsu & Jones, 2006). Otros nombres para esta prueba son “*tray reaching*” o “*single pellet reaching*” (por sus nombres en inglés).

La prueba del rotarod (*accelerated rotarod*)

La prueba del *rotarod* fue presentada como una forma de estudiar deficiencias neurológicas (Jones & Roberts, 1968), y a principios del siglo XXI fue adaptada para evaluar la coordinación motora y el equilibrio en roedores posterior a una lesión cerebral, por ejemplo, después de un infarto cerebral. El aparato del *rotarod* se compone por una barra cilíndrica que gira a una determinada velocidad. Por lo general, la velocidad de giro es lenta al principio (4 r.p.m. = rotaciones por minuto) y gradualmente acelera hasta 40 r.p.m. en un tiempo de 3 a 5 minutos. A lo largo de esta barra cilíndrica hay divisiones, hechas de paredes de plástico, para generar hasta cinco compartimentos, dependiendo del tamaño del aparato. Cada compartimento es exclusivo para una rata, y cuenta con un cronómetro independiente que se detiene cuando la rata cae del cilindro, a una altura aproximada de 20 cm. Al final, se mide el tiempo total que la rata permanece en la barra. Este sistema del *rotarod* es simple y muy útil como técnica del laboratorio para detectar problemas de coordinación motora (Chen et al., 2001; Biernaskie, 2004; Rojas et al., 2013). Sin importar los protocolos particulares que cada laboratorio establece para esta prueba, todos requieren el uso de varias sesiones por día durante varios días. El patrón de aprendizaje típico observado en esta prueba muestra un incremento en el tiempo que las ratas pasan sobre el *rotarod* a lo largo del tiempo. La prueba del *rotarod* tiene una fase de aprendizaje y una fase consolidación del aprendizaje, por lo tanto, es importante considerar ambas fases en la in-

interpretación de los resultados. Aunque en humanos, aún no se cuenta con una prueba similar para evaluar problemas motores y de coordinación después de una lesión cerebral, en los roedores esta prueba es muy efectiva para detectar deficiencias motoras después de una lesión cerebral producida por isquemia o hipoxia.

La prueba de la pasta (*pasta test*)

La destreza manual es generalmente afectada después de una lesión o daño al sistema nervioso central (Whishaw & Coles, 1996). Las ratas se valen de esta habilidad para manipular y conseguir alimentos, y la prueba de la pasta es una de las pocas pruebas efectivas para medir con precisión una alteración motora en las patas delanteras de las ratas. Esta prueba consiste en observar la manipulación estereotipada de la pasta por parte de la rata. Al inicio, la manipulación motora de un pedazo de pasta por parte de la rata es asimétrica. Es decir, la rata utiliza una pata para sostener la pasta, y la otra para moverla hacia su boca. Así, mientras una pata agarra, la otra guía y, conforme la pasta se consume, se hace un ajuste de la posición física de ambas patas hasta que la posición es simétrica. Esta conducta es estereotipada, es decir, todas las ratas usan la misma técnica para comer pasta, por lo tanto, se puede evaluar una alteración de la misma al medir el número de ajustes que la rata hace al comer la pasta, así como el número y tipo de conductas anormales que se observen en la rata al ejecutar esta prueba. Los animales controles presenta una transición típica en el consumo de la pasta, es decir, de asimétrico cambian a simétrico, mientras que los animales con lesiones cerebrales mantienen una asimetría en la forma que sostiene la pasta mientras la consumen. Esta prueba es de las más simples para evaluar alteraciones sensorio-motoras de las extremidades superiores, y no es tan desgastante como otras pruebas, un factor que puede influir negativamente en la ejecución y evaluación de la prueba (Rachel P. Allred et al., 2008; Tennant & Jones, 2009; Teskey et al., 2003).

77

Barra transversal (*balance beam*)

Esta prueba analiza la capacidad de una rata para caminar sobre una barra cúbica delgada sin resbalarse y el tiempo en recorrerla (Hernandez & Schallert, 1988; Kunkel-Bagden et al., 1993). Por lo general, las ratas con problemas motores de agarre o de equilibrio se resbalan más y les toma más tiempo recorrer la barra completa comparada con los animales control o sin problemas motores. Para motivar a las ratas a realizar esta prueba, en el lado opuesto al punto de inicio de la barra, se coloca una caja

negra con alimento. Si la rata cae de la barra, colocada a una altura de 25 cm, la prueba termina. Existen varios protocolos para ejecutar esta prueba, pero sin importar el material con que la barra está hecha, o la altura o largo de la misma, el objetivo es el mismo, detectar alteraciones motoras de las patas delanteras o traseras, o ambas mientras caminan sobre la barra (Biernaskie, 2004; Diaz et al., 2017; Drunalini Perera et al., 2014; Rocha-Ferreira et al., 2019). Los animales con lesión cerebral se resbalan más o se caen más comparado con los animales control. Los animales con lesión cerebral que sí logran cruzar la barra les toma más tiempo hacerlo con respecto a los animales control. Esta prueba se utiliza ampliamente en las neurociencias conductuales desde hace mucho tiempo, pero ha tomado mayor relevancia actualmente debido a problemas motores asociados al infarto cerebral. En nuestro laboratorio, actualmente utilizamos esta prueba para determinar problemas cerebrales en ratas que fueron expuestas a la hipoxia e isquemia, durante los primeros días neonatales, desde el punto de vista anatómico, fisiológico y conductual. Este modelo animal es relevante para determinar alteraciones motoras crónicas o a largo plazo, así como para la evaluación de tratamientos destinados a revertir este problema. Existen otros nombres para esta prueba, pero al final el objetivo es el mismo. Algunos ejemplos son por sus nombres en inglés “foot fault” o “beam walk”.

Apertura de la semilla de girasol (*sunflower seed opening*)

Las ratas son muy hábiles para abrir semillas y conseguir alimento, esta prueba analiza su capacidad de manejar objetos con sus extremidades frontales. Sostener las semillas de girasol, para ser abiertas, requiere de un movimiento fino y preciso controlado por el sistema motor en el sistema nervioso central, principalmente, el cerebelo. Por ello, aquellas ratas con deficiencias motoras no podrán completar la prueba o les tomará mucho tiempo en hacerlo. Para aumentar la motivación de las ratas para interactuar con las semillas de girasol, estas son privadas de alimento un día antes de la prueba. La prueba es individual y termina hasta que la rata abre todas las semillas de girasol (cuatro en total), por lo general en un periodo de 20 min, o cuando pasan 30 min, lo que ocurra primero (Rachel P. Allred et al., 2008; Gomez et al., 2006; Kerr et al., 2013). Esta prueba es videograda para su posterior análisis. Esta prueba fue descrita por primera vez hace más de dos décadas (Whishaw & Coles, 1996) y actualmente, en nuestro laboratorio la utilizamos para detectar problemas motores inducidos

por la inflamación durante el desarrollo. Es fácil de ejecutar especialmente si se puede analizar a varios animales al mismo tiempo.

Vocalizaciones ultrasónicas (*ultrasonic vocalizations*)

Esta técnica de laboratorio se utiliza desde hace muchos años para el estudio de la emoción, el sistema de recompensa y el dolor, así como la comunicación, pero también para el estudio de la conducta de juego en ratas (Knutson et al., 2002; Scattoni et al., 2009). Los avances tecnológicos han hecho maravillas con los equipos que hoy existen para la detección de sonidos ultrasónicos ($>20,000$ Hz) o infrasónicos (<20 Hz) que los humanos no pueden detectar (20-20,000 Hz). La investigación neurocientífica ha mostrado que las ratas emiten sonidos ultrasónicos bajo actividades específicas como el juego o apareamiento, así como bajo su estado emocional particular como el miedo, el dolor y el placer. Actualmente, muy pocos laboratorios en el mundo están decodificando el significado de las vocalizaciones ultrasónicas con la finalidad de crear modelos animales que ayuden al estudio y entendimiento de problemas del lenguaje asociados a alteraciones cerebrales como consecuencia de una alteración de la función motora. Un artículo publicado recientemente en la prestigiosa revista *Science*, estudió las vocalizaciones de una cepa de rata que se caracteriza por no tener pelo (o casi nada de pelo) y por ser ciegas (conocida en inglés como “*naked mole-rat*”) (Barker et al., 2021). Este estudio mostró que esta cepa de rata se caracteriza por tener una organización social muy específica, y hasta cierto punto, avanzada. La matriarca o reina es la única hembra que se reproduce, y el resto de los miembros de la familia, ayudan con el cuidado de las crías. Debido a la evolución de su organización social, estas ratas tienen que aprender a comunicarse eficazmente para el reconocimiento grupal intra- e intersocial, la distribución y ejecución de labores sociales, así como para la prevención de conflictos. Se ha mostrado que la matriarca de la colonia establece un dialecto específico usado por los miembros del grupo, y que este es aprendido durante etapas tempranas del desarrollo. Si hubiera un cambio de matriarca, entonces el dialecto a usarse cambiaría también. De esta manera, esta cepa de rata podría ser utilizada en el futuro para estudiar el lenguaje y la comunicación después de una lesión cerebral (Bollen et al., 2007; Doran et al., 2015, 2019; Saucier et al., 2008).

Conclusiones

El uso de modelos animales en la investigación biomédica ha mejorado el

entendimiento de decenas de trastornos del sistema nervioso, generando en muchos casos tratamientos que ayudan a reducir los daños generados por los mismos. El avance de la ciencia es tan rápido y significativo que probablemente en algunos años el uso de la inteligencia artificial marcará el inicio de una etapa nueva en las neurociencias y en la biomedicina. De hecho, actualmente compañías como la de Nikon, especializada en microscopía, ya cuenta con sistema de inteligencia artificial enfocada al análisis celular automatizado. Asimismo, ya existen programas y equipos capaces de analizar conductas motoras con alta precisión, pero a un costo muy elevado. Sin lugar a duda, el análisis conductual es una de las herramientas en la investigación neurocientífica más poderosa. Las técnicas para el estudio de alteraciones motoras en ratas relacionadas al infarto cerebral mostradas aquí son básicas y no tan caras, incluso algunas de ellas pueden ser hechas con materiales muy simples como el caso de la prueba de la barra transversal, la prueba de campo abierto y la prueba de la apertura de las semillas de girasol. En las neurociencias cognitivas se vale hacer uso de la creatividad. La idea de este capítulo fue dar una idea general de algunas técnicas más comúnmente usadas en el laboratorio que se utilizan en la investigación biomédica para el entendimiento de lesiones cerebrales que afectan al sistema motor.

REFERENCIAS

- Allred, R. P., Maldonado, M. A., Hsu And, J. E., & Jones, T. A. (2005). Training the "less-affected" forelimb after unilateral cortical infarcts interferes with functional recovery of the impaired forelimb in rats. *Restorative Neurology and Neuroscience*, 23(5-6), 297-302.
- Allred, Rachel P., Adkins, D. L., Woodlee, M. T., Husbands, L. C., Maldonado, M. A., Kane, J. R., Schallert, T., & Jones, T. A. (2008). The Vermicelli Handling Test: A simple quantitative measure of dexterous forepaw function in rats. *Journal of Neuroscience Methods*, 170(2), 229-244. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2008.01.015>
- Allred, Rachel P., & Jones, T. A. (2008). Maladaptive effects of learning with the less-affected forelimb after focal cortical infarcts in rats. *Experimental Neurology*, 210(1), 172-181. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2007.10.010>.
- Arango-Davila C, Escobar-Betancourt M, Cardona-Gomez GP, & Pimienta-Jimenez H.(2004). Fisiopatología de la isquemia cerebral focal. *Revista de Neurología*, 39 (2): 156-165. <https://pdfs.semanticscholar.org/ebo6/fdf4870763d6766fa711533b61291bdc381a.pdf>
- Arauz A & Ruiz-Franco A (2012). Enfermedad vascular cerebral. *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM*, 55 (3). <http://www.scielo.org.mx/pdf/facmed/v55n3/v55n3a3.pdf>
- Badawi N, Kurinczuk JJ, Keogh JM, Alessandri LM, O'Sullivan F, Burton PR, Pemberton PJ, Stanley FJ (1998). Intrapartum risk factors for newborn encephalopathy: the Western Australian case-control study. *BMJ* 317:1554-1558. DOI: 10.1136/bmj.317.7172.1554.
- Barker, A. J., Vevjurko, G., Bennett, N. C., Hart, D. W., Mograby, L., & Lewin, G. R. (2021). Cultural transmission of vocal dialect in the naked mole-rat. *Science*, 371(6528), 503-507. <https://doi.org/10.1126/science.abc6588>
- Biernaskie, J. (2004). Efficacy of Rehabilitative Experience Declines with Time after Focal Ischemic Brain Injury. *Journal of Neuroscience*, 24(5), 1245-1254. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3834-03.2004>
- Bollen, B., Bouslama, M., Matrot, B., D'Hooge, R., Van den Bergh, O., & Gallego, J. (2007). Learned defense response to hypoxia in newborn mice. *Neuroscience Letters*, 420(3), 268-272. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2007.05.012>
- Cantú-Brito C, Ruiz-Sandoval J, Chiquete E, Arauz A, León-Jiménez C, Murillo-Bonilla LM, Villareal-Careaga J, Barinagarrementeria F, Fernández JA, Torres B, Rodríguez-Leyva I, & Rangel-Guerra R (2011). Enfermedad vascular cerebral en México.. *Rev Mex Neuroci* 12 (5):224-234. <https://www.medigraphic.com/pdfs/revmexneu/rmn-2011/rmn115b.pdf>
- Chen, J., Li, Y., Wang, L., Zhang, Z., Lu, D., Lu, M., & Chopp, M. (2001). Therapeutic Benefit of Intravenous Administration of Bone Marrow Stromal Cells After Cerebral Ischemia in Rats. *Stroke*, 32(4), 1005-1011. <https://doi.org/10.1161/01.STR.32.4.1005>
- Derrick, M. (2004). Preterm Fetal Hypoxia-Ischemia Causes Hypertonia and Motor Deficits in the Neonatal Rabbit: A Model for Human Cerebral Palsy? *Journal of Neuroscience*, 24(1), 24-34. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2816-03.2004>
- Derrick, Matthew, Drobyshesky, A., Ji, X., Chen, L., Yang, Y., Ji, H., Silverman, R. B., & Tan, S. (2009). Hypoxia-ischemia causes persistent movement deficits in a perinatal rabbit model of cerebral palsy: Assessed by a new swim test. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 27(6), 549-557. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2009.06.008>

- Díaz, J., Abiola, S., Kim, N., Avaritt, O., Flock, D., Yu, J., Northington, F. J., & Chavez-Valdez, R. (2017). Therapeutic Hypothermia Provides Variable Protection against Behavioral Deficits after Neonatal Hypoxia-Ischemia: A Potential Role for Brain-Derived Neurotrophic Factor. *Developmental Neuroscience*, 39(1-4), 257-272. <https://doi.org/10.1159/000454949>
- Doran, S. J., Jandzinski, M., Patrizz, A., Trammel, C., Sharmeen, R., Mamun, A. A., Capozzi, L. A., Venna, V. R., Liu, F., & McCullough, L. D. (2019). Deficits in ultrasonic vocalization development and production following neonatal hypoxic ischemic insult. *Behavioural Brain Research*, 369, 111931. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.111931>
- Doran, S. J., Trammel, C., Benashski, S. E., Venna, V. R., & McCullough, L. D. (2015). Ultrasonic vocalization changes and FOXP2 expression after experimental stroke. *Behavioural Brain Research*, 283, 154-161. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.01.035>
- Drobyshevsky, A., Derrick, M., Wyrwicz, A. M., Ji, X., Englof, I., Ullman, L. M., Zelaya, M. E., Northington, F. J., & Tan, S. (2007). White matter injury correlates with hypertonia in an animal model of cerebral palsy. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 27(2), 270-281. <https://doi.org/10.1038/sj.jcbfm.9600333>
- Drunalini Perera, P. N., Hu, Q., Tang, J., Li, L., Barnhart, M., Doycheva, D. M., Zhang, J. H., & Tang, J. (2014). Delayed Remote Ischemic Postconditioning Improves Long Term Sensory Motor Deficits in a Neonatal Hypoxic Ischemic Rat Model. *PLoS ONE*, 9(2), e90258. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0090258>
- Durán-Carabali, L. E., Sanches, E. F., Marques, M. R., Aristimunha, D., Pagnussat, A., & Netto, C. A. (2017). Longer hypoxia-ischemia periods to neonatal rats causes motor impairments and muscular changes. *Neuroscience*, 340, 291-298. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.10.068>
- Gómez, C., Delgado-García, M., Santiago-Mejía, J., Ventura-Martínez, R., Parra-Gámez, L., González-Ríos, J., & Rodríguez, R. (2013). Swimming Performance: A Strategy to Evaluate Motor Dysfunction after Brain Ischemia in Mice. *Journal of Behavioral and Brain Science*, 03(08), 584-590. <https://doi.org/10.4236/jbbs.2013.38062>
- Gomez, C., Santiago-Mejia, J., Ventura-Martinez, R., & Rodriguez, R. (2006). The sunflower seed test: A simple procedure to evaluate forelimb motor dysfunction after brain ischemia. *Drug Development Research*, 67(9), 752-756. <https://doi.org/10.1002/ddr.20117>
- Hernandez, T. D., & Schallert, T. (1988). Seizures and recovery from experimental brain damage. *Experimental Neurology*, 102(3), 318-324. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(88\)90226-9](https://doi.org/10.1016/0014-4886(88)90226-9)
- Hidalgo CJ, Cepero I, Berrios JE, Ulloa FO, & Polanco F. (2005). Infarto cerebral: complicaciones y causas de muerte. *Rev Cub Med Mil*, 34 (1). http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0138-65572005000100006&script=sci_arttext&tlng=en
- Hobbs, C. E., & Oorschot, D. E. (2008). Neonatal Rat Hypoxia-Ischemia: Long-Term Rescue of Striatal Neurons and Motor Skills by Combined Antioxidant-Hypothermia Treatment. *Brain Pathology*, 18(3), 443-454. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2008.00146.x>
- Hobbs, C., Thoresen, M., Tucker, A., Aquilina, K., Chakkarapani, E., & Dingley, J. (2008). Xenon and Hypothermia Combine Additively, Offering Long-Term Functional and Histopathologic Neuroprotection After Neonatal Hypoxia/Ischemia. *Stroke*, 39(4), 1307-1313. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.107.499822>

- Hsu, J., & Jones, T. (2006). Contralesional neural plasticity and functional changes in the less-affected forelimb after large and small cortical infarcts in rats. *Experimental Neurology*, 201(2), 479–494.
<https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2006.05.003>
- Jones, B. J., & Roberts, D. J. (1968). The quantitative measurement of motor inco-ordination in naive mice using an accelerating rotarod. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 20(4), 302–304.
<https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1968.tb09743.x>
- Kerr, A. L., Wolke, M. L., Bell, J. A., & Jones, T. A. (2013). Post-stroke protection from maladaptive effects of learning with the non-paretic forelimb by bimanual home cage experience in C57BL/6 mice. *Behavioural Brain Research*, 252, 180–187.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.05.062>
- Knutson, B., Burgdorf, J., & Panksepp, J. (2002). Ultrasonic vocalizations as indices of affective states in rats. *Psychological Bulletin*, 128(6), 961–977.
<https://doi.org/10.1037/0033-2909.128.6.961>
- Kunkel-Bagden, E., Dai, H.-N., & Bregman, B. S. (1993). Methods to Assess the Development and Recovery of Locomotor Function after Spinal Cord Injury in Rats. *Experimental Neurology*, 119(2), 153–164.
<https://doi.org/10.1006/exnr.1993.1017>
- Mendieta MD, Bender del Busto JE., & Perez Y. (2018). Factores predictores de muerte en pacientes con infarto cerebral isquémico. *Rev cubana med* (57).
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75232018000300003
- Miklyaeva, E. I., & Whishaw, I. Q. (1996). HemiParkinson analogue rats display active support in good limbs versus passive support in bad limbs on a skilled reaching task of variable height. *Behavioral Neuroscience*, 110(1), 117–125.
<https://doi.org/10.1037/0735-7044.110.1.117>
- Montoya, C. P., Campbell-Hope, L. J., Pemberton, K. D., & Dunnett, S. B. (1991). The “staircase test”: A measure of independent forelimb reaching and grasping abilities in rats. *Journal of Neuroscience Methods*, 36(2–3), 219–228.
[https://doi.org/10.1016/0165-0270\(91\)90048-5](https://doi.org/10.1016/0165-0270(91)90048-5)
- Nijboer, C. H., van der Kooij, M. A., van Bel, F., Ohl, F., Heijnen, C. J., & Kavelaars, A. (2010). Inhibition of the JNK/AP-1 pathway reduces neuronal death and improves behavioral outcome after neonatal hypoxic-ischemic brain injury. *Brain, Behavior, and Immunity*, 24(5), 812–821.
<https://doi.org/10.1016/j.bbi.2009.09.008>
- Rocha-Ferreira, E., Sisa, C., Bright, S., Fautz, T., Harris, M., Contreras Riquelme, I., Agwu, C., Kurulday, T., Mistry, B., Hill, D., Lange, S., & Hristova, M. (2019). Curcumin: Novel Treatment in Neonatal Hypoxic-Ischemic Brain Injury. *Frontiers in Physiology*, 10, 1351.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2019.01351>
- Rojas, J. J., Deniz, B. F., Miguel, P. M., Diaz, R., Hermel, É. do E.-S., Achaval, M., Netto, C. A., & Pereira, L. O. (2013). Effects of daily environmental enrichment on behavior and dendritic spine density in hippocampus following neonatal hypoxia-ischemia in the rat. *Experimental Neurology*, 241, 25–33.
<https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2012.11.026>
- Sanches, E. F., Durán-Carabali, L. E., Tosta, A., Nicola, F., Schmitz, F., Rodrigues, A., Siebert, C., Wyse, A., & Netto, C. (2017). Pregnancy swimming causes short- and long-term neuroprotection against hypoxia-ischemia in very immature rats. *Pediatric Research*, 82(3), 544–553.
<https://doi.org/10.1038/pr.2017.110>
- Saucier, D., Ehresman, C., Keller, A., Armstrong, E., Elderkin, A., & Yager, J. (2008). Hypoxia ischemia affects ultrasonic vocalization in the neonatal rat. *Behavioural Brain Research*, 190(2), 243–247.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.02.025>

- Scattoni, M. L., Crawley, J., & Ricceri, L. (2009). Ultrasonic vocalizations: A tool for behavioural phenotyping of mouse models of neurodevelopmental disorders. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 33(4), 508–515.
<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2008.08.003>
- Schallert, T., & Whishaw, I. Q. (1984). Bilateral cutaneous stimulation of the somatosensory system in hemidecorticate rats. *Behavioral Neuroscience*, 98(3), 518–540.
<https://doi.org/10.1037/0735-7044.98.3.518>
- Schuch, C. P., Jeffers, M. S., Antonescu, S., Nguemeni, C., Gomez-Smith, M., Pereira, L. O., Morshead, C. M., & Corbett, D. (2016). Enriched rehabilitation promotes motor recovery in rats exposed to neonatal hypoxia-ischemia. *Behavioural Brain Research*, 304, 42–50.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.02.010>
- Tennant, K. A., & Jones, T. A. (2009). Sensorimotor behavioral effects of endothelin-1 induced small cortical infarcts in C57BL/6 mice. *Journal of Neuroscience Methods*, 181(1), 18–26.
<https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2009.04.009>
- Teskey, G. C., Flynn, C., Goertzen, C. D., Monfils, M. H., & Young, N. A. (2003). Cortical stimulation improves skilled forelimb use following a focal ischemic infarct in the rat. *Neurological Research*, 25(8), 794–800.
<https://doi.org/10.1179/O16164103771953871>
- Whishaw, I. Q., & Coles, B. L. K. (1996). Varieties of paw and digit movement during spontaneous food handling in rats: Postures, bimanual coordination, preferences, and the effect of forelimb cortex lesions. *Behavioural Brain Research*, 77(1–2), 135–148.
[https://doi.org/10.1016/0166-4328\(95\)00209-X](https://doi.org/10.1016/0166-4328(95)00209-X)
- Zupan J, Åhman E (2006). Neonatal and perinatal mortality: country, regional and global estimates. Geneva: World Health Organization.<https://apps.who.int/iris/handle/10665/43444>

El modelo conejo, entre la píldora anticonceptiva y la lactancia circadiana

Mario Caba

Rubí Viveros-Contreras

Mario Daniel Caba-Flores

¿Qué tiene de especial el conejo?

Por 30 años el principal sujeto experimental de nuestro laboratorio ha sido el conejo. Durante los primeros 10 años fue una más de las tres especies con las que realizamos experimentos: la rata blanca, la oveja y el conejo. Pero durante los restantes 20 años ha sido el modelo principal de nuestro laboratorio. Se han generado artículos en revistas indizadas internacionales, nacionales, capítulos de libros y artículos de divulgación, aparte de Tesis de Licenciatura, Maestría y Doctorado. ¿Por qué el conejo? Hay dos grandes características especiales en este lagomorfo, orden taxonómico al que pertenecen los conejos y las liebres. La primera es que se trata de un ovulador reflejo y la segunda es que tiene un ritmo circadiano de amamantamiento. Sí, ambas cosas necesitan explicarse. ¿Un ovulador reflejo? La mayoría de las hembras de las especies de mamíferos ovula cada cierto período de tiempo. Una vez que se alcanza la madurez sexual en la pubertad la rata de laboratorio ovula cada cuatro días y la mujer aproximadamente cada 28 días. Y así por el resto de su vida fértil. En contraste, la coneja no ovula de manera regular y predecible. En realidad es más versátil, puede ovular en cualquier momento. Esto es, se considera que está en “estro permanente” y en el momento que un macho la estimule de manera adecuada se inicia un proceso que trae como consecuencia que ovule aproximadamente 12 horas después. Y regularmente queda embarazada. Por esta razón la ovulación en los mamíferos se divide en ovuladores espontáneos y ovuladores reflejos o inducidos. Hay otros ovuladores reflejos como la camella y la hembra del oso negro. Pero evidentemente es más accesible trabajar con la coneja para estudiar este fenómeno. La mujer como ya lo

mentione es ovulador espontáneo. Sin embargo, en casos de excesivo estrés, como durante una violación hay una liberación masiva de hormonas y se considera que esto puede facilitar la ovulación (Tarin et al., 2010). Por lo tanto, hay una alta probabilidad de generarse un embarazo. Esto ejemplifica que no hay una división tajante entre las dos categorías. ¿Y el ritmo de lactancia circadiana? Las excentricidades del conejo se extralimitaron una vez que nacen los críos. Antes del parto la hembra cava una madriguera como parte de un gran nido comunal y en ella construye un nido. En condiciones de laboratorio, donde no puede cavar un hoyo, rasca los materiales que se le proporcionen, por ejemplo un conglomerado de madera y, de esta manera, se puede ir cuantificando su intensidad de rascado. Posteriormente de manera paciente colecta materiales del entorno como ramas secas, paja o papel si se le proporcionan y hace un nido. Justo antes del parto la oleada hormonal la induce a arrancarse el pelo del vientre de una manera compulsiva y con ello culmina el nido. En el nacen los críos. La madre no los lame, prácticamente no les presta atención y los abandona inmediatamente. Los críos quedan solos, pero alrededor de 24 horas después la madre regresa al nido para amamantarlos. Está con ellos más o menos 5 minutos, se va abruptamente y nuevamente regresa dentro de 24 horas (Caba y González-Mariscal, 2009). Estas conductas que se repiten en dicho período de tiempo se llaman circadianas, del griego *circa*=cerca y *dies*=día. Esto es, cerca del día, no exactamente de 24 horas. Pueden ser de un poco más o de un poco menos de esas horas.

Ritmos circadianos en toda la naturaleza

Una forma de representar los ritmos circadianos de forma gráfica, mientras se mantiene el sujeto en condiciones constantes generalmente de oscuridad, es con un actograma. Si el ritmo se “adelanta” cada día, es decir, si el inicio del período de actividad del animal cada día es más temprano quiere decir que el ritmo es de menos de 24 horas. Pero si se atrasa, esto es, si cada día el período de actividad es un poco más tarde, quiere decir que el ritmo es de más de 24 horas. El primer caso es común en los roedores. En el segundo caso, un ejemplo es nuestra especie, por eso tendemos a levantarnos más tarde si tenemos la oportunidad (Fig. 1; Corona y Fernández, 2008). Hay ritmos circadianos de temperatura, de actividad locomotora, de secreción de cortisol, de testosterona, etc. Por esta razón cuando nos toman una muestra de sangre para analizar alguna hormona o un metabolito debe ser más o menos a la misma hora. De lo contrario la concentración de testosterona sería diferente en la mañana en relación con la tarde y por

lo tanto se enmascararía el cambio que deseamos observar. Los ritmos circadianos están en toda la naturaleza y tienen que ver con mecanismos de relojes biológicos a nivel celular y con grupos especiales de células como veremos más adelante. Ya siendo expertos en ovuladores reflejos y en lactancia circadiana podemos comenzar a hablar sobre la importancia científica del modelo conejo. Aunque hemos trabajado en el tema de ovulación de la coneja, la línea principal de nuestro laboratorio en estos 20 años ha sido sobre la lactancia circadiana. Pero primero una historia sobre la gran contribución del conejo a nuestra vida –sexual-moderna.

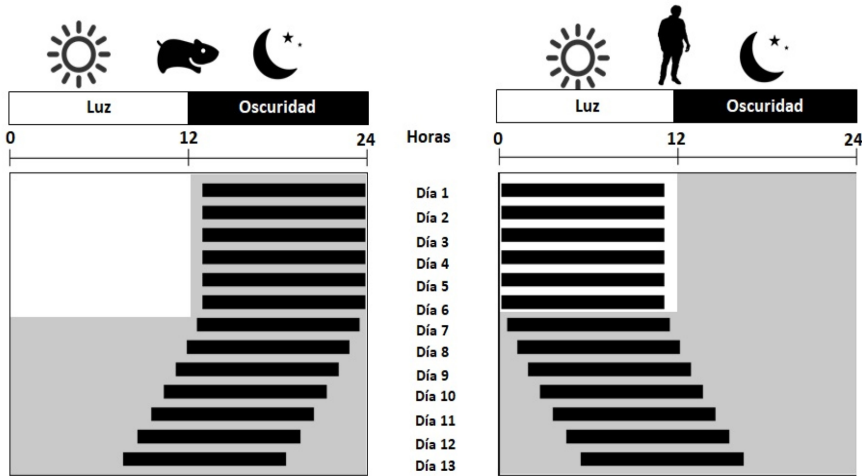


Fig. 1. Actogramas de una especie nocturna (roedor, izquierda) y una diurna (humano, derecha). Las barras negras horizontales cada día indican la actividad de los sujetos. Hasta el día 6 estuvieron en condiciones de luz/oscuridad y posteriormente en oscuridad constante. Nótese como la actividad continúa, pero cada día comienza más temprano en el nocturno y más tarde en el diurno. En el roedor se trata de un período de menos de 24 horas y en el diurno de más de 24 horas.

El conejo y la píldora anticonceptiva

El conejo ha sido uno de los animales de laboratorio favoritos para realizar investigación, solo es superado por el ratón y la rata blanca. Se utiliza para diversos aspectos desde metabolismo de lípidos hasta la inmunología. Pero seguramente el área en la que este lagomorfo ha contribuido más a la humanidad es en el aspecto reproductivo (Fischer et al., 2012; Püschel et al., 2010). El conejo, más concretamente “la coneja” fue uno de los modelos clave para el desarrollo de la píldora anticonceptiva. El Dr. Gregory Pincus, considerado uno de los padres de la primera píldora anticonceptiva, lo utilizó intensamente para estudiar la ovulación e implantación, pero sobre

todo para *prevenir* la ovulación. La principal razón por la que se decidió utilizar esta especie para estudiar el proceso de ovulación es que resulta más predecible saber cuando se van a liberar los óvulos después de la estimulación adecuada por el macho. Por el contrario, en la rata la ovulación ocurre de manera espontánea y es más difícil saber cuando va a ocurrir la ovulación, sobre todo teniendo en cuenta que el proceso puede ser afectado por diversos factores como el estrés.

Gracias al control de este proceso el Dr. Pincus se obsesionó con la experimentación de los óvulos de esta especie y llegó a hacer experimentos pioneros para la ciencia. Llegó a crear un “conejo de probeta”. En 1934 Pincus extrajo óvulos, los fertilizó y posteriormente los regresó al útero de la coneja (Pincus, Enzmann, 1934). Logró obtener el primer ser “de probeta”, un experimento trascendental en la historia de la humanidad. En realidad, es hacer una fertilización en un recipiente de cristal, pero no desarrollar un nuevo ser en dicho recipiente. A partir de este logro se comenzó a utilizar este término de que alguien era “de probeta”, en todo el mundo. Era una provocación para que les enseñara el ombligo. En los años 70's era un término común, ahora pocos lo recuerdan. Pero no conforme con esto el Dr. Pincus en 1936 realizó algo aún más espectacular. En base a un procedimiento similar fue capaz de producir un conejo partenogénico (Pincus, 1939). Esto es, extrajo óvulos de coneja, los fertilizó, más bien, los activó, *sin* espermatozoides y publicó que logró obtener un nuevo organismo. Estamos hablando de un nuevo ser sin padre. Sin embargo, esa hazaña no pudo ser replicada por otros investigadores y el proceso fue llamado “Pincogénesis”. Estos experimentos que rayan entre la ciencia de vanguardia y la fantasía fueron el comienzo de la fertilización *in vitro* en humanos, actualmente de uso común. Ahora sabemos que sí es posible que se genere un nuevo individuo a partir de células femeninas, sin que sean fertilizadas, a partir de células llamadas somáticas, como fue el caso tan famoso de la borrega escocesa “Dolly”. Esto se logró a partir de un procedimiento llamado clonación. Pero en ese momento se estaba muy lejos de la tecnología para lograrlo. Sin embargo, el efecto mediático fue enorme. Era algo tan novedoso entre la frontera de la manipulación de la vida y la ciencia ficción y el Dr. Pincus se ganó el apodo de Dr. Frankenstein, que no era un sobrenombre del todo digamos respetable para un científico serio. Y no lo fue para la Harvard University donde se desempeñaba como profesor asistente. Su contrato no fue renovado. Pero afortunadamente creyó en sus experimentos y logró conseguir trabajo en la Clark University en Worcester, Massachusetts. Poco después con colegas fundó la Worcester Foundation

for Experimental Biology. La fundación donde se realizaron experimentos clave para el desarrollo de la píldora anticonceptiva. Se sabía que altas dosis de esteroides inhibían la ovulación, pero obtenerlos era un proceso costoso. Curiosamente en México la planta *Dioscorea mexicana*, conocida como barbasco, resultó ser una fuente mucho más económica para producir la hormona progesterona. Gracias a la disponibilidad de la progesterona “mexicana” en 1951 el Dr. Pincus logró inhibir la ovulación en la coneja y comenzó una carrera por encontrar la dosis y combinación adecuada de esteroides, pero ahora probándola en mujeres. Paralelamente se fundó la compañía Sintex en México que comenzó a desarrollar progestinas sintéticas, más potentes y con menos efectos secundarios que la progesterona misma. En 1951 el Dr. Carl Djerassi y colegas produjeron la primera píldora anticonceptiva con la progestina sintética, la noretisterona. Esta fue aprobada por la *Food and Drug Administration (FDA) de los Estados Unidos* en 1960 y fue uno de los pilares de la revolución sexual que cambió totalmente el mundo. Y el conejo contribuyó a dicha revolución.

El conejo neonato, ni desprotegido ni inmaduro

Para tratar sobre la lactancia circadiana analizaremos primero al conejo recién nacido. Las crías de conejo son altriciales y estas se definen como ciegos al nacimiento, con los conductos auditivos cerrados, sin pelo, con movilidad muy limitada, inclusive no se parecen en algunas ocasiones a los individuos adultos y requieren un largo proceso de desarrollo. El conejo recién nacido es todo eso y más, ya que también tiene cerrados los párpados y tampoco los necesita abiertos porque está en ese momento en oscuridad. En drástico contraste los corderos son críos precoces. Inmediatamente que nacen ya pueden ejecutar balidos, la madre los lame intensamente, lo que crea un vínculo muy fuerte de reconocimiento entre la madre y su cría que probablemente dura toda la vida. Alrededor de una hora después ya se pueden poner de pie y puede seguir a su madre y a la manada que está en movimiento constante (Poindron et al., 1994). El conejo neonato tiene problemas para controlar su temperatura por lo que necesita estar cubierto con el material del nido, entre la paja y el pelo de la madre y además en contacto permanente con sus hermanos para mantener su temperatura corporal. Esto es muy diferente de otras especies altriciales como la rata y el ratón donde las crías están en el nido y la madre está constantemente con ellos. Los lame, los limpia, los acarrea si se separan del nido, se hecha sobre ellos. Y un asunto importante los amamanta constantemente. Los conejitos como vemos no tienen cuidado maternal. Tam-

poco cuidado paternal. Están en la oscuridad del nido protegiéndose entre ellos, aislados de las condiciones geográficas medioambientales. Están protegidos de los cambios de temperatura exterior, pero también aislados de la luz. No saben lo que es. Están en oscuridad constante. Sin embargo, más o menos 24 horas después de nacer reciben una señal de tiempo. Su madre regresa al nido, se coloca sobre ellos y los amamanta de 3-5 minutos. A fin de conservar energía durante la mayor parte del tiempo los críos se mueven muy poco, probablemente duermen. No obstante, y desde el día 3 después del parto comienzan a “adivinar” que la madre va a regresar. Los conejitos muy pronto han aprendido que tienen que estar alertas, despiertos para cuando la madre regrese y por una razón muy importante. El que esté dormido o aletargado tiene menos probabilidades de comer en el corto período que estará la madre en el nido y por lo tanto puede no sobrevivir. Y eso es lo que ocurre. Con un solo período de no comer o comer poco estará muy débil para el próximo regreso de la madre, teniendo en cuenta que durante 24 horas no comerá nada (González-Mariscal et al., 2016; Caba et al., 2008a). Y lo que es peor, no ingerirá líquido, así que estará en grave riesgo de deshidratación. Así la selección va operando, los más débiles, que no han sido exitosos en succionar suficiente leche para soportar 24 horas, corren el riesgo de perecer. Para evitar al máximo este desenlace fatal la naturaleza les ha otorgado a estos críos una herramienta poderosa: un reloj circadiano, activado para que “suenen” cada 24 horas y así estén listos para la llegada de la madre. Sin embargo, este reloj no es exclusivo del conejo ni fue descubierto en ellos. Se descubrió en la rata blanca de laboratorio.

Sincronización por alimento

En 1922 Curt Richter realizó un descubrimiento curioso. Las ratas de laboratorio normalmente se mantienen en 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Expresan ritmos circadianos como cualquier mamífero y comen solamente en su período de actividad, durante la noche, ya que son nocturnos. Pero Richter les cambió drásticamente la condición medioambiental, las mantuvo en luz constante. A pesar de ello las ratas pasaban la mitad del tiempo dormidas y la otra mitad despiertas. Lo mismo hubiera pasado si se mantenían en oscuridad constante. En esas condiciones encontró que las ratas aumentaban su actividad locomotora, esto es, anticipaban el momento cuando se les proporcionaba el alimento. Esto se llamó posteriormente actividad anticipatoria al alimento. Parecía que se activaba un mecanismo de reloj que les avisaba que era hora de comer. Los experimen-

tos de Richter fueron conocidos en la literatura pero pasaron desapercibidos. Sin embargo, este fenómeno de anticipar la comida está extendido en la naturaleza. Su primera descripción es de principios del siglo XX. August Forel, un entomólogo, neuroanatomista y psiquiatra suizo relata un hecho curioso en una de sus vacaciones por los Alpes suizos. Cada mañana mientras tomaba su desayuno en el patio al aire libre, acompañado de mermelada, se dio cuenta de que comenzó a ser visitado por abejas durante ese momento. Y así cada día acudían más abejas hasta que fue imposible tomar el desayuno afuera y decidió tomar ahora el desayuno dentro de la casa. Intrigantemente y a pesar de que ya no había mermelada en el patio, las abejas continuaron llegando a la misma hora de la mañana durante varios días. Forel en su reporte escribió que parecía que los animales tenían una memoria de tiempo (*zeitgedächtnis* en alemán) que les decía cuando estaba listo el desayuno (Antle y Silver, 2009). También a principios del siglo XX el biólogo alemán Hugo Berthold von Buttel-Reepen describió, igualmente en abejas, que estas tenían una especie de sentido del tiempo (*zeitsinn*, en alemán) para forrajear ya que visitaban un campo de trigo sarraceno solo en las mañanas, único momento del día cuando las flores de la planta estaban abiertas y secretaban néctar. En conjunto estas conductas de las abejas y las ratas son las primeras descripciones de lo que se llama actividad anticipatoria al alimento (AAA). Esto es, un aumento de la actividad de los organismos anticipando la disponibilidad de un recurso limitado, el alimento, disponible en un espacio temporal limitado y predecible. Después de varios días los animales aprenden y se establece una especie de reloj que continúa “sonando” –alertando– al individuo a tener dicho aumento de actividad a la hora determinada aun cuando el recurso no esté disponible. En otras palabras, se establece una persistencia. Estas conductas repetitivas tienen que ver con relojes biológicos y más internamente, dentro de la célula, con genes reloj.

Genes reloj desde el origen de la vida

La tierra ha estado sujeta a cambios periódicos impuestos por su rotación sobre sí misma y alrededor del sol. Por lo tanto, a lo largo de millones de años ha experimentado diariamente períodos de luz y de oscuridad. Cuando la vida surgió en los mares primitivos la atmósfera era muy diferente de cómo la conocemos ahora. Había poca filtración de los rayos ultravioleta (UV) y estos son dañinos para las células y moléculas orgánicas. Los ácidos nucleicos son particularmente susceptibles a la radiación UV y por ejemplo nos ocasiona mutaciones que pueden ocasionar cáncer de piel. Estos

rayos UV son parte de la luz que recibimos del sol y la mayoría de ellos son filtrados en la capa de ozono y solo nos llega una cantidad menor. De tal modo que el deterioro acelerado de esta capa en nuestra atmósfera se ha convertido en un peligro y ahora se ha vuelto frecuente el uso de bloqueadores solares para impedir un daño mayor a nuestra piel. El sol, el padre sol siempre se ha dicho es fuente de vida en la tierra. Gracias a su radiación se produce la fotosíntesis, necesaria para la cadena alimenticia. Las plantas buscan la luz, por ejemplo, en un bosque o en una selva se elevan cada vez más para obtener la mejor radiación posible, para estar más cerca del sol. Sin embargo, en el caso de los organismos primitivos se cree se desarrollaron mecanismos para un proceso exactamente contrario. Alejarse lo más posible del sol ya que destruía los organismos primitivos y sus ácidos nucleicos a consecuencia de la excesiva radiación. El proceso de selección fue favoreciendo la sobrevivencia de los organismos que tenían la habilidad de “predecir” las horas de mayor radiación solar, para protegerse y sobrevivir. Este proceso dio origen a unos genes denominados reloj. Se denominan así porque se trata de genes que tienen un proceso de transcripción y traducción del ácido desoxirribonucleico, producen ácido ribonucleico y consecuentemente proteínas. Estas a su vez a través de un proceso inverso son capaces de inhibir la transcripción de sus genes. Curiosamente este ciclo de transcripción-traducción que se demora aproximadamente 24 horas, no es otra cosa más que un reloj molecular. Estos genes se diversificaron y se encuentran en toda la naturaleza, desde los organismos más sencillos como las algas azul-verdes llamadas cianofitas hasta las grandes secoyas y las ballenas, incluida por supuesto nuestra especie. A pesar de que se encuentran probablemente en todas las células de los organismos en algunos lugares se han vuelto preponderantes, imponen un ritmo sobre una estructura o un órgano particular. En el caso de los mamíferos tenemos genes reloj en todo el cuerpo, en la piel, en el hígado, la retina, todas nuestras células tienen un reloj. Pero esto lleva el riesgo de un caos de horarios. Exceso de relojes en todas partes. Procesos metabólicos incompatibles en un mismo momento. Para ello la naturaleza decidió que debe haber un jefe, un reloj central, denominado reloj maestro. En los mamíferos se denomina núcleo supraquiasmático (NSQ) en la base de nuestro cerebro, a los lados del tercer ventrículo. Este núcleo recibe información de nuestros nervios ópticos. La retina recibe la luz de longitud azul del espectro visible y la transforma en impulso nervioso que viaja por los nervios ópticos y le “dice” al NSQ qué es de día o es de noche. Esta luz azul, es la que emiten los aparatos electrónicos LED como computadoras y celu-

lares y en la noche le continúan diciendo a nuestro NSQ que es de día. Esto ocasiona una disrupción en nuestra fisiología que se ha asociado a numerosas patologías desde cáncer hasta trastornos emocionales. Pero por ahora nos dedicaremos a otra historia. A partir de la información que recibe en NSQ se genera una cadena de procesos a través de hormonas o de impulsos nerviosos que le dicen a todo nuestro cuerpo que funciones debe hacer dependiendo de si es el día o la noche geográfica. Por ejemplo, si Ud. lee esto de día en el mismo momento en Japón es de noche y el núcleo está preparado para responder adecuadamente en ambas condiciones según en donde estemos ubicados. Por ejemplo, si hay que hacer funciones de día: locomoción, movimiento intestinal, comer, micción, etc., y si se deja de recibir dicha luz azul, nuestro cerebro lo identifica como noche y ordena al organismo a hacer funciones contrarias como son, la disminución de la locomoción, del movimiento intestinal, disminuir la temperatura, dormir, soñar. Un proceso similar ocurre por ejemplo con las plantas. Durante el día realizan fotosíntesis y consumen dióxido de carbono, agua y energía del sol y durante la tarde y noche tienen un proceso de síntesis y crecimiento y liberan oxígeno. El sol a través de su ciclo constante ordena a los organismos qué actividades hacer durante el día y cuales durante la noche. El padre sol ha gobernado la vida en la tierra desde siempre. Aproximadamente cada 24 horas aparece nuevamente para reactivar la vida. No sabíamos que teníamos un “fragmento del sol” dentro de nuestras células. El descubrimiento de los genes reloj ha sido reconocido como una investigación importante en ciencias naturales y en el año 2017 tres investigadores fueron reconocidos con el premio Nobel por su descubrimiento. Sin embargo, surgió un competidor importante para la hegemonía del sol y su efecto sincronizador, el alimento.

Desafío al reloj maestro

El ritmo circadiano más evidente para nosotros es el ciclo dormir/estar despierto. Todos los días realizamos ambas actividades aproximadamente el mismo número de horas, pero bajo nuestra piel toda nuestra fisiología es rítmica. Nuestra hormona cortisol se eleva espontáneamente antes de despertarnos y le ayuda a nuestros organismos a estar alertas, a comenzar nuestras actividades y nos proporciona azúcar. El cortisol es un glucocorticoide y va al hígado para que el glucógeno guardado del día anterior se convierta en azúcar para que podamos atender a los niños para ir al colegio o correr para alcanzar el camión para la escuela o el trabajo. Mientras tenemos tiempo para comer en el trabajo nuestro NSQ nos ayuda a sobre-

vivir. Su hegemonía como nuestro reloj maestro fue establecida en 1972 con base en los experimentos realizados por los doctores Robert Moore y Stephan Zucker de manera independiente. Cuando este núcleo se lesionó en ratas adultas el animal seguía vivo pero sus ritmos de locomoción, temperatura y de la hormona corticosterona desaparecieron. Esto parece contradictorio a lo que se dijo anteriormente de que todas nuestras células tienen genes reloj. Por lo tanto, deberían seguir produciendo ritmos. Claro esta que sí tienen genes reloj y tienen ritmos, pero la mayoría de los ritmos de estas células que les ayudan para los procesos locales, dependen de la señal maestra del NSQ. Si no reciben dicha señal generalmente ya no tienen ritmos. Se quedan “esperando” la información para evitar una disincronía total, una orquesta en la que cada quien toque una melodía, el caos. Estos relojes se llaman esclavos y de esta manera el organismo evita una disincronía fisiológica (Antle y Silver, 2009). En la Fig. 2 se ilustra el aumento de los ritmos de locomoción, temperatura y corticosterona en el conejo neonato en relación con el amamantamiento diario. Un fenómeno similar ocurre en los roedores sincronizados por alimento.

Pero el reinado indiscutible del reloj maestro y su dependencia del sol fue severamente lastimado en 1977 por la Dra. Dorothy Krieger. Retomando los experimentos del Dr. Richter y otros investigadores sobre el curioso fenómeno de sincronización por alimento, esta investigadora lesionó el NSQ en animales sincronizados por la administración periódica de alimento. Como se recordará éste se les provee solo durante un corto tiempo durante el día y los animales se despiertan, aumentan su conducta locomotora, anticipando la llegada del mismo después de alrededor de dos semanas. Esta conducta evidentemente debía estar controlada por el NSQ, pero llamaba la atención de que ocurría a una hora diferente de los ritmos que ya se sabía estaban controlados por dicho núcleo. Para su sorpresa y de la comunidad científica, los animales con el NSQ lesionado continuaron presentando la actividad anticipatoria al alimento (Caba et al., 2008b). ¿Qué significa esto, que hay otro reloj? En este caso, ¿un reloj que se sincroniza por el alimento, en lugar de la luz como en el NSQ?

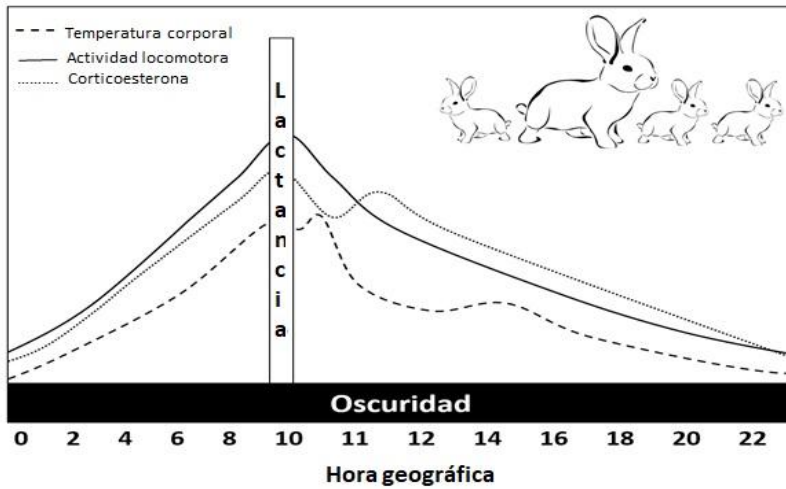


Fig. 2. Sincronización por alimento en el conejo. Ritmos de Temperatura corporal, actividad locomotora y corticosterona en relación con el momento del amamantamiento a las 10 horas. Los conejitos se mantienen en oscuridad constante. Modificado de Caba y Mendoza, 2018.

¿Un reloj sincronizado por el alimento?

El experimento de la Dra. Krieger alertó de la posibilidad de otro reloj tan importante como el reloj maestro, en este caso sincronizado por el alimento. La oportunidad de descubrir “otro reloj maestro” fue demasiado interesante. Se inició una búsqueda en diversos laboratorios del mundo y no ha concluido. El conejo neonato ha sido uno de los modelos que están contribuyendo al entendimiento de este fenómeno. En nuestro laboratorio demostramos que solo dos exposiciones de los conejitos a la llegada de la madre son suficientes para que ya en el día tres postnatal aumenten su conducta locomotora antes de su llegada para amamantarlos. En los días siguientes el aumento de la actividad locomotora es más intensa. Después de consumir leche su actividad disminuye notoriamente y así permanecen por las siguientes 21 horas cuando vuelven a mostrar aumento de actividad, esto es AAA. Otros parámetros también se sincronizan. La temperatura corporal aumenta también durante la AAA y la hormona corticosterona. Estos aumentos son similares como si se acabaran de despertar, similar como en nosotros. La corticosterona es también un glucocorticoide y les provee glucosa necesaria para la intensa actividad locomotora y la competencia que tienen por acceder a los pezones de la madre para succionar. También hay cambios en el cerebro. Utilizando una técnica que se llama inmunohistoquímica, que se basa en la utilización de anticuerpos en secciones de tejido nervioso, he-

mos logrado descubrir estructuras que se sincronizan también por el amantamiento periódico y otras que solo responden al alimento. Con esta técnica determinamos áreas y estructuras cerebrales que se encuentren activas en un momento determinado o que presentan ritmos. Cuando decimos que una estructura está sincronizada queremos decir que se observa un ritmo en la misma: mayor expresión del marcador que utilizamos a un determinado momento y menor expresión a otra hora. Si este ritmo persiste cuando los sujetos no ingieren alimento, cuando la madre no los amanta, entonces quiere decir que dicha estructura está sincronizada y se dice que el ritmo persiste en ausencia del sincronizador, es decir, en ausencia del alimento. Por otro lado, si la mayor o menor expresión del marcador solo se observa cuando los sujetos comieron, pero no cuando no comen, entonces decimos que solo responden al alimento. Por ejemplo, el llenado del estómago solo se observa cuando los sujetos comen. Si el estómago se observara lleno cuando los animales no comen entonces diríamos que se observa una persistencia en el ritmo. Evidentemente esto no es posible con el estómago. Pero sí ocurre en el cerebro. Y en tal caso la estructura que lo muestra es sumamente interesante ya que nos indica que tiene un mecanismo propio o que es parte de un sistema de reloj que fue sincronizado por el alimento. El NSQ es sensible a la luz y aunque si participa en la sincronización por alimento no es necesario para la presencia de dicho fenómeno. Algunos núcleos solo muestran respuesta cuando el sujeto ingiere alimento. Pero otros muestran claramente sincronización. Por ejemplo, el núcleo dorsomedial del hipotálamo y el bulbo olfatorio. El núcleo dorsomedial desempeña un papel importante en el fenómeno de AAA, pero no parece ser necesario, igualmente el bulbo olfatorio. Esta estructura muestra ritmos vigorosos sincronizados por el alimento, que persisten en su ausencia. El bulbo le sirve a los conejitos para identificar una feromona que se libera del pezón de la madre, pero la ausencia de bulbo igualmente no es necesaria para la AAA. Diversos autores han analizado y lesionado diversas estructuras del sistema nervioso y de la periferia tanto en el conejo neonato como en los roedores a lo largo de los años en una búsqueda incesante por ese otro reloj que desafía al NSQ. La búsqueda ha sido infructuosa hasta ahora. Se han plateado algunas alternativas. Una es que se trate de un sistema multioscilar que involucra tanto estructuras a nivel del sistema nervioso como de la periferia que incluye metabolitos y hormonas. Otra propuesta es que aún faltan de analizar de manera fina estructuras en alguna parte del organismo que puedan ser esenciales para la AAA (Caba y Mendoza, 2018)

Aportaciones del conejo neonato a la sincronización por alimento

A lo largo de 20 años hemos publicado suficiente evidencia para establecer en la literatura que el conejo neonato, con escasas manipulaciones, es un modelo adecuado para estudiar la sincronización por alimento. Como se mencionó a diferencia de los roedores, en el caso de los conejitos las manipulaciones son mínimas. Los sujetos se pueden sincronizar a cualquier hora tanto del día como de la noche y se evita el proceso de quitarles el alimento y proporcionárselos a una hora determinada del día. No hay necesidad de ello ya que los conejitos comen de manera natural una sola vez cada 24 horas. Los estudios que hemos realizado en general confirman que el modelo conejo de sincronización por alimento es similar al de la rata adulta, con las ventajas ya explicadas. Pero aún más, ha permitido analizar áreas cerebrales que no se han estudiado en otra especie. Específicamente realizamos estudios recientes sobre una región en el núcleo paraventricular (NPV) del hipotálamo que es sumamente interesante (Caba et al., 2020). Este núcleo tiene una larga extensión y se distribuye entre la región anterior y medial del hipotálamo. Sus células son muy grandes y son productoras de las hormonas oxitocina y vasopresina. La oxitocina ha sido muy estudiada por sus efectos periféricos, por ejemplo, en la contracción de la musculatura uterina durante la cópula y para la eyección de la leche durante la lactancia. Sin embargo, también está muy relacionada con la alimentación. Inhibe el consumo de alimento y participa activamente en el metabolismo. Normalmente las células de oxitocina en el NPV se activan después del consumo de alimento y una de sus acciones es parar el consumo del mismo, inclusive producir la sensación de saciedad. La mayoría de las células del NPV al activarse liberan su contenido a la circulación periférica a través de la Neurohipófisis. Recientemente encontramos que una subpoblación de células productoras de oxitocina en la parte dorsal y posterior del NPV se activan justo antes de la llegada de la madre para amamantar a sus conejos. Esto indica que las células oxitocinérgicas anticipan la llegada del alimento. Hay dos razones por las que este descubrimiento es muy importante. Es la primera indicación de un mecanismo de reloj sincronizado por el alimento en células productoras de oxitocina. La segunda es que dichas células se encuentran en una región del NPV que se ha demostrado que contiene células preganglionares del sistema nervioso periférico simpático y parasimpático. Estas células no vierten sus secreciones a la circulación periférica, como se indicó arriba, son células que mantienen contacto indirecto a través de sinapsis con los órganos inter-

nos innervados por el sistema vegetativo, eso es el hígado, páncreas, estómago, etc. Nuestra hipótesis es que la activación de estas células antes de la llegada del alimento tiene un mecanismo de reloj que activa órganos periféricos para la llegada del mismo. Pueden estar activando enzimas digestivas para hacer un manejo más eficiente del alimento que está por llegar. Desde hace tiempo se han postulado cambios periféricos tanto hormonales como del metabolismo sincronizados por el alimento periódico. Nuestro descubrimiento reciente establece una vía concreta de vinculación entre un oscilador central y acciones periféricas que merece ser estudiada en detalle. Por principio encontramos que un fenómeno similar también se presenta en la rata, lo cual confirma la similitud del modelo conejo y el de la rata. Adicionalmente también hemos descubierto en el conejo neonato activación de un núcleo en la porción anterior del cerebro denominado núcleo preóptico mediano. Se activa de manera muy intensa antes del momento del amamantamiento y esto es muy interesante. Este núcleo y una estructura adyacente, con la que está estrechamente conectado, el órgano vasculoso de la *lamina terminalis*, están relacionados con la homeostasis hídrica, la osmoregulación, el control de la temperatura corporal y el alertamiento a través del ciclo vigilia/sueño. Estas regiones cerebrales parecen estar relacionadas con el control de la gran ingesta de líquido que realizan los conejitos cada 24 horas, el aumento de la temperatura justo antes del amamantamiento y el aumento del alertamiento para estar activos en el momento que llega la madre. Después del amamantamiento probablemente duermen y la activación de este núcleo parece indicar también un aumento en la carga de sueño (Caba et al., 2021). Esta es nueva evidencia en el conejo acerca de la sincronización por alimento que no ha sido estudiada en otros modelos animales.

Conclusiones

La diversidad de la vida es inmensa. Cada especie tiene particularidades especiales que han sido modeladas por millones de años de evolución. Como nos ilustra la existencia de los genes reloj, toda la naturaleza compartimos un origen común. Tenemos mecanismos similares y a la vez tan diversos. Así por ejemplo los genes reloj fueron descubiertos en la mosca de la fruta. A causa de su corto período de vida se pueden obtener varias generaciones de individuos con carga genética que va variando y por ello es posible descubrir modificaciones y sus efectos en corto tiempo. Esto es mucho más difícil en organismos de períodos de vida más largo como los mamíferos. Y estudiarlos en humanos, por supuesto mucho más compli-

cado. Pero gracias a las especies con las que compartimos este mundo podemos aprender mucho de nosotros mismos. Los mecanismos básicos son similares, excepto principalmente nuestra inteligencia que nos está complicando todo, hasta nuestra propia existencia.

REFERENCIAS

- Antle, M. C., & Silver, R. (2009). Neural basis of timing and anticipatory behaviors. *The European Journal of Neuroscience*, 30(9), 1643-1649.
<https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2009.06959.x>
- Caba, M., & González-Mariscal, G. (2009). The rabbit pup, a natural model of nursing-anticipatory activity. *The European Journal of Neuroscience*, 30(9), 1697-1706.
<https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2009.06964.x>
- Caba, M., & Mendoza, J. (2018). Food-Anticipatory Behavior in Neonatal Rabbits and Rodents: An Update on the Role of Clock Genes. *Frontiers in Endocrinology*, 9, 266.
<https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00266>
- Caba M., Lehman, MN, Caba-Flores, MD. (2021). Food entrainment, arousal and motivation in the neonatal rabbit pup. *Frontiers in Neuroscience*. En prensa.
- Caba, M., Tovar, A., Morgado, E., Portilla, C., Meza, E., & Zavaleta, Y. (2008). El conejo neonato: Modelo de sincronización no-fótica por alimento. En Caba, M. (Ed.) *Bases celulares y moleculares de los ritmos biológicos* (pp. 64-79). Universidad Veracruzana/Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas.
- Caba, M., Huerta, C., Meza, E., Hernández, M., & Rovirosa-Hernández, M. J. (2020). Oxytocinergic Cells of the Hypothalamic Paraventricular Nucleus Are Involved in Food Entrainment. *Frontiers in Neuroscience*, 14, 49.
<https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00049>
- Caba, M., Tovar, A., Silver, R., Morgado, E., Meza, E., Zavaleta, Y., & Juárez, C. (2008). Nature's food anticipatory experiment: Entrainment of locomotor behavior, suprachiasmatic and dorsomedial hypothalamic nuclei by suckling in rabbit pups. *The European Journal of Neuroscience*, 27(2), 432-443.
<https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2008.06017.x>
- Corona, A., & Fernández, M. (2008). Bases de los ritmos biológicos. En Caba, M. (Ed.) *Bases celulares y moleculares de los ritmos biológicos* (pp. 15-24). Universidad Veracruzana/Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas.
- Fischer, B., Chavatte-Palmer, P., Viebahn, C., Navarrete Santos, A., & Duranthon, V. (2012). Rabbit as a reproductive model for human health. *Reproduction*, 144(1), 1-10.
<https://doi.org/10.1530/REP-12-0091>
- González-Mariscal, G., Caba, M., Martínez-Gómez, M., Bautista, A., & Hudson, R. (2016). Mothers and offspring: The rabbit as a model system in the study of mammalian maternal behavior and sibling interactions. *Hormones and Behavior*, 77, 30-41.
<https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2015.05.011>
- Pincus, G., & Enzmann, E. V. (1934). Can Mammalian Eggs Undergo Normal Development in Vitro? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 20(2), 121-122.
<https://doi.org/10.1073/pnas.20.2.121>
- Pincus, G. (1939). The Breeding of Some Rabbits Produced by Recipients of Artificially Activated Ova. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 25(11), 557-559.
- Poindron, P., Caba, M., Arrati, P. G., Krehbiel, D., & Beyer, C. (1994). Responses of maternal and non-maternal ewes to social and mother-young separation. *Behavioural Processes*, 31(1), 97-110.
[https://doi.org/10.1016/0376-6357\(94\)90039-6](https://doi.org/10.1016/0376-6357(94)90039-6)
- Püschel, B., Daniel, N., Bitzer, E., Blum, M., Renard, J.P., & Viebahn, C. (2010). The rabbit (*Oryctolagus cuniculus*): A model for mammalian reproduction and early embryology. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2010(1), pdb.em0139.
<https://doi.org/10.1101/pdb.em0139>

La ansiedad en los animales y el hombre

Juan Francisco Rodríguez-Landa

Jonathan Cueto-Escobedo

Caio Maximino

Introducción

La infinita variedad de seres vivos de todas las formas, tamaños y colores; provenientes de ambientes tan diversos como desiertos, el fondo de los océanos y las selvas tropicales, estamos unidos por al menos dos cosas. La primera, como lo sugirió un inglés aficionado a criar palomas, se trata de un ancestro en común. La segunda es una influencia tan fuerte que determina nuestra supervivencia y que ha sido la responsable de que exista la biodiversidad que hasta hoy todavía podemos disfrutar. Se trata de la presión de adaptarse al medio para satisfacer nuestras necesidades de supervivencia. Esta necesidad es tan importante que ha hecho que algunas especies, con el paso de los siglos, desarrollen venenos, colores de camuflaje, garras y colmillos, cada rasgo tan distinto como especializado para sobrevivir. Curiosamente, no importa que animal seas y que “armas” hayas desarrollado, es altamente probable que las ocupes para obtener o cazar tu alimento, para conseguir pareja y cuidar a tus crías o para evitar o combatir a los depredadores que amenazan con alimentarse de ti. Si abusamos un poco con la generalización, todos los animales se dedican principalmente a cuidarse, aparearse, pelear contra la competencia y huir. Viéndolo desde este punto de vista no resulta tan extraño que entonces, a pesar de las enormes diferencias de unos con otros, tengamos un “software” muy parecido para responder a las exigencias del medio. Ese “software” trata nada menos que de las emociones.

Fue el naturalista Charles Darwin, precisamente el inglés que gustaba de criar palomas, el que estudió detenidamente la conducta de distintas especies y llegó a la conclusión de que todas ellas, incluido el ser humano, poseían seis emociones básicas: sorpresa, miedo, llanto, ira, tristeza y alegría. Para Darwin, la esencia de estas emociones es casi la misma en todos

los seres vivos, lo que varía enormemente es el grado de complejidad en que las expresamos. Por ejemplo, nuestras mascotas, como perros y gatos, agachan las orejas y la cola cuando están tristes y dejan de comer para expresar este abatimiento emocional mientras que, los seres humanos, al menos algunos como Manuel Acuña, pueden expresar la misma tristeza de maneras tan complejas al escribir poesías como el *“nocturno a Rosario”*. Este es el inicio de una idea que ha ido permeando poco a poco, la idea de que los animales experimentan emociones equivalentes a las de nosotros, bueno al menos algunos animales. Nos es más fácil aceptar que nuestros gatos y perros tienen emociones, a pensar que un lagarto o un pez también las experimentan. Esto, sin temor a equivocarnos, está relacionado con las pocas expresiones faciales que tienen los lagartos o los peces. Pero regresaremos a los peces más tarde.

Emociones y conducta, el caso de la ansiedad

La idea de Darwin se volvió la base para el estudio de la conducta de los animales. Si los animales no son “simples maquinas” como lo propuso Descartes y sus conductas son originadas por procesos emocionales semejantes a los que están presentes en los seres humanos, entonces es posible que estudiando las conductas particulares de los animales se puedan entender estos procesos emocionales. O como solía decir Konrad Lorenz, uno puede obtener respuestas acerca del estado en que se encuentra un animal siempre y cuando se le pregunte en su propio idioma. Esto no quiere decir que tiene uno que saber aullar como un lobo o trinar como un ave. A lo que Lorenz se refería es que poniendo a los animales en situaciones específicas y observando su conducta uno puede descubrir cuales son los mecanismos que regulan esa conducta. Fueron precisamente los estudios de Lorenz junto con los de otros científicos importantes como Niko Tinbergen y Karl von Frish los que plantearon los cimientos de una nueva disciplina científica: la etología.

102

La ansiedad es una emoción común en los seres humanos que resulta beneficiosa para hacer frente a situaciones de reto; sin embargo, existen factores como los estresores demasiado intensos o el uso de drogas de abuso que alteran la ansiedad “normal” convirtiéndola en un trastorno que deteriora la calidad de vida del individuo (Puga-Olguín et al., 2020). Una forma útil de estudiar cómo estos mecanismos normales se vuelven perjudiciales es mediante la investigación animal. Desde esta perspectiva se han aprovechado las respuestas defensivas de los roedores para estudiar las bases biológicas de las emociones y sus trastornos como la ansie-

dad (Boer Koolhaas, 2003; Bourin, 2015). Se sabe que algunos roedores bloquean las entradas de sus túneles cuando detectan el olor de un posible depredador como una serpiente que puede entrar a los túneles. Así, empiezan a empujar la tierra suelta para bloquear el túnel. Algo muy semejante sucede con los roedores de laboratorio, podemos colocarlos en una caja llena de viruta de madera fina, de la que sobresale un electrodo que emite una minúscula descarga eléctrica que incomoda a la rata, sin lastimarla. Es sorprendente la primera vez que observas como la rata, seguramente molesta, sorprendida, quizá asustada, empieza a enterrar el electrodo, en afán de esconderlo o de poner una barrera entre esa molesta cosa y ella. Interesante, pero ¿quizá es una coincidencia? no, la siguiente rata expuesta en las mismas condiciones hace lo mismo, y la siguiente hace también lo mismo. Sin que nadie se los haya tenido que explicar, las ratas despliegan exactamente el mismo tipo de respuesta ante el mismo tipo de estímulo. Aquí viene lo más interesante, el ser humano descubrió hace años sustancias químicas que modulan las conductas, aunque no sabía muy bien al principio como funcionaban. Algunas de estas sustancias se conocen como fármacos ansiolíticos, como las benzodiacepinas, la más conocida es el diazepam. Resulta que, si antes de meter a la rata en la caja con el electrodo uno le administra una dosis de diazepam, entonces, aunque la rata toque el electrodo, el tiempo que dedicará a enterrarlo será mucho menor (Boer y Koolhaas, 2003), lo que se conoce como un efecto tipo ansiolítico en este modelo experimental. Es decir, el estímulo que genera el cambio de conducta sigue presente pero, un fármaco utilizado eficazmente en seres humanos para tratar la ansiedad, hace que la conducta de enterramiento desaparezca a pesar de la presencia del estímulo. Más adelante veremos detenidamente algunos de esos modelos para entender su utilidad en el estudio de las bases biológicas de la ansiedad y de sus tratamientos.

Pero ¿qué es la ansiedad?

La ansiedad es una respuesta emocional de los animales, incluido el ser humano, que se expresa ante situaciones potencialmente peligrosas o que pueden poner en conflicto al individuo. Esta respuesta se acompaña de reacciones vegetativas, por ejemplo, sensación de ahogo, sudoración excesiva, incremento de la frecuencia cardíaca, piloerección, micción frecuente y, en algunos casos, defecación. Además, también hay cambios conductuales, que implican la hiperactividad motora y la evitación de esos estímulos. Todas estas respuestas aparecen mientras el estímulo estresante se encuentra presente, pero una vez que se elimina, todas estas manifestaciones desapa-

recen. Seguro tú has experimentado estas manifestaciones de ansiedad en repetidas ocasiones, cuando vas a presentar un examen, a conocer a una persona, o cuando vas a una entrevista de trabajo. Esta ansiedad se considera normal y prepara al individuo para responder adecuadamente a las demandas del medio y se le conoce como umbral emocional. Pero, si el individuo carece de las estrategias para afrontar esas situaciones de apremio o el estímulo es constante y de alta intensidad, se sobrepasa ese umbral emocional y, entonces, se convierte en una ansiedad patológica; en la cual todas las respuestas antes mencionadas ocurren, aun en ausencia del estímulo aversivo. Esto interfiere en las actividades cotidianas del individuo, deteriorando su calidad de vida (Puga-Olgún et al., 2020), es aquí donde se ha gestado un trastorno de ansiedad.

Pero ¿cómo se estudia la ansiedad?

Como se mencionó anteriormente, el ser humano comparte una serie de emociones con los animales y, esas emociones van acompañadas de respuestas fisiológicas que impactan en la conducta. De esta manera, aprovechando esas respuestas conductuales comunes con los animales es como se han estudiado las respuestas emocionales y conductuales ante diversos estímulos que pueden ser potencialmente peligrosos. Particularmente, dentro de las respuestas conductuales asociadas con la ansiedad, están aquellas relacionadas con la exposición a estímulos estresantes, los cuales en el ser humano son desencadenantes de ansiedad. Así, tratando de reproducir situaciones que en el ser humano pueden ser ansiogénicas, es decir, que generan ansiedad, es como se han desarrollado modelos en animales de laboratorio exponiéndolos a situaciones de conflicto, donde la conducta se ve modificada por el contexto, pero también por fármacos o sustancias endógenas como las hormonas; identificando así parte de la base neurobiológica de la ansiedad y contribuyendo al desarrollo terapéutico de este desorden emocional. A continuación, mencionaremos algunos de los principales modelos para el estudio de la ansiedad en ratas y ratones.

Modelos murinos para el estudio de la ansiedad

Modelo de enterramiento defensivo. Este modelo tiene dos variantes que desencadenan la ansiedad de los roedores. Una de ellas incluye un pequeño electrodo que emite una descarga eléctrica y la otra tiene varias esferas de vidrio colocadas sobre el piso de una caja; en ambos casos el piso está cubierto de una capa de viruta fina. Tanto el electrodo como las esferas fun-

cionan como estresores para el animal. Un animal “estresado” dedica más tiempo a enterrar el electrodo o las pequeñas esferas, mientras que animales tratados con fármacos ansiolíticos disminuyen la conducta de enterramiento (Tabla 1). Otro aspecto interesante de este modelo es que permite apreciar diferencias en la respuesta a fármacos ansiolíticos entre hembras y machos en la conducta de enterramiento (Olvera-Hernández y Fernández-Guasti, 2011). Las ratas hembra tratadas con fármacos que modifican los sistemas de cerebrales de neurotransmisión GABAérgico (p.ej., diazepam) y serotoninérgico (p.ej., buspirona, indorenato o ipsapirona), reducen el tiempo de enterramiento de forma más efectiva que los machos (Fernández-Guasti y Picazo, 1990). Estas diferencias parecen estar relacionadas con las diferentes concentraciones de hormonas esteroides entre hembras y machos. En las hembras se detectan concentraciones altas de hormonas ováricas como la progesterona en etapas particulares de su ciclo estral, esto se relaciona con una menor “ansiedad”, es decir, las ratas emplean menos tiempo en enterrar el electrodo que representa un estímulo aversivo. Esta menor ansiedad se ha reportado también en ratas que se encuentran en los últimos días de gestación, durante la lactancia, o cuando se administran dosis específicas de progesterona o alopregnanolona (Picazo y Fernandez-Guasti, 1995; Fernández-Guasti y López-Rubalcava, 1998), dos hormonas que se producen en los ovarios e incluso también en el cerebro. Estas respuestas conductuales de menor ansiedad, son semejantes a aquellas que ocurren en el ser humano, donde las mujeres responden más eficazmente a las terapias ansiolíticas, en comparación con los hombres. Además, las mujeres que se encuentran en la fase ovulatoria de su ciclo menstrual o en el tercer trimestre de gestación, reportan menor irritabilidad, inquietud y ansiedad; esto se ha relacionado con el aumento significativo de las concentraciones plasmáticas de progesterona o estradiol que ocurren en esos estadios fisiológicos.

Utilizando el modelo de enterramiento defensivo ha sido posible identificar sustancias que actúan a nivel de los sistemas de neurotransmisión GABAérgico y serotoninérgico y que producen una actividad ansiolítica, es decir, reducen la ansiedad. Estos hallazgos han contribuido al desarrollo de terapias farmacológicas para el tratamiento de los trastornos de ansiedad en el ser humano (Langer et al., 2020). Incluso, mediante el análisis conductual en este modelo, se ha identificado el efecto ansiolítico producido por extractos de plantas y sus componentes químicos que han sido utilizados por siglos en la medicina tradicional para tratar la irritabilidad, la ansiedad o los “nervios” (Estrada-Reyes, et al., 2013; Moniruzzaman et

al., 2018; Borgonetti et al., 2020). Un caso particular ha sido el estudio de la planta *Montanoa tomentosa*, usada en las culturas mesoamericanas precolombinas para el tratamiento de la ansiedad (Sollozo-Dupont et al., 2015).

Laberinto de brazos elevados. En este aparato se aprovecha la aversión natural de las ratas y ratones a los espacios abiertos y altos, los cuales pueden generar estados de ansiedad, tal como ocurre en el ser humano (p.ej., agorafobia o acrofobia, miedo a los espacios abiertos o a las alturas, respectivamente). Seguramente has notado que las ratas y ratones siempre tienden a correr por las esquinas y a esconderse en los rincones. Es poco usual ver a un ratón o a una rata caminar en medio de una habitación o de un patio, eso aumentaría su miedo y ansiedad. En este laberinto las ratas o ratones estresados se esconden más tiempo dentro de los brazos cerrados del laberinto, puesto que los brazos abiertos en condiciones cotidianas son percibidos como peligro y son evitados por el animal. Pero, cuando a esos animales se les administran sustancias con actividad ansiolítica (p.ej., como el diazepam o la fluoxetina) salen más tiempo a explorar los brazos abiertos (Tabla 1), es decir, a pesar de que el estímulo aversivo está presente, los animales se encuentran “tranquilos” y salen a encarar ese estresor. Este cambio conductual se interpreta como un menor grado de ansiedad o como un efecto ansiolítico (Bourin, 2015; Pinheiro et al., 2007).

De manera natural, cuando hay una baja concentración de hormonas ováricas asociadas a las distintas fases del ciclo estral o cuando se les han removido los ovarios a las ratas hembra, ellas pasan más tiempo en los brazos cerrados del laberinto, es decir, hay mayor ansiedad (Puga-Olguín et al., 2019); pero esta ansiedad disminuye cuando aumentan las concentraciones de hormonas ováricas en estadios fisiológicos como la ovulación o hacia el final de la gestación. Estos mismos efectos se observan cuando se administran sustancias de origen vegetal con actividad ansiolítica como son algunos flavonoides o fitoestrógenos derivados de la soya, cuyos efectos son muy parecidos a los producidos por fármacos que son clínicamente eficaces para tratar la ansiedad en el ser humano como el diazepam o la fluoxetina (Rogóz y Skuza, 2011; Rodríguez-Landa et al., 2019; 2021).

Caja de luz/oscuridad. Este aparato consta de dos compartimentos (o pueden ser hasta tres) donde uno es de color blanco y se encuentra iluminado artificialmente, mientras que el otro u otros compartimentos son de color negro y se mantienen oscuros. Un animal ansioso se resguardará más tiempo en el compartimento oscuro, el cual se asemeja más a su madriguera en condiciones naturales, y explorará muy poco tiempo el compartimento iluminado que le resulta aversivo y estresante. Mientras que,

los animales no estresados o tratados con fármacos ansiolíticos explorarán más tiempo el compartimento iluminado (Bourin y Hascoët, 2003). La conducta desplegada por las ratas o ratones en esta prueba también es sensible a los cambios en las concentraciones de hormonas ováricas. Cuando hay concentraciones hormonales elevadas las ratas aumentan la exploración del compartimento iluminado, es decir, hay una reducción de la ansiedad ante ese estímulo aversivo; pero un efecto contrario se observa cuando las concentraciones hormonales se reducen significativamente (pasan más tiempo en el compartimento oscuro), experimentando mayor ansiedad; esto ocurre particularmente en la fase de diestro del ciclo estral y en el postparto (Zuluaga et al., 2005). Las ratas a las cuales se les extirparon los ovarios, en las que hay una disminución de hormonas ováricas, permanecen más tiempo en el compartimento oscuro (Rodríguez-Landa et al., 2009); pero este efecto es revertido cuando se administran hormonas como el estradiol y fitoestrógenos derivados de la soya (Rodríguez-Landa et al., 2017).

Los datos anteriores son interesantes, dado que esos mismos efectos sobre la ansiedad también ocurren en la mujer. Cuando aumenta la concentración de hormonas ováricas durante la fase ovulatoria y en el tercer trimestre de gestación reportan estados placenteros y una menor ansiedad; pero cuando disminuyen esas hormonas en el periodo premenstrual, en el post parto y el climaterio, ocurren con mayor frecuencia estados de irritabilidad, inestabilidad emocional, ansiedad y depresión, incluso pueden ocurrir desórdenes emocionales como el síndrome disfórico premenstrual y la depresión postparto (Pinna, 2020).

¿Los peces se emocionan?

Regresemos a los peces. A pesar de que la acuariofilia se ha vuelto cada vez más popular, los perros y gatos siguen siendo las mascotas más populares. Quizá porque nos es más fácil interactuar con ellos e interpretar sus emociones y, tras siglos de coevolución, es muy probable que ellos también puedan interpretar mejor nuestras intenciones y estados de ánimo. En cambio, los peces nos parecen más fríos y aburridos. Esto concuerda bastante con la "*scala naturae*" (escala natural) propuesta por Aristóteles en la cual se ordenaba a los animales en los peldaños más altos de acuerdo a las capacidades que les eran atribuidas, como el valiente y majestuoso león, el noble caballo, la soberbia águila y en los peldaños más bajos a los animales menos afortunados como cerdos, zorrillos y peces. Hasta hace poco los peces eran considerados animales incapaces de sentir y expresar sus emociones, tal y como

los ven los niños en comparación con los perros. Quizá esto se deba a que no cuentan con músculos faciales en los que podamos interpretar sus emociones o no recurren a movimientos de la cola como los perros, quizá también se deba al hecho de ser considerados animales de “sangre fría” en el sentido más amplio del término, aludiendo no sólo a la temperatura si no a la carencia de manifestaciones conductuales asociadas a las emociones. Quizá un ejemplo claro de como visualizamos a los peces esté en un fragmento de “La vida es sueño” de Juan Calderón de la Barca:

*“Nace el pez, que no respira,
aborto de ovas y lamas,
y apenas, bajel de escamas,
sobre las ondas se mira,
cuando a todas partes gira,
midiendo la inmensidad
de tanta capacidad
como le da el centro frío;
¿y yo, con más albedrío,
tengo menos libertad?”*

Estudiando el comportamiento de los peces

Fueron los mismos Lorenz y Tinbergen que mencionamos anteriormente los que estudiaron la conducta de los peces y observaron que en muchos casos ésta se regulaba por estímulos específicos (Tinbergen y van Lersel, 1948). Es decir, los peces eran capaces de discriminar señales muy particulares del medio para “decidir” si emitían o no un comportamiento específico. Así, estudiaron los mecanismos que disparan las conductas de apareamiento, de agresión y territorialidad de diferentes especies de peces como el combatiente siamés (*Betta splendens*) y el pez espinosillo (*Gasterosteus aculeatus*).

108

Por otro lado, el pez cebra (*Danio rerio*) empezó a estudiarse debido a que su tejido cardíaco es capaz de regenerarse después de un daño, así que a los científicos les interesó estudiarlo con la esperanza de desarrollar algún tratamiento para las enfermedades cardíacas. Esto dio paso a que se secuenciara su genoma y a que se les utilizara cada vez más en la investigación biomédica. A la par, los estudios de la conducta en peces se volvieron útiles en otros aspectos. Por ejemplo, los contaminantes en los cuerpos de agua pueden alterar los niveles de hormonas de diferentes especies de peces, como el pez beta y la carpa, por lo tanto, alteran también sus conduc-

tas de apareamiento y agresividad. Así, la conducta se volvió útil para evaluar estados de salud y de contaminación ambiental. Fue entonces cuando, dando un paso más, surgieron trabajos que adaptaron los modelos de ansiedad que se utilizan en los roedores para poder ser usados en los peces, tomando como parámetros de medición las diferentes conductas sugerentes de un estado de ansiedad (Egan et al., 2009). Veamos a continuación uno de los modelos de ansiedad más utilizado en el pez cebra.

Modelo de estanque novedoso en pez cebra. El estanque novedoso es el equivalente a la prueba de campo abierto en roedores (Tabla 1). El fundamento de la prueba es muy sencillo, el pez es introducido en un estanque en forma trapezoidal con agua a temperatura controlada. Por lo que, ante este brusco cambio de ambiente emite una rápida respuesta defensiva que es la de permanecer en el fondo del estanque inmóvil o nadar pegado al suelo, lo cual se interpreta como un estado de alerta, miedo o de ansiedad (Gerlai et al., 2009), como ha sido interpretado en los roedores. Es después de cierto tiempo que el pez empieza a aventurarse a subir un poco más y acercarse a la superficie del agua. Algunos investigadores han hipotetizado que esta conducta es útil para evitar ser blanco de los depredadores, tales como el pez hoja (*Nandus nandus*) o incluso algunas aves, ya que al estar en el fondo es más difícil de ver, especialmente por algún depredador que lo esté cazando desde la superficie (Cianca et al., 2013). Entonces, en el pez cebra también se aprovecha esta conducta defensiva para conocer su estado emocional, que se traduce experimentalmente en cierto grado de ansiedad.

Bajo las condiciones de laboratorio se mide el tiempo que el pez permanece nadando cerca del fondo y el tiempo que tarda (latencia) en subir por primera vez hasta la mitad superior del estanque, cerca de la superficie. De manera semejante a lo que sucede en roedores, los peces que tienen un estado más parecido a la ansiedad permanecen más tiempo nadando en la mitad inferior del estanque y tardan más tiempo en explorar la parte superior, como si estuvieran más preocupados por la posible presencia de un depredador (Figura 1). Cuando los peces son previamente sumergidos en agua que contenga medicamentos que son efectivos para disminuir la ansiedad en seres humanos, los absorben y, después, cuando son colocados en el estanque novedoso se observa su cambio de comportamiento. En este caso, los tiempos de permanencia en el fondo del estanque se reducen y los peces empiezan a nadar más rápidamente hacia la superficie, lo que se interpreta como un efecto de tipo ansiolítico en el modelo de estanque novedoso.

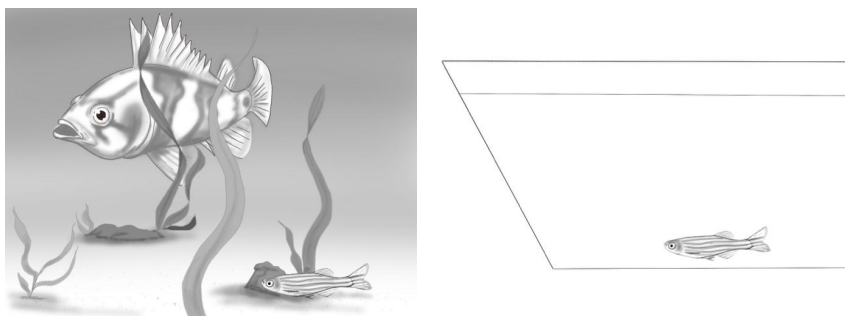


Figura 1. En su habitat (izquierda, parte inferior) el pez cebra debe evadir a depredadores como el pez hoja (*Nandus nandus*). Se ha propuesto que una manera de hacerlo es quedándose quieto en el fondo o inclusive revolviendo el sedimento mediante movimientos erráticos contra el suelo para ocultarse. Este tipo de conductas defensivas han sido aprovechadas en diferentes modelos como el estanque novedoso (derecha) para ser utilizados como indicadores conductuales de ansiedad. Estos indicadores se utilizan para detectar estados que han sido interpretados como “parecidos” a ciertas características del trastorno de ansiedad y los mismos pueden ser revertidos mediante fármacos ansiolíticos con eficacia comprobada en seres humanos, tal es el caso del diazepam y la fluoxetina (Original del Autor, Jonathan Cueto, Escobedo, 2021).

Por otro lado, las sustancias que aumentan la ansiedad en los seres humanos, como la cafeína, también aumentan los indicadores conductuales de estados tipo ansiedad en los peces, haciendo que de nuevo pasen más tiempo en el fondo del estanque.

Existen adaptaciones de otros modelos utilizados en roedores, por ejemplo, está la versión acuática de la caja de luz/oscuridad. Por otro lado, en los peces también se ha ensayado la exposición a estímulos relacionados con depredadores como la exposición a imágenes de depredadores o a sustancias de alarma que se liberan de las heridas de otros peces del grupo atacados por depredadores; lo que señala la presencia de peligro (Tabla 1), que potencialmente aumentan la ansiedad (Maximino et al., 2007; Speedie y Gerlai, 2008).

En general, estas adaptaciones de los modelos en roedores a los peces, permiten el uso de varios especímenes en espacios pequeños, la obtención de muchos peces en una sola puesta y con un rápido desarrollo, aunado a toda la información científica con la que ya se cuenta de esta especie. De esta manera, los modelos de ansiedad en roedores y en el pez cebra se han vuelto una herramienta indispensable en la investigación de sustancias que modifican diferentes sistemas de neurotransmisión a nivel cerebral, como el GABAérgico y el serotoninérgico (Maximino y van der Staay, 2019), y que permitan, a largo plazo, el desarrollo de nuevos fármacos para tratar a

la gran cantidad de personas que año con año sufren de algún trastorno de ansiedad, deteriorando significativamente su calidad de vida.

Tabla 1. Modelos de ansiedad en roedores y el pez cebra

Modelo en roedor	Conducta evaluada	Referencia*
Enterramiento defensivo	Evitación activa del estímulo aversivo ("enterramiento" del electrodo). Entre más tiempo emplea en enterrar el electrodo, se considera más ansioso el roedor.	Pinel y Treit, 1978
Laberinto de brazos elevados	Evitación del estímulo aversivo (brazos abiertos del laberinto). Cuando el roedor reduce el tiempo empleado en la exploración el brazo abierto, se considera más ansioso.	Pellow et al., 1985
Caja de luz oscuridad	Evitación del estímulo aversivo (compartimento iluminado). Entre menos explore el compartimento iluminado más ansioso se considera al roedor.	Crawley y Goodwin, 1980
Campo abierto	Evitación de espacios abiertos (centro del campo abierto). Los roedores que exploran poco tiempo el centro de la caja se consideran más ansiosos.	Simon et al, 1994
Modelo en pez cebra		
Estanque novedoso	Evitación del estímulo aversivo (superficie del agua). Un pez considerado en un estado tipo ansiedad tarda más tiempo en explorar la superficie del agua y es poco el tiempo que permanece en ese lugar.	Egan et al., 2009
Estanque de luz/oscuridad	Evitación del estímulo aversivo (compartimento iluminado). Un pez que explora poco tiempo el compartimento iluminado, se considera más ansioso que aquél que pasa mas tiempo explorando dicho compartimento.	Maximino et al., 2007
Imágenes de depredador	Evitación del estímulo aversivo (imágenes de potenciales depredadores). Un pez que despliega conductas como el nado en el fondo, el congelamiento o el nado errático, es considerado más ansioso, que uno que no despliega significativamente estas conductas.	Gerlai et al., 2009 Cianca et al., 2013
Exposición a sustancias de alarma	Evitación del estímulo aversivo (sustancias de alarma obtenida de las heridas cutáneas de peces muertos). Estas sustancias aumentan conductas como el nado en el fondo del estanque, el congelamiento o el nado errático, lo cual sugiere un estado tipo ansiedad del pez.	Speedie y Gerlai, 2008

Todas las conductas señaladas suelen ser aumentadas con la aplicación de un estímulo estresante y disminuidas mediante la administración de fármacos ansiolíticos que son eficaces en el ser humano. * Las referencias indican los primeros trabajos, en algunos casos la propuesta original; sin embargo, estos modelos son ampliamente utilizados en la actualidad en la investigación científica.

Conclusiones

El análisis del comportamiento de los animales, incluido el ser humano, permite identificar bajo qué contextos pueden o no expresarse determinadas conductas. En este caso, discutimos brevemente las conductas asociadas con estados sugerentes de ansiedad, las cuales son inherentes a todos los animales y pueden ser equiparables a aquellas que ocurren en el ser humano. El estudio de esas conductas ha permitido desarrollar modelos en animales de experimentación, para comprender y estudiar las bases neurobiológicas y farmacológicas de la ansiedad, la participación de las hormonas sexuales en el desarrollo de la ansiedad, y también sus potenciales efectos terapéuticos, entre muchas otras cosas (Himanshu et al., 2020). Es así, como el estudio de las respuestas conductuales ante estímulos potencialmente estresantes, peligrosos o de conflicto, que son comunes al ser humano y otros animales, se convierten en herramientas de investigación para entender la etiología de la ansiedad, para entonces, a través de diferentes manipulaciones ambientales o farmacológicas tratar de revertir esas alteraciones y desarrollar tratamientos para los trastornos de ansiedad. No sería sorprendente que, si investigas los orígenes de los tratamientos ansiolíticos actuales, encuentres que en alguna de las fases de su desarrollo farmacéutico fueron evaluados en uno de los modelos aquí descritos.

REFERENCIAS

- Borgonetti, V., Les, F., López, V., & Galeotti, N. (2020). Attenuation of anxiety-like behavior by *Helichrysum stoechas* (L.) moench methanolic extract through up-regulation of ERK signaling pathways in noradrenergic neurons. *Pharmaceuticals* (Basel, Switzerland), 13(12), 472. DOI: 10.3390/ph13120472
- Bourin M. (2015). Animal models for screening anxiolytic-like drugs: a perspective. *Dialogues in clinical neuroscience*, 17(3), 295–303. DOI: 10.31887/DCNS.2015.17.3/mbourin
- Bourin, M., & Hascoët, M. (2003). The mouse light/dark box test. *European journal of pharmacology*, 463(1-3), 55–65. DOI: 10.1016/S0014-2999(03)01274-3
- Cianca, V., Bartolini, T., Porfiri, M., & Macri, S. (2013). A robotics-based behavioral paradigm to measure anxiety-related responses in zebrafish. *PLoS one*, 8(7), e69661. DOI: 10.1371/journal.pone.0069661
- Crawley, J., & Goodwin, F. K. (1980). Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 13(2), 167–170. DOI: 10.1016/0091-3057(80)90067-2
- De Boer, S. F., & Koolhaas, J. M. (2003). Defensive burying in rodents: ethology, neurobiology and psychopharmacology. *European journal of pharmacology*, 463(1-3), 145–161. DOI: 10.1016/S0014-2999(03)01278-0
- Egan, R. J., Bergner, C. L., Hart, P. C., Cachat, J. M., Canavello, P. R., Elegante, M. F., Elkhayat, S. I., Bartels, B. K., Tien, A. K., Tien, D. H., Mohnot, S., Beeson, E., Glasgow, E., Amri, H., Zukowska, Z., & Kalueff, A. V. (2009). Understanding behavioral and physiological phenotypes of stress and anxiety in zebrafish. *Behavioural brain research*, 205(1), 38–44. DOI: 10.1016/j.bbr.2009.06.022
- Estrada-Reyes, R., Carro-Juárez, M., & Martínez-Mota, L. (2013). Pro-sexual effects of *Turnera diffusa* Wild (Turneraceae) in male rats involves the nitric oxide pathway. *Journal of ethnopharmacology*, 146(1), 164–172. DOI: 10.1016/j.jep.2012.12.025
- Fernández-Guasti, A., & López-Rubalcava, C. (1998). Modification of the anxiolytic action of 5-HT_{1A} compounds by GABA-benzodiazepine agents in rats. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 60(1), 27–32. DOI: 10.1016/S0091-3057(97)00482-6
- 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, and behavior*, 37(1), 77–81. DOI: 10.1016/0091-3057(90)90044-i
- Gerlai, R., Fernandes, Y., & Pereira, T. (2009). Zebrafish (*Danio rerio*) responds to the animated image of a predator: towards the development of an automated aversive task. *Behavioural brain research*, 201(2), 318–324. DOI: 10.1016/j.bbr.2009.03.003
- Himanshu, Dharmila, Sarkar, D., & Nutan (2020). A review of behavioral tests to evaluate different types of anxiety and anti-anxiety effects. *Clinical psychopharmacology and neuroscience: the official scientific journal of the Korean College of Neuropsychopharmacology*, 18(3), 341–351. DOI: 10.9758/cpn.2020.18.3.341
- Langer, E., Einat, H., & Stukalin, Y. (2020). Similarities and dissimilarities in the effects of benzodiazepines and specific serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) in the defensive marble burying test: A systematic review and meta-analysis. *European neuropsychopharmacology: the journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 36, 38–49. DOI: 10.1016/j.euroneuro.2020.04.007

- Maximino, C., de Brito, T. M., de Moraes, F. D., de Oliveira, F. V. C., Taccolini, I. B., Pereira, P. M., Colmanetti, R., Lozano, R., Gazolla, R. A., Tenório, R., de Lacerda, R. I. T., Rodrigues, S. T. K., Lameirão, S. V. d. O. C., Pontes, A. A. A., Romão, C. F., Prado, V. M., & Gouveia, A., Jr. (2007). A comparative analysis of the preference for dark environments in five teleosts. *International journal of comparative psychology*, 20(4), 351-367.
- Maximino, C., & van der Staay, F.J. (2019). Behavioral models in psychopathology: epistemic and semantic considerations. *Behavioral brain function*, 15(1), 1-11. DOI: 10.1186/s12993-019-0152-4
- Moniruzzaman, M., Mannan, M. A., Hossen Khan, M. F., Abir, A. B., & Afroze, M. (2018). The leaves of *Crataeva nurvala* Buch-Ham. modulate locomotor and anxiety behaviors possibly through GABAergic system. *BMC complementary and alternative medicine*, 18(1), 283. DOI: 10.1186/s12906-018-2338-y
- Olvera-Hernández, S., & Fernández-Guasti, A. (2011). Sex differences in the burying behavior test in middle-aged rats: effects of diazepam. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 99(4), 532-539. DOI: 10.1016/j.pbb.2011.05.030
- Pellow, S., Chopin, P., File, S. E., & Briley, M. (1985). Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of neuroscience methods*, 14(3), 149-167. DOI: 10.1016/0165-0270(85)90031-7
- Picazo, O., & Fernández-Guasti, A. (1995). Anti-anxiety effects of progesterone and some of its reduced metabolites: an evaluation using the burying behavior test. *Brain research*, 680(1-2), 135-141. DOI: 10.1016/0006-8993(95)00254-n
- Pinel, J.P. & Treit, D. (1978). Burying as a defensive response in rats. *Journal of comparative and physiological psychology*, 92, 708-712. DOI: 10.1037/h0077494
- Pinheiro, S. H., Zangrossi, H., Jr, Del-Ben, C. M., & Graeff, F. G. (2007). Elevated mazes as animal models of anxiety: effects of serotonergic agents. *Anais da academia brasileira de ciencias*, 79(1), 71-85. DOI: 10.1590/s0001-37652007000100010
- Pinna G. (2020). Allopregnanolone, the Neuromodulator Turned Therapeutic Agent: Thank You, Next?. *Frontiers in endocrinology*, 11, 236. DOI: 10.3389/fendo.2020.00236
- Puga-Olguín, A., Rodríguez-Landa, J. F., Rovirosa-Hernández, M. J., Germán-Ponciano, L. J., Caba, M., Meza, E., Guillén-Ruiz, G., & Olmos-Vázquez, O. J. (2019). Long-term ovariectomy increases anxiety- and despair-like behaviors associated with lower Fos immunoreactivity in the lateral septal nucleus in rats. *Behavioural brain research*, 360, 185-195. DOI: 10.1016/j.bbr.2018.12.017
- Puga-Olguín, A., Rodríguez-Landa, J.F., Morales-Arias, A., Soria-Fregozo, C., Barrientos-Bonilla, A.A. (2020). Trastornos de ansiedad. En: Herrera-Meza, G., Molina-Jiménez, T., Tamariz-Rodríguez, A., Puga-Olguín, A. (Eds.) *Trastornos neurofuncionales; perspectivas neurobiológicas y de atención*. Xalapa: Universidad de Xalapa, pp. 139-169.
- Rodríguez-Landa, J. F., Cueto-Escobedo, J., Puga-Olguín, A., Rivadeneyra-Domínguez, E., Bernal-Morales, B., Herrera-Huerta, E. V., & Santos-Torres, A. (2017). The phytoestrogen genistein produces similar effects as 17 α -estradiol on anxiety-like behavior in rats at 12 weeks after ovariectomy. *BioMed research international*, 2017, 9073816. DOI: 10.1155/2017/9073816
- Rodríguez-Landa, J. F., Guillén-Ruiz, G., Hernández-López, F., Cueto-Escobedo, J., Rivadeneyra-Domínguez, E., Bernal-Morales, B., & Herrera-Huerta, E. V. (2021). Chrysin reduces anxiety-like behavior through actions on GABA_A receptors during metestrus-diestrus in the rat. *Behavioural brain research*, 397, 112952. DOI: 10.1016/j.bbr.2020.112952

- Rodríguez-Landa, J. F., Hernández-Figueroa, J. D., Hernández-Calderón, B., & Saavedra, M. (2009). Anxiolytic-like effect of phytoestrogen genistein in rats with long-term absence of ovarian hormones in the black and white model. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 33(2), 367–372. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2008.12.024
- Rodríguez-Landa, J. F., Hernández-López, F., Cueto-Escobedo, J., Herrera-Huerta, E. V., Rivadeneyra-Domínguez, E., Bernal-Morales, B., & Romero-Avendaño, E. (2019). Chrysin (5,7-dihydroxyflavone) exerts anxiolytic-like effects through GABAA receptors in a surgical menopause model in rats. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 109, 2387–2395. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.11.111
- Rogó, Z., & Skuza, G. (2011). Anxiolytic-like effects of olanzapine, risperidone and fluoxetine in the elevated plus-maze test in rats. *Pharmacological reports: PR*, 63(6), 1547–1552. DOI: 10.1016/S1734-1140(11)70719-8
- Simon, P., Dupuis, R., & Costentin, J. (1994). Thigmotaxis as an index of anxiety in mice. Influence of dopaminergic transmissions. *Behavioral brain research*, 61(1), 59–64. DOI: 10.1016/0166-4328(94)90008-6.
- Sollozo-Dupont, I., Estrada-Camarena, E., Carro-Juárez, M., & López-Rubalcava, C. (2015). GABAA/benzodiazepine receptor complex mediates the anxiolytic-like effect of *Montanoa tomentosa*. *Journal of ethnopharmacology*, 162, 278–286. DOI: 10.1016/j.jep.2014.12.070
- Speedie, N., & Gerlai, R. (2008). Alarm substance induced behavioral responses in zebrafish (*Danio rerio*). *Behavioural brain research*, 188(1), 168–177. DOI: 10.1016/j.bbr.2007.10.031
- Tinbergen, N., & van Lersel, J.J.A. (1948). Displacement reactions in the three-spined stickleback. *Behaviour*, 1(1): 56–63.
- Zuluaga, M. J., Agrati, D., Pereira, M., Uriarte, N., Fernández-Guasti, A., & Ferreira, A. (2005). Experimental anxiety in the black and white model in cycling, pregnant and lactating rats. *Physiology & behavior*, 84(2), 279–286. DOI: 10.1016/j.physbeh.2004.12.004

Social influences in animal models of drug addiction: does age matter?

Vazquez-Sanroman Dolores B.

Introduction

Drug dependence in adolescence is a pressing public health issue and social problem (Mooney-Leber & Gould, 2018). Moreover, Substance use during adolescence has been associated with alterations in brain structure, function, and neurocognition (Zucker et al., 2018). Social influences play an important role in addiction, not only for their capacity as risk factors but also for their role as preventative factors. The social influences as a risk factor can be catapult in the presence of stress and peer environment that encourage substance use; conversely, strong attachments between family members and peer environment that do not experience drug use may protect against drug-taking and, ultimately, drug dependence. For high-order mammals such as humans, monkeys, and rodents, positive social interactions are rewarding such that can overcome drug reward and (Tomek & Olive, 2018) protect from drug use. Social influences have been an overlooked potential contributor to drug dependence, particularly at an early age when the brain is undergoing rapid and substantial changes. Evidence suggests the possibility of common underlying neurological mechanisms between social interactions and abuse drugs as activating similar neural circuits involved in motivated responses (Ajonijebu, Abboussi, Russell, Mabandla, & Daniels, 2017). For instance, recent studies showed the role of environment in drug effects; presence or absence of peers, the sharing of a drug experience, and the familiarity of the peer, which interactions are made, that ultimately can regulate the development of drug-seeking behaviors (Hofford, Bond, Chow, & Bardo, 2020). The reinforcing and rewarding effects of addictive drugs and social influences can be determined using preclinical models (Pelloux, Giorla, Montanari, & Baunez, 2019).

In this chapter, we will focus on changes at the level of brain-behavior in juvenile animal models, providing first an overview of the adolescent brain, second, we will revise literature on social influences in drug effects, with an emphasis on two of the most used models of addiction: drug self-administration and conditioned place preference. Finally, we will summarize behavioral changes in adults and adolescent animal models when social interaction, if made available within the drug context, may facilitate, promote, and interact with the rewarding drug effects, emphasizing induced changes during adolescence.

The adolescence brain development

Adolescence represents a phase for rapid development between childhood and adulthood, including complex social, biological, and psychological adjustments. The interfaces of these multidimensional factors have substantial effects on adolescent development. Included in these alterations are considerable changes in the efficacy and specialization of the adolescent brain, marked by synaptic refinement and myelination (Cavalcante, Barradas, & Martinez, 1991). Synaptic refinement involves decreases in the gray matter by eliminating unnecessary and dysfunctional neural connections (Sowell, Thompson, Leonard, et al., 2004). In the early stages of life, synaptic pruning occurs mainly in the prefrontal and temporal cortex (Giedd, 2004) and mesolimbic structures as the striatum, thalamus, and nucleus accumbens (Sowell, Thompson, Holmes, Jernigan, & Toga, 1999). The adolescent brain also endures improved myelination, which allows the development of functional white matter fiber tracts. As a result, the efficiency of neural conductivity (Pfefferbaum et al., 1994; Sowell, Thompson, & Toga, 2004; Zielinski et al., 2014). Higher cortical areas after sensorimotor regions fully mature (Brandwein et al., 2011), with frontal lobes being the final brain structures to complete development. Evidence suggests that increased myelination allows for more effective communication between frontal-mesolimbic brain areas, facilitating a top-down cognitive control in adolescence (Holland et al., 2007). Adolescence is considered a critical period for all the neuroplasticity events that occurred and because behavioral alterations are easily shaped and affected by social influences; thus, peer group affiliation heavily impacts adolescent behaviors, including drug first use and abuse (Cloninger, Sigvardsson, & Bohman, 1988; Evans, Goff, Upchurch, & Grella, 2020). The neurotransmitters, receptors' variations and the continued transformation in neuronal and glial connections put adolescents at a heightened risk for initiating and continuing drug use. Evi-

dence suggests that vicissitudes in the neuronal connections, wiring in the prefrontal regions and mesolimbic areas contribute to increased risk-taking and novelty/sensation-seeking behaviors (Chambers & Potenza, 2003). Despite that the adolescent brain showed a higher level of plasticity and resilience to drug effects, continued drug use during this critical stage may interrupt both the key processes and the natural course of brain development.

Social and environmental influences in drugs effects

The literature has provided ample evidence on the effects of differential rearing conditions and social influences in the effects of different drugs of abuse; however, the majority of these studies have been a focus on adults animal models either for exploring in what capacity the environment can reverse or protect from drug effects (McKenzie-Quirk & Miczek, 2008; Solinas, Chauvet, Lafay-Chebassier, Jaafari, & Thiriet, 2020; Stairs & Bardo, 2009; Trezza, Campolongo, & Vanderschuren, 2011; Weiss, Hammerslag, & Bardo, 2020). Therefore, in this chapter we will discuss three relevant points. First, social and environmental influences in adult drug seeking and drug taking behaviors; second, whether the absence of peers can determine the course of drug use behaviors, and by last, outline the existent literature about the social interaction on the drug-associated behaviors in adolescent animal models.

¿Are social isolation and harsh environments a pivotal factor for developing an addiction?

Drug addiction is a psychiatric condition that involved the loss of control over drug consumption compulsively and obsessively (Koob & Schulkin, 2019). Evidence suggest that vulnerability to addiction depends of specific factors besides the age of drug initiation, and this may shift from recreational consumption to abusive and addictive use. Moreover, these environmental influences can serve as promoters or prevention strategies in drug use and drug abuse. During the transition from recreational use to addictive use, social influences change with inevitable variations in peer interaction, diet, and environment (Heilig, Epstein, Nader, & Shaham, 2016; Vazquez-Sanroman, Arlington Wilson, & Bardo, 2021). In humans, drug addiction leads to social isolation and exclusion. Therefore, animal models where different environmental conditions and peer interaction are available represents a suitable model for understanding the neurobiological changes behind, the intersection between social interactions and drug addiction. More importantly, it allows determining

whether those social influences can modify the course of drug seeking and drug taking behavior.

Isolation is one of the social factors associated with higher rates of male drug use (Aloise-Young & Kaepfner, 2005). Conversely, cessation of drug use has a better outcome when the recovery user have access to social support from relatives or friends (Pettersen et al., 2019). For instance, several studies showed that environmental enrichment protects against drug self-administration initiation in rats (Gipson, Beckmann, El-Maraghi, Marusich, & Bardo, 2011; Hofford, Chow, Beckmann, & Bardo, 2017). Social isolation is considered aversive and, with profound adverse effects on mental and physical health (Begni et al., 2020).

Early life adversity is a known risk factor on mental disorders and tends to interfere with the normal brain development. Indeed, Adverse childhood experiences that involved social, environmental and household neglect catalyze the development of mental health disorders such as anxiety or substance abuse in humans (Jaffee, Hanscombe, Haworth, Davis, & Plomin, 2012).

Interesting enough, in both humans and laboratory animals, hostile social interactions and social isolation indorse drug self-administration and relapse, while increasing social interactions tend to be protective and in some used as a preventative approach (Bardo & Dwoskin, 2004; Bardo, Klebaur, Valone, & Deaton, 2001; Gipson, Beckmann, et al., 2011; Green, Gehrke, & Bardo, 2002). Socially isolated rats are also more sensitive to non-drug reinforcers such as visual novelty and palatable food (Cain, Green, & Bardo, 2006; Slaker, Barnes, Sorg, & Grimm, 2016).

In these periclinal studies, positive and increasing social usually involve experimenter-controlled enriched home cage environments or highly neglected environments. A widely studied model of social interactions, peer interactions and early life adversity involved different rearing conditions where rats are house in either an isolated condition (IC), a social condition (SC), or an enriched condition (EC) that consists of both social peers and novel objects (Hofford et al., 2017; van Praag, Kempermann, & Gage, 2000). Typically, EC consists of housing animals in larger cages with multiple toys, burrowing tunnels, and wire mesh walls for climbing, all together provides a socially and physically stimulus-rich environment. In contrast, isolation rearing involves rats under conditions of isolation, which rats are single housed in a cage from the time of weaning until the experimental date. These enriched and isolated environments are relevant to a spectrum of important neurobiological and neurodevelopment

events that relate to early experiences and potential behavioral dysfunctions. Beyond the enhanced sensitivity to drug and non-drug reinforcers, these factors singly or collectively alter both the behavior and neurobiology of differentially reared rats (Mumtaz, Khan, Zubair, & Dehpour, 2018).

Drug use disorders often involved deficits in the capacity to efficiently process reward-related information, or override reward-controlled behavior, especially when the ultimate behavioral goal is in struggle with aversive or instant outcomes (Winstanley, Olausson, Taylor, & Jentsch, 2010). Therefore, the deficit in behavioral flexibility and impulse control represents a behavioral construct that propels addiction, as behavior becomes progressively driven by drugs and drug-associated cues. The isolated condition/environment represents a suitable model for understanding impulsivity traits observed in humans, but also, the defective social experiences under an isolated environment emulates abandonment, and neglect, especially during early stages of life what increases an individual's risk of developing drug addiction. In rats, there is a critical period during which social isolation has the most profound and often irreversible effects, which begins during the earliest stage of adolescence immediately after weaning (typically postnatal day 21 [P21]) and extends through mid-adolescence (~P40–P50) (Einon & Morgan, 1977). Thus, a plethora of studies support the relevance of social influences and early life stress as a factor influencing drug addiction, urging to look at the neurobiological changes occurred under isolation as an effective predictor of drug seeking and drug taking outcomes.

Social isolation and harsh environments effects in drug-induced reinforcement

Drugs are voluntarily taken and potentially abused because of their reinforcing properties. Decades of research have built up an umbrella of different behavioral techniques that allow us to identify the cellular and brain mechanisms under the addiction process, recognizing the different stages that involved the expected end of understanding drug use, drug craving, and relapse. Since then, many developments in technology and design have enhanced our understanding of the neurobiology underlying behavioral effects of addictive drugs in classic animal models, including psychomotor sensitization (Steketee & Kalivas, 2011), conditioned place preference (CPP) (Russo et al., 2010), drug withdrawal (Koob, 2020), drug discrimination (Jaramillo et al., 2018), drug self-administration (Wise &

Koob, 2014), extinction of drug-reinforced responding (Peters, Kalivas, & Quirk, 2009), reinstatement of Drug-seeking after extinction and incubation of drug craving after home-cage forced abstinence (Bossert, Marchant, Calu, & Shaham, 2013). In this chapter book, we will outline mainly studies that involved drug self-administration and CPP.

Self-administration models

Self-administration-based methods are commonly used in addiction research. One of this model's main advantages is the proximity and similarity in animal drug-taking (drug consumption) compared to human drug-consumption. Another benefit of using this animal model in drug abuse is incorporating social and environmental factors to help understand how drug-taking behaviors are affected by those. The self-administration models can arrange base on various criteria, such as pharmacologically (e.g., route of administration) or behavioral (e.g., operant and non-operant); a concise review of these models and their effects can be found at the review by Sanchis-Segura and Spanagel (Sanchis-Segura & Spanagel, 2006). Briefly, operant procedures refer to the response itself (e.g., frequency, rate, latency for lever pressing), whereas non-operant methods focus on the amount of drug consumption. The main particularity and distinctive feature of the self-administration model is based on learning contingency; this is a sequence of predictive of reward, with an instrumental component integrated, where the endpoint identifies the operant schedule that ends up in positive reinforcement. This is when a positive reinforcer (drug of abuse) is delivered contingently to the achievement of the schedule requirements (e.g., lever press ratio, this is how many times an animal should press the operant lever for receiving a drug infusion).

Conditioned place preference

The conditioned place preference (CPP) model is a standard preclinical behavioral model utilized to study the rewarding and aversive effects of drugs (McKendrick & Graziane, 2020). This model involves the association of a particular environment with drug treatment, followed by the association of a different environment with the absence of the Drug (i.e., the Drug's vehicle) (Bardo & Bevins, 2000). One of the most utilized CPP experimental setups consist of a three-compartment chamber where the sides chambers are intended to have different features (e.g., white vs. black walls, bedding, horizontal grid vs. cross-grid flooring). The middle chamber usually is reduced inside and usually use as a transition zone,

without any unique characteristics, and is not paired with a drug. During conditioning (training), an animal received an injection of a drug with potentially rewarding or reinforcing properties and is positioned into one of the outer compartments for several minutes. The next day, that same animal received an injection with the vehicle and was situated in the opposite side chamber. On the vehicle session and one session of Drug is called pairing; usually, these pairing sessions are repeated for 3-4 days, depending on the dose and the type of drug. After that, a test session is conducted; generally, this test is considered drug-free, this is the animals will not have the pharmacological stimulus but will have the environmental context where the drug was administered. The test consists of leaving the animal in the middle compartment allowing to choose any of the chambers, time expend in each chamber is recorded, and CCP scores are calculated. A conditioned place preference (CPP) is found if the animals spend significantly more time in the drug-paired compartment versus the vehicle-paired compartment. The following section will review social and environmental influences in drug-self administration and drug-induced CPP in adults and adolescent animals.

Social and environmental influences in drug-self administration and drug-induced cpp in adults

In rats, social isolation modifies the acute response to psychostimulants; reports indicated that social and environmental isolation decreased acute locomotor response to amphetamine and nicotine than group-housed animals (Bardo, Bowling, et al., 1995; Bowling, Rowlett, & Bardo, 1993; Meyer & Bardo, 2015; Somalwar et al., 2020; Watanabe, 2018). When drug administrations occurred chronically and repetitively, animals under social isolation showed a more significant sensitization response, measured as locomotor activity, to the stimulant effect of amphetamine or cocaine, compared to the locomotor response of animals housed in an enriched environment (EC) (Bardo, Bowling, et al., 1995; Bardo, Rowlett, & Harris, 1995). Over the effect of social isolation and harsh environments in drug-self administration models, evidence suggests that acquisition of the operant response is accelerated in social isolated animals. Moreover, when social isolation happens after postweaning period and last until adolescence, isolated rats (IC) showed a compulsive and increase operant response for cocaine infusions compared to EC animals. (Hofford, Prendergast, & Bardo, 2018). Interestingly, IC rats maintain a greater

self-administration of low unit doses of amphetamine or heroin (Bozarth, Murray, & Wise, 1989).

Using CPP, the evidence is less consistent. Some reports show that rats in social and environmental isolation displayed a less strong preference for the chamber associated with amphetamine, nicotine, or opioids, all this when compared to EC (Ewin, Kangiser, & Stairs, 2015; Shram, Funk, Li, & Lê, 2008; Shram & Lê, 2010), but increased cocaine-induced CPP at high dose when compared to rats housed in standard conditions (Zakharova, Leoni, Kichko, & Izenwasser, 2009; Zakharova, Wade, & Izenwasser, 2009). These may suggest that social isolation changes the reward threshold to psychostimulant effects. Also, after prolonged periods of social isolation, cognitive and affective changes are observed; remarkably, the severity of those depends entirely on the neurodevelopmental stage and, in some cases, due to sex differences. For instance, social isolation initially reduces the self-administration of nicotine in males but enhances nicotine intake during later sessions, especially in females (Peartree et al., 2017). For example, group-housed male and female adult rats do not display CPP for social interaction (Yates, Beckmann, Meyer, & Bardo, 2013). This and other reports then urge to understand the drug-induced CPP results in adolescent animals taking into consideration 1) the potential rewarding effects that adolescent animals can experience after social interaction, 2) whether social influences are present at the moment of drug administration or within the drug-associated environment and 3) the possible differences observed between female and male adolescents.

Social and environmental influences in drug-self administration and drug-induced cpp in adolescents

Interactions with peers become especially important during adolescence; social influences during this critical neurodevelopmental period provide information about the behavioral patterns, attitudes, and values (Barker et al., 2021). Human adolescents spend more time interacting with peers than during any other developmental period, and these relationships provide a significant source of positive experiences for adolescents (Hamilton, Do, Choukas-Bradley, Ladouceur, & Silk, 2021). Similarly, adolescent rats spend more time in social interactions than younger and older animals (Homberg, Schiepers, Schoffelmeer, Cuppen, & Vanderschuren, 2007). Social interactions in adolescent rats involved diverse social interactions: play fighting, social investigation, grooming, boxing, mutual leaking, and social contact (Pellis & Pellis, 1998). However, the isolation period

increases the rewarding effects of social interaction, at various development stages, with adolescent males showing the strongest preference (Douglas, Varlinskaya, & Spear, 2004). Applied during adolescence, social isolation impedes social play and the social competence acquired from it. Isolation during the early stages of life can create long term changes in behavior. For example, studies demonstrated that social isolation during adolescence disturbs rats' ability, once adults, to assume a submissive posture during a confrontation with a dominant rat, in addition decreased grooming and play behavior (Mañas-Ojeda & Ros-Bernal, 2020; Tóth, Halász, Mikics, Barsy, & Haller, 2008). The rewarding properties of social interactions also have been revealed by CPP (El Rawas & Saria, 2016; Thiel, Sanabria, & Neisewander, 2009). Other reports demonstrated that adolescent rats develop a preference for social interaction (Reppucci, Gergely, & Bredewold, 2020). It is also demonstrated that animals showed a successful operant behavior (lever press) only to gain the opportunity to interact with same-age congeners (Ikemoto & Panksepp, 1992). Juvenile rats will readily learn to cross a T-maze for the opportunity to interact with another similar-aged rat; also, the same group demonstrated that play behavior was enough to induce a robust CPP response (Calcagnetti & Schechter, 1992). Thus, the intersection between social interaction and addiction should be considered in the experimental design and result interpretation. Here we will discuss studies where either social or enriched environments are made available during drug administration and discuss if available may facilitate, promote, and interact with the drug's effects. We will also discuss the protective effect that social interaction provides when offered alternatively outside the drug context. The direct influence of peer presence on drug self-administration has shown different results, potentially for the different experimental setups. A study showed that adolescent rats would show more alcohol consumption when this comes with social contact with same-sex peers (Tomie, Lewis, Curiotto, & Pohorecky, 2007), suggesting that social interaction can be an incentive for drug use. Other reports demonstrated that cocaine-induced and nicotine-induced CPP in adolescent rats is more robust when there is a peer associated with the drug-compartment, suggesting that a peer's presence increases the positive reinforcement of psychostimulants (Thiel et al., 2009).

In self-administration models, the role of social influences has been evaluated as well. A study examined the effects of the presence of a social partner, in this case, a novel same-sex conspecific was presented in an ad-

jacent compartment separated by a clear divider, and response for d-amphetamine self-administration was measured (Gipson, Yates, et al., 2011), their results showed that a presence of a peer indeed increases the psychostimulant self-administration, however, in this study the partner is not given the opportunity for operant behavior. With this, the social influence, peer in the neighboring box, represents a discriminative stimulus for drug availability for the self-administering rat. A similar study uses a clear divide with the opportunity to see, hear, and smell the peer's presence increases nicotine self-administration (Chen, Sharp, Matta, & Wu, 2011). In addition to the previous social interactions, the divider filled with scatter holes allows an olfactory-gustatory interaction in this study. This remarkably increases the operant response, but they established that the demonstrator prompts the observer to imitate the operant behavior (Chen et al., 2011). Another novel study demonstrated that allowing social interactions during the acquisition of cocaine self-administration can be used as a discriminative cue to induce reinstatement after extinction (Weiss et al., 2020). In adolescent animal models of addiction, social influences may be dependent on the strain. For instance, peer interaction experience with morphine administrations prevents to development of morphine induced CPP in bl/C57; however, when the same experimental setup was used with BALB/C, mice showed CPP. This is because bl/C57 is considered a more social animal than BALB/C; thus, different strains evaluating social influences in drug effects will represent closely what humans with different levels of social context experienced (Kennedy, Panksepp, Runckel, & Lahvis, 2012). Another study by Cole et al.; in 2013 demonstrated that morphine-induced CPP could be prevented by exposure to different social partners; even more, despite increasing morphine doses, those animals that experience early and continuous social experiences did not develop a preference for the drug. This remarkably suggests that exposure to different peers and various social interactions can change the abuse potential of opioids. One can argue that, unlike in most laboratory circumstances, in real-life situations, drugs are rarely consumed in isolation; this is particularly true at the early stages of drug use. In adolescents' rats, drug-taking is often. Instead, drug-taking is often indistinguishably linked to the experience of social interaction with peers (Epstein, Bang, & Botvin, 2007), that, can exacerbate the rewarding properties of the drug episode. Preclinical studies support the above, where it was demonstrated that the rewarding effects of cocaine are incremented in adolescent male rats when

exposure to the same-sex peer occurred during the CPP (Thiel, Okun, & Neisewander, 2008).

Concluding remarks

The above set of findings demonstrated that social influences are rewarding during adolescence, whether it happen concomitantly to the drug administration or context; more importantly, social interactions can affect vulnerability to addiction, change drug sensitivity, and abuse liability. Undeniable is that environmental conditions that involve higher levels of social stress contribute majorly to drug dependence, not only in the early stages of drug use but also during the maintenance and escalation of drug consumption. We also discuss the extensive evidence about the importance of positive and enriched social interactions for reversing and preventing drug abuse. More studies should be conducted on the cellular and molecular level to understand further the synergistic versus alternative protective effects of social interaction reward on drug reward. To conclude, understanding drug and social interaction reward is necessary to develop novel therapeutic approaches for substance-dependent individuals.

REFERENCES

- Ajonijebu, D. C., Abboussi, O., Russell, V. A., Mabandla, M. V., & Daniels, W. M. U. (2017). Epigenetics: a link between addiction and social environment. *Cell Mol Life Sci*, 74(15), 2735-2747. doi:10.1007/s00018-017-2493-1
- Aloise-Young, P. A., & Kaepfner, C. J. (2005). Sociometric status as a predictor of onset and progression in adolescent cigarette smoking. *Nicotine Tob Res*, 7(2), 199-206. doi:10.1080/14622200500055277
- Bardo, M. T., & Bevins, R. A. (2000). Conditioned place preference: what does it add to our preclinical understanding of drug reward? *Psychopharmacology (Berl)*, 153(1), 31-43. doi:10.1007/s002130000569
- Bardo, M. T., Bowling, S. L., Rowlett, J. K., Manderscheid, P., Buxton, S. T., & Dwoskin, L. P. (1995). Environmental enrichment attenuates locomotor sensitization, but not in vitro dopamine release, induced by amphetamine. *Pharmacol Biochem Behav*, 51(2-3), 397-405. doi:10.1016/0091-3057(94)00413-d
- Bardo, M. T., & Dwoskin, L. P. (2004). Biological connection between novelty- and drug-seeking motivational systems. *Nebr Symp Motiv*, 50, 127-158.
- Bardo, M. T., Klebaur, J. E., Valone, J. M., & Deaton, C. (2001). Environmental enrichment decreases intravenous self-administration of amphetamine in female and male rats. *Psychopharmacology (Berl)*, 155(3), 278-284. doi:10.1007/s002130100720
- Bardo, M. T., Rowlett, J. K., & Harris, M. J. (1995). Conditioned place preference using opiate and stimulant drugs: a meta-analysis. *Neurosci Biobehav Rev*, 19(1), 39-51. doi:10.1016/0149-7634(94)00021-r
- Barker, T. V., Buzzell, G. A., Troller-Renfree, S. V., Bowman, L. C., Pine, D. S., & Fox, N. A. (2021). The influence of social motivation on neural correlates of cognitive control in girls. *Dev Psychobiol*. doi:10.1002/dev.22086
- Begni, V., Sanson, A., Pfeiffer, N., Brandwein, C., Inta, D., Talbot, S. R., . . . Mallien, A. S. (2020). Social isolation in rats: Effects on animal welfare and molecular markers for neuroplasticity. *PLoS ONE*, 15(10), e0240439. doi:10.1371/journal.pone.0240439
- Bossert, J. M., Marchant, N. J., Calu, D. J., & Shaham, Y. (2013). The reinstatement model of drug relapse: recent neurobiological findings, emerging research topics, and translational research. *Psychopharmacology (Berl)*, 229(3), 453-476. doi:10.1007/s00213-013-3120-y
- Bowling, S. L., Rowlett, J. K., & Bardo, M. T. (1993). The effect of environmental enrichment on amphetamine-stimulated locomotor activity, dopamine synthesis and dopamine release. *Neuropharmacology*, 32(9), 885-893. doi:10.1016/0028-3908(93)90144-r
- Bozarth, M. A., Murray, A., & Wise, R. A. (1989). Influence of housing conditions on the acquisition of intravenous heroin and cocaine self-administration in rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 33(4), 903-907. doi:10.1016/0091-3057(89)90490-5
- Brandwein, A. B., Foxe, J. J., Russo, N. N., Altschuler, T. S., Gomes, H., & Molholm, S. (2011). The development of audiovisual multisensory integration across childhood and early adolescence: a high-density electrical mapping study. *Cereb Cortex*, 21(5), 1042-1055. doi:10.1093/cercor/bhq170
- Cain, M. E., Green, T. A., & Bardo, M. T. (2006). Environmental enrichment decreases responding for visual novelty. *Behav Processes*, 73(3), 360-366. doi:10.1016/j.beproc.2006.08.007
- Calcagnetti, D. J., & Schechter, M. D. (1992). Place conditioning reveals the rewarding aspect of social interaction in juvenile rats. *Physiol Behav*, 51(4), 667-672. doi:10.1016/0031-9384(92)90101-7

- Cavalcante, L. A., Barradas, P. C., & Martinez, A. M. (1991). Patterns of myelination in the opossum superior colliculus with additional reference to the optic tract. *Anat Embryol (Berl)*, 183(3), 273-285. doi:10.1007/bf00192215
- Chambers, R. A., & Potenza, M. N. (2003). Neurodevelopment, impulsivity, and adolescent gambling. *J Gambl Stud*, 19(1), 53-84. doi:10.1023/a:1021275130071
- Chen, H., Sharp, B. M., Matta, S. G., & Wu, Q. (2011). Social interaction promotes nicotine self-administration with olfactogustatory cues in adolescent rats. *Neuropsychopharmacology*, 36(13), 2629-2638. doi:10.1038/npp.2011.149
- Cloninger, C. R., Sigvardsson, S., & Bohman, M. (1988). Childhood personality predicts alcohol abuse in young adults. *Alcohol Clin Exp Res*, 12(4), 494-505. doi:10.1111/j.1530-0277.1988.tb00232.x
- Douglas, L. A., Varlinskaya, E. I., & Spear, L. P. (2004). Rewarding properties of social interactions in adolescent and adult male and female rats: impact of social versus isolate housing of subjects and partners. *Dev Psychobiol*, 45(3), 153-162. doi:10.1002/dev.20025
- Einon, D. F., & Morgan, M. J. (1977). A critical period for social isolation in the rat. *Dev Psychobiol*, 10(2), 123-132. doi:10.1002/dev.420100205
- El Rawas, R., & Saria, A. (2016). The Two Faces of Social Interaction Reward in Animal Models of Drug Dependence. *Neurochem Res*, 41(3), 492-499. doi:10.1007/s11064-015-1637-7
- Epstein, J. A., Bang, H., & Botvin, G. J. (2007). Which psychosocial factors moderate or directly affect substance use among inner-city adolescents? *Addict Behav*, 32(4), 700-713. doi:10.1016/j.addbeh.2006.06.011
- Evans, E. A., Goff, S. L., Upchurch, D. M., & Grella, C. E. (2020). Childhood adversity and mental health comorbidity in men and women with opioid use disorders. *Addict Behav*, 102, 106149. doi:10.1016/j.addbeh.2019.106149
- Ewin, S. E., Kangiser, M. M., & Stairs, D. J. (2015). The effects of environmental enrichment on nicotine condition place preference in male rats. *Exp Clin Psychopharmacol*, 23(5), 387-394. doi:10.1037/pha0000024
- Giedd, J. N. (2004). Structural magnetic resonance imaging of the adolescent brain. *Ann N Y Acad Sci*, 1021, 77-85. doi:10.1196/annals.1308.009
- Gipson, C. D., Beckmann, J. S., El-Maraghi, S., Marusich, J. A., & Bardo, M. T. (2011). Effect of environmental enrichment on escalation of cocaine self-administration in rats. *Psychopharmacology (Berl)*, 214(2), 557-566. doi:10.1007/s00213-010-2060-z
- Gipson, C. D., Yates, J. R., Beckmann, J. S., Marusich, J. A., Zentall, T. R., & Bardo, M. T. (2011). Social facilitation of d-amphetamine self-administration in rats. *Exp Clin Psychopharmacol*, 19(6), 409-419. doi:10.1037/a0024682
- Green, T. A., Gehrke, B. J., & Bardo, M. T. (2002). Environmental enrichment decreases intravenous amphetamine self-administration in rats: dose-response functions for fixed- and progressive-ratio schedules. *Psychopharmacology (Berl)*, 162(4), 373-378. doi:10.1007/s00213-002-1134-y
- Hamilton, J. L., Do, Q. B., Choukas-Bradley, S., Ladouceur, C. D., & Silk, J. S. (2021). Where it Hurts the Most: Peer Interactions on Social Media and in Person are Differentially Associated with Emotional Reactivity and Sustained Affect Among Adolescent Girls. *Res Child Adolesc Psychopathol*, 49(2), 155-167. doi:10.1007/s10802-020-00725-5
- Heilig, M., Epstein, D. H., Nader, M. A., & Shaham, Y. (2016). Time to connect: bringing social context into addiction neuroscience. *Nat Rev Neurosci*, 17(9), 592-599. doi:10.1038/nrn.2016.67
- Hofford, R. S., Bond, P. N., Chow, J. J., & Bardo, M. T. (2020). Presence of a social peer enhances acquisition of remifentanyl self-administration in male rats. *Drug Alcohol Depend*, 213, 108125. doi:10.1016/j.drugalcdep.2020.108125

- Hofford, R. S., Chow, J. J., Beckmann, J. S., & Bardo, M. T. (2017). Effects of environmental enrichment on self-administration of the short-acting opioid remifentanyl in male rats. *Psychopharmacology (Berl)*, 234(23-24), 3499-3506. doi:10.1007/s00213-017-4734-2
- Hofford, R. S., Prendergast, M. A., & Bardo, M. T. (2018). Modified single prolonged stress reduces cocaine self-administration during acquisition regardless of rearing environment. *Behav Brain Res*, 338, 143-152. doi:10.1016/j.bbr.2017.10.023
- Holland, S. K., Vannest, J., Mecoli, M., Jacola, L. M., Tillema, J. M., Karunanayaka, P. R., . . . Byars, A. W. (2007). Functional MRI of language lateralization during development in children. *Int J Audiol*, 46(9), 533-551. doi:10.1080/14992020701448994
- Homberg, J. R., Schiepers, O. J., Schoffemeer, A. N., Cuppen, E., & Vanderschuren, L. J. (2007). Acute and constitutive increases in central serotonin levels reduce social play behaviour in peri-adolescent rats. *Psychopharmacology (Berl)*, 195(2), 175-182. doi:10.1007/s00213-007-0895-8
- Ikemoto, S., & Panksepp, J. (1992). The effects of early social isolation on the motivation for social play in juvenile rats. *Dev Psychobiol*, 25(4), 261-274. doi:10.1002/dev.420250404
- Jaffee, S. R., Hanscombe, K. B., Haworth, C. M., Davis, O. S., & Plomin, R. (2012). Chaotic homes and children's disruptive behavior: a longitudinal cross-lagged twin study. *Psychol Sci*, 23(6), 643-650. doi:10.1177/0956797611431693
- Jaramillo, A. A., Agan, V. E., Makhijani, V. H., Pedroza, S., McElligott, Z. A., & Besheer, J. (2018). Functional role for suppression of the insular-striatal circuit in modulating interoceptive effects of alcohol. 23(5), 1020-1031. doi:10.1111/adb.12551
- Kennedy, B. C., Panksepp, J. B., Runckel, P. A., & Lahvis, G. P. (2012). Social influences on morphine-conditioned place preference in adolescent BALB/cJ and C57BL/6J mice. *Psychopharmacology (Berl)*, 219(3), 923-932. doi:10.1007/s00213-011-2421-2
- Koob, G. F. (2020). Neurobiology of Opioid Addiction: Opponent Process, Hyperkatifeia, and Negative Reinforcement. *Biol Psychiatry*, 87(1), 44-53. doi:10.1016/j.biopsych.2019.05.023
- Koob, G. F., & Schulkin, J. (2019). Addiction and stress: An allostatic view. *Neurosci Biobehav Rev*, 106, 245-262. doi:10.1016/j.neubiorev.2018.09.008
- Mañas-Ojeda, A., & Ros-Bernal, F. (2020). Becoming Stressed: Does the Age Matter? Reviewing the Neurobiological and Socio-Affective Effects of Stress throughout the Lifespan. 21(16). doi:10.3390/ijms21165819
- McKendrick, G., & Graziane, N. M. (2020). Drug-Induced Conditioned Place Preference and Its Practical Use in Substance Use Disorder Research. *Front Behav Neurosci*, 14, 582147. doi:10.3389/fnbeh.2020.582147
- McKenzie-Quirk, S. D., & Miczek, K. A. (2008). Social rank and social separation as determinants of alcohol drinking in squirrel monkeys. *Psychopharmacology (Berl)*, 201(1), 137-145. doi:10.1007/s00213-008-1256-y
- Meyer, A. C., & Bardo, M. T. (2015). Amphetamine self-administration and dopamine function: assessment of gene?x?environment interactions in Lewis and Fischer 344 rats. *Psychopharmacology (Berl)*, 232(13), 2275-2285. doi:10.1007/s00213-014-3854-1
- Mooney-Leber, S. M., & Gould, T. J. (2018). The long-term cognitive consequences of adolescent exposure to recreational drugs of abuse. *Learn Mem*, 25(9), 481-491. doi:10.1101/lm.046672.117

- Mumtaz, F., Khan, M. I., Zubair, M., & Dehpour, A. R. (2018). Neurobiology and consequences of social isolation stress in animal model-A comprehensive review. *Biomed Pharmacother*, 105, 1205-1222. doi:10.1016/j.biopha.2018.05.086
- Peartree, N. A., Hatch, K. N., Goenaga, J. G., Dado, N. R., Molla, H., Dufwenberg, M. A., . . . Neisewander, J. L. (2017). Social context has differential effects on acquisition of nicotine self-administration in male and female rats. *Psychopharmacology (Berl)*, 234(12), 1815-1828. doi:10.1007/s00213-017-4590-0
- Pellis, S. M., & Pellis, V. C. (1998). Play fighting of rats in comparative perspective: a schema for neurobehavioral analyses. *Neurosci Biobehav Rev*, 23(1), 87-101. doi:10.1016/S0149-7634(97)00071-7
- Pelloux, Y., Giorla, E., Montanari, C., & Baunez, C. (2019). Social modulation of drug use and drug addiction. *Neuropharmacology*, 159, 107545. doi:10.1016/j.neuropharm.2019.02.027
- Peters, J., Kalivas, P. W., & Quirk, G. J. (2009). Extinction circuits for fear and addiction overlap in prefrontal cortex. *Learn Mem*, 16(5), 279-288. doi:10.1101/lm.1041309
- Pettersen, H., Landheim, A., Skeie, I., Biong, S., Brodahl, M., Oute, J., & Davidson, L. (2019). How Social Relationships Influence Substance Use Disorder Recovery: A Collaborative Narrative Study. *Subst Abuse*, 13, 1178221819833379. doi:10.1177/1178221819833379
- Pfefferbaum, A., Mathalon, D. H., Sullivan, E. V., Rawles, J. M., Zipursky, R. B., & Lim, K. O. (1994). A quantitative magnetic resonance imaging study of changes in brain morphology from infancy to late adulthood. *Arch Neurol*, 51(9), 874-887. doi:10.1001/archneur.1994.00540210046012
- Reppucci, C. J., Gergely, C. K., & Bredewold, R. (2020). Involvement of orexin/hypocretin in the expression of social play behaviour in juvenile rats. 9(1), 108-127. doi:10.1080/21594937.2020.1720132
- Russo, S. J., Dietz, D. M., Dumitriu, D., Morrison, J. H., Malenka, R. C., & Nestler, E. J. (2010). The addicted synapse: mechanisms of synaptic and structural plasticity in nucleus accumbens. *Trends Neurosci*, 33(6), 267-276. doi:10.1016/j.tins.2010.02.002
- Sanchis-Segura, C., & Spanagel, R. (2006). Behavioural assessment of drug reinforcement and addictive features in rodents: an overview. *Addict Biol*, 11(1), 2-38. doi:10.1111/j.1369-1600.2006.00012.x
- Shram, M. J., Funk, D., Li, Z., & Lê, A. D. (2008). Nicotine self-administration, extinction responding and reinstatement in adolescent and adult male rats: evidence against a biological vulnerability to nicotine addiction during adolescence. *Neuropsychopharmacology*, 33(4), 739-748. doi:10.1038/sj.npp.1301454
- Shram, M. J., & Lê, A. D. (2010). Adolescent male Wistar rats are more responsive than adult rats to the conditioned rewarding effects of intravenously administered nicotine in the place conditioning procedure. *Behav Brain Res*, 206(2), 240-244. doi:10.1016/j.bbr.2009.09.018
- Slaker, M., Barnes, J., Sorg, B. A., & Grimm, J. W. (2016). Impact of Environmental Enrichment on Perineuronal Nets in the Prefrontal Cortex following Early and Late Abstinence from Sucrose Self-Administration in Rats. *PLoS One*, 11(12), e0168256. doi:10.1371/journal.pone.0168256
- Solinas, M., Chauvet, C., Lafay-Chebassier, C., Jaafari, N., & Thiriet, N. (2020). Environmental enrichment-inspired pharmacological tools for the treatment of addiction. *Curr Opin Pharmacol*, 56, 22-28. doi:10.1016/j.coph.2020.09.001
- Somalwar, A. R., Choudhary, A. G., Balasubramanian, N., Sakharkar, A. J., Subhedar, N. K., & Kokare, D. M. (2020). Cocaine- and amphetamine-regulated transcript peptide promotes reward seeking behavior in socially isolated rats. *Brain Res*, 1728, 146595. doi:10.1016/j.brainres.2019.146595

- Sowell, E. R., Thompson, P. M., Holmes, C. J., Jernigan, T. L., & Toga, A. W. (1999). In vivo evidence for post-adolescent brain maturation in frontal and striatal regions. *Nat Neurosci*, 2(10), 859-861. doi:10.1038/13154
- Sowell, E. R., Thompson, P. M., Leonard, C. M., Welcome, S. E., Kan, E., & Toga, A. W. (2004). Longitudinal mapping of cortical thickness and brain growth in normal children. *J Neurosci*, 24(38), 8223-8231. doi:10.1523/jneurosci.1798-04.2004
- Sowell, E. R., Thompson, P. M., & Toga, A. W. (2004). Mapping changes in the human cortex throughout the span of life. *Neuroscientist*, 10(4), 372-392. doi:10.1177/1073858404263960
- Stairs, D. J., & Bardo, M. T. (2009). Neurobehavioral effects of environmental enrichment and drug abuse vulnerability. *Pharmacol Biochem Behav*, 92(3), 377-382. doi:10.1016/j.pbb.2009.01.016
- Steketee, J. D., & Kalivas, P. W. (2011). Drug wanting: behavioral sensitization and relapse to drug-seeking behavior. *Pharmacol Rev*, 63(2), 348-365. doi:10.1124/pr.109.001933
- Thiel, K. J., Okun, A. C., & Neisewander, J. L. (2008). Social reward-conditioned place preference: a model revealing an interaction between cocaine and social context rewards in rats. *Drug Alcohol Depend*, 96(3), 202-212. doi:10.1016/j.drugalcdep.2008.02.013
- Thiel, K. J., Sanabria, F., & Neisewander, J. L. (2009). Synergistic interaction between nicotine and social rewards in adolescent male rats. *Psychopharmacology (Berl)*, 204(3), 391-402. doi:10.1007/s00213-009-1470-2
- Tomek, S. E., & Olive, M. F. (2018). Social Influences in Animal Models of Opiate Addiction. *Int Rev Neurobiol*, 140, 81-107. doi:10.1016/bs.irn.2018.07.004
- Tomie, A., Lewis, K., Curiotto, J., & Pohorecky, L. A. (2007). Intermittent exposure to a social stimulus enhances ethanol drinking in rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 87(3), 341-348. doi:10.1016/j.pbb.2007.05.008
- Tóth, M., Halász, J., Mikics, E., Barsy, B., & Haller, J. (2008). Early social deprivation induces disturbed social communication and violent aggression in adulthood. *Behav Neurosci*, 122(4), 849-854. doi:10.1037/0735-7044.122.4.849
- Trezza, V., Campolongo, P., & Vanderschuren, L. J. (2011). Evaluating the rewarding nature of social interactions in laboratory animals. *Dev Cogn Neurosci*, 1(4), 444-458. doi:10.1016/j.dcn.2011.05.007
- van Praag, H., Kempermann, G., & Gage, F. H. (2000). Neural consequences of environmental enrichment. *Nat Rev Neurosci*, 1(3), 191-198. doi:10.1038/35044558
- Vazquez-Sanroman, D. B., Arlington Wilson, G., & Bardo, M. T. (2021). Effects of Social Isolation on Perineuronal Nets in the Amygdala Following a Reward Omission Task in Female Rats. *Mol Neurobiol*, 58(1), 348-361. doi:10.1007/s12035-020-02125-8
- Watanabe, S. (2018). Social Modification of Amphetamine Reward. *Int Rev Neurobiol*, 140, 109-129. doi:10.1016/bs.irn.2018.07.023
- Weiss, V. G., Hammerslag, L. R., & Bardo, M. T. (2020). Effect of a social peer on risky decision making in male Sprague Dawley rats. *Exp Clin Psychopharmacol*, 28(1), 26-31. doi:10.1037/pha0000298
- Winstanley, C. A., Olsson, P., Taylor, J. R., & Jentsch, J. D. (2010). Insight into the relationship between impulsivity and substance abuse from studies using animal models. *Alcohol Clin Exp Res*, 34(8), 1306-1318. doi:10.1111/j.1530-0277.2010.01215.x
- Wise, R. A., & Koob, G. F. (2014). The development and maintenance of drug addiction. *Neuropsychopharmacology*, 39(2), 254-262. doi:10.1038/npp.2013.261
- Yates, J. R., Beckmann, J. S., Meyer, A. C., & Bardo, M. T. (2013). Concurrent choice for social interaction and amphetamine using conditioned place preference in rats: effects of age and housing condition. *Drug Alcohol Depend*, 129(3), 240-246. doi:10.1016/j.drugalcdep.2013.02.024

- Zakharova, E., Leoni, G., Kichko, I., & Izenwasser, S. (2009). Differential effects of methamphetamine and cocaine on conditioned place preference and locomotor activity in adult and adolescent male rats. *Behav Brain Res*, 198(1), 45-50. doi:10.1016/j.bbr.2008.10.019
- Zakharova, E., Wade, D., & Izenwasser, S. (2009). Sensitivity to cocaine conditioned reward depends on sex and age. *Pharmacol Biochem Behav*, 92(1), 131-134. doi:10.1016/j.pbb.2008.11.002
- Zielinski, B. A., Prigge, M. B., Nielsen, J. A., Froehlich, A. L., Abildskov, T. J., Anderson, J. S., . . . Lainhart, J. E. (2014). Longitudinal changes in cortical thickness in autism and typical development. *Brain*, 137(Pt 6), 1799-1812. doi:10.1093/brain/awu083
- Zucker, R. A., Gonzalez, R., Feldstein Ewing, S. W., Paulus, M. P., Arroyo, J., Fuligni, A., . . . Wills, T. (2018). Assessment of culture and environment in the Adolescent Brain and Cognitive Development Study: Rationale, description of measures, and early data. *Dev Cogn Neurosci*, 32, 107-120. doi:10.1016/j.dcn.2018.03.004

Modelos de epilepsia

Karen Paola Ramos-Riera
Consuelo Morgado-Valle
María Leonor López-Meraz

¿Por qué estudiar la epilepsia en modelos animales?

Esta simple pregunta puede tener varias respuestas. Por ejemplo, la primera opción sería porque es un problema de salud mundial, ya que es una de las principales enfermedades neurológicas que aquejan al ser humano. Una respuesta diferente podría ser, porque no es sencillo desde la perspectiva técnica ni ética, estudiar sus causas y consecuencias en las personas que la padecen. Adicionalmente sería porque a pesar de que la epilepsia se ha estudiado desde hace mucho tiempo, a la fecha no existe un tratamiento de cualquier índole que la cure; lo anterior a pesar de que existen varios fármacos (los denominados antiepilépticos) o tratamientos no farmacológicos orientados a la terapéutica de la epilepsia. Incluso, existen personas con epilepsia que desarrollan resistencia al tratamiento farmacológico. Aunado a lo anterior, una razón para seguir estudiándola es porque existen múltiples causas y manifestaciones de las crisis epilépticas y de lo que conocemos como epilepsias o síndromes epilépticos (15 tipos de crisis epilépticas y 30 síndromes epilépticos según Berg et al., 2010). Por último, una respuesta tan importante como las anteriores sería porque estudiar la fisiopatología de la epilepsia nos permite entender mejor la función cerebral.

Es a partir de esta reflexión, que los modelos animales para el estudio de la epilepsia cobran un gran valor, tanto aquellos que han existido desde hace varias décadas como los de reciente creación. Las especies más empleadas para el estudio de la epilepsia según un reporte de Lidster et al. (2016) son la rata (*Rattus norvegicus*) y el ratón (*Mus musculus*). Aun cuando estas especies se podrían considerar alejadas del humano (*Homo sapiens*), la semejanza de su sistema nervioso con el nuestro permite explorar y conocer los cambios en la neurofisiología que acompañan a la epilepsia. Ciertamente, como escribió el fisiólogo mexicano Arturo Rosenblueth, “el mejor modelo material del gato, es el gato, preferentemente el mismo gato” (Rosenblueth y Wiener, 1945). Esta frase motiva a reflexionar

que lo ideal es estudiar la epilepsia (o cualquier enfermedad) humana en los humanos; sin embargo, esto no siempre es sencillo o posible.

Antes de iniciar específicamente con los modelos experimentales de epilepsia, se mencionarán algunos aspectos de la enfermedad que permitirán una mejor comprensión de los modelos animales para su estudio. La Organización Mundial de la Salud (OMS) considera que actualmente alrededor de 50 millones de personas de todo el mundo padecen epilepsia, con una prevalencia que oscila entre 4 y 10 por 1000 personas; esto hace a la epilepsia la enfermedad neurológica crónica más común (<https://www.who.int/health-topics/epilepsy>). En una revisión realizada recientemente por Noriega-Morales y Shkurovich-Bialik (2020), se identificaron 6 estudios que se han llevado a cabo para conocer la epidemiología de la epilepsia en México. Aunque contienen datos dispares que pueden explicarse por aspectos metodológicos o por las poblaciones de estudio, todos coinciden en sugerir una alta y alarmante prevalencia estimada que va desde 3.9 hasta 42.2 por cada 1000 habitantes.

La Liga Internacional Contra la Epilepsia (ILAE, por las siglas en inglés para *International League Against Epilepsy*), es una organización conformada por especialistas del área de salud, así como investigadores básicos y clínicos, que promueven la educación, la investigación y la búsqueda de tratamientos para la epilepsia. De acuerdo con la ILAE, la epilepsia es un trastorno del cerebro caracterizado por una predisposición crónica a generar crisis epilépticas, con consecuencias neurobiológicas, cognitivas, psicológicas y sociales. Esta definición implica haber presentado al menos una crisis (Fisher et al., 2005). Sin embargo, desde el punto de vista práctico u operacional, la epilepsia se considera una enfermedad cerebral, definida por la presentación de al menos dos crisis no provocadas que ocurren con más de 24 h de diferencia; por la presentación de una crisis no provocada y una posibilidad mayor de que otra ocurra después de dos eventos epilépticos no provocados en los siguientes 10 años; o bien el diagnóstico de un síndrome epiléptico (Fisher et al., 2014).

A partir de las definiciones previas, se identifica que la principal manifestación de la epilepsia es precisamente la crisis epiléptica. Ésta es la aparición breve de signos (manifestaciones objetivas) y/o síntomas (manifestaciones subjetivas) debido a la actividad neuronal anormal excesiva o sincrónica en el cerebro (Fisher et al., 2017). Las crisis epilépticas se pueden manifestar de formas diversas, lo cual dependerá de la o las regiones cerebrales afectadas, es decir, de la localización de

las neuronas que presentan actividad anormal. Dichas manifestaciones pueden ser motoras, sensoriales, emocionales, cognitivas o autonómicas (Reséndiz-Aparicio et al., 2019). Según la localización anatómica de su inicio, se pueden clasificar en focales o generalizadas, es decir que pueden involucrar una región cerebral delimitada o redes neuronales de ambos hemisferios cerebrales, respectivamente. Las crisis también pueden considerarse desconocidas, cuando no se logra identificar si su inicio es focal o generalizado (Fisher et al., 2017). Éstas pueden identificarse tanto por la conducta, como a través de estudios electroencefalográficos o de imagen cerebral, dos de las principales herramientas diagnósticas de la epilepsia que permiten identificar cambios en la función y estructura cerebral. Es importante tener claro que una crisis epiléptica es un evento y que la epilepsia es la enfermedad que implica crisis recurrentes y espontáneas, es decir no provocadas. A partir de esta concepción es que los modelos experimentales se consideran agudos o crónicos, siendo los primeros modelos de crisis epilépticas y los últimos modelos de epilepsia como tal.

La clasificación vigente de la epilepsia considera varios niveles para su categorización que incluyen: a) el tipo de crisis epiléptica, b) el tipo de epilepsia, c) el tipo de síndrome epiléptico y d) la etiología de la enfermedad. Los síndromes epilépticos consideran las características de las crisis epilépticas, y el hecho de que éstas dependan de la edad, la etapa de la vida en la que inicie la enfermedad y en la que remita, los desencadenantes de las crisis, su variación diurna y la presencia de comorbilidades. En cuanto a la etiología, la epilepsia puede tener un origen estructural, genético, infeccioso, metabólico, inmunitario o desconocido (Scheffer et al., 2017). Se considera que la epilepsia es adquirida cuando resulta de un atentado inicial al cerebro, por ejemplo, un traumatismo craneoencefálico o una infección, a diferencia de la epilepsia genética o presumiblemente genética, en la que modificaciones de ciertos genes la producen. Estas consideraciones adquieren importancia cuando se quiere realizar una aproximación experimental, pues lo deseable es que los modelos reproduzcan estas mismas causas en los animales para mimetizar con más exactitud lo que ocurre en la epilepsia humana.

Desde el punto de vista neuroquímico, se ha identificado que las crisis epilépticas ocurren debido a una “descarga epiléptica”, es decir, la pérdida en el equilibrio dinámico entre los sistemas de neurotransmisión inhibitorios (representados principalmente por el ácido gama-amino butírico, GABA) y los excitatorios (mediados principalmente por el glutamato). Así,

una perturbación entre estos sistemas promueve la hiperexcitabilidad e hipersincronicidad neuronal distintiva de la epilepsia (Staley, 2015). Los mecanismos celulares involucrados en esta disfunción sináptica son múltiples y no son exclusivos de los dos sistemas de neurotransmisión que se mencionan previamente. Puede haber desde cambios en la síntesis y liberación de los neurotransmisores, de sus receptores, o de las moléculas implicadas en su adecuado mecanismo transduccional, hasta cambios en las conexiones y circuitos neuronales y en la respuesta de otros tipos celulares como la glía o la microglía a dichos cambios. Entender los cambios neuroquímicos que ocurren en la epilepsia es por demás relevante para comprender la enfermedad. Mucho de lo que se sabe hasta ahora se ha derivado de los modelos animales de epilepsia, que ya sea a través de sustancias químicas, estímulos eléctricos, o modificaciones genéticas, tratan de provocar un desequilibrio neuroquímico que reproduzca el desarrollo de la enfermedad.

¿Qué criterios debe cumplir un modelo animal para que sea válido?

De acuerdo con Van der Staay (2006), un modelo animal con relevancia biológica y/o clínica en las neurociencias conductuales es un organismo vivo utilizado para estudiar la relación entre la conducta y el cerebro bajo condiciones controladas. Su objetivo es generar conocimiento y poder realizar hipótesis y extrapolaciones acerca de la relación cerebro-conducta, tanto en humanos como en otras especies diferentes a la utilizada (o en la misma especie del modelo, pero en condiciones diferentes a las que se realizó el estudio). Sin embargo, deben considerarse varios aspectos al emplearlos. Por ejemplo, se deben utilizar condiciones experimentales controladas para que los resultados sean replicables; se pretende que los resultados y la información obtenida se puedan generalizar al humano o a otras especies (un término referido como “generalizabilidad entre especies”); los hallazgos obtenidos deben poder ser extrapolados a condiciones diferentes a aquellas en los que fueron generados; y por último, los modelos animales deben proveer una simplificación a un fenómeno más complejo (Van der Staay, 2006). En este contexto, el uso de animales para el estudio de la epilepsia pretende relacionar la función neuronal y cerebral anormal con su principal manifestación, las crisis epilépticas.

Los modelos animales en neurociencias conductuales pueden ser: 1) animales normales, es decir, sujetos que no presentan ningún déficit observable; 2) animales con déficits debido al envejecimiento, a una condi-

ción neurológica endógena y espontánea, a mutaciones, a enfermedades genéticas, o a que se seleccionaron extremos de una población específica; 3) animales con déficits producidos experimentalmente, tales como animales (principalmente ratones) transgénicos, *knockout* o *knockin*¹ (Doyle et al., 2012), linajes seleccionados a partir de cruas selectivas, alteraciones producidas por métodos eléctricos, farmacológicos, por hipoxia o anoxia, o por lesiones cerebrales por aspiración, ablación, daño criogénico, infarto isquémico o hemorrágico (van der Staay, 2006). Precisamente, los modelos de epilepsia retoman los aspectos previamente mencionados, pero con énfasis en si representan sólo una crisis epiléptica en un cerebro normal (que estrictamente hablando no sería una “crisis epiléptica” pues no se presenta de forma espontánea si no inducida de forma aguda), si permiten estudiar su manifestación espontánea (que sí correspondería a la epilepsia), o bien el proceso activo que se gesta en el cerebro para el desarrollo de la epilepsia, fenómeno referido como epileptogénesis.

Modelos de epilepsia ¿qué se quiere modelar?

Como ya se mencionó, la epilepsia tiene un origen multifactorial y se manifiesta con diversos síntomas y signos que dan origen a las epilepsias y los síndromes epilépticos. Esta amplia diversidad ha dado lugar a la implementación de diferentes modelos experimentales para poder responder preguntas específicas. Antaño, el estudio de la epilepsia comprendió la aplicación de estimulación eléctrica de regiones cerebrales específicas en animales como el mono, el gato, el perro o los roedores, ya sea bajo condiciones de anestesia profunda o en animales despiertos. Así mismo, en estas especies se realizaban aplicaciones sistémicas o intra-cerebrales de sustancias químicas con la finalidad de romper el equilibrio excitación-inhibición necesario para el adecuado funcionamiento del sistema nervioso. Así, se empleaban sustancias excitadoras, tales como el ácido kaínico (un

- 1 Los animales transgénicos son aquellos generados por la introducción de genes exógenos o secuencias de ADN (transgenes) que típicamente se integran al genoma como una inserción cromosómica única y que se pueden heredar. Los animales *knockout* corresponden a los generados por la manipulación genética de una célula madre embrionaria para promover la pérdida de función de genes específicos ya sea al insertar una secuencia de ADN irrelevante que altere su expresión o bien por la remoción de una secuencia de ADN específica. Los animales *knockin* se generan por la manipulación genética de una célula madre embrionaria en la que un sitio específico del cromosoma se ha alterado ya sea por una sustitución uno a uno de la secuencia de ADN o por la adición de una secuencia de información genética no encontrada en el locus genético endógeno (Doyle et al., 2012).

agonista de receptores ionotrópicos glutamatérgicos), y sustancias que evitaban la actividad inhibitoria como la penicilina o el pentilentetrazol (que interfieren con la función del receptor GABA_A).

Incluso se desarrollaron modelos en los que se congelaba parte de la corteza cerebral para caracterizar los cambios que se generaban en los circuitos neuronales. También, se identificaron y seleccionaron especies que podían presentar epilepsia sin que fuera necesaria la manipulación mecánica, química o metabólica de su cerebro, es decir que mostraban epilepsia de forma natural. Entre estos modelos, destacan las ratas que tienen crisis de ausencia o audiogénicas, o incluso babuinos que presentan crisis epilépticas tras estímulos luminosos específicos, es decir epilepsia fotosensible (Fisher et al., 2017; López-Meraz et al., 2017). Algunos de estos modelos se usan poco en la actualidad, o se han implementado mejoras en su empleo. Posteriormente, con el desarrollo de técnicas de biología molecular y de la caracterización del genoma de varias especies animales además del ratón, han surgido modelos emergentes para el estudio de la epilepsia, mismos que emplean desde la mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*) y el pez cebra (*Danio rerio*) hasta el nemátodo *Caenorhabditis elegans* (Locke et al., 2009; Song y Tanouye, 2009; Baraban, 2009).

Los modelos experimentales de epilepsia también se han clasificado considerando el tipo de crisis epiléptica que producen, es decir si se producen crisis parciales o generalizadas, *status epilepticus* (un tipo de crisis epiléptica de larga duración –en experimentación al menos de 30 min–, por lo que se considera no autolimitada y que produce muerte de las neuronas), crisis de ausencia o si la manifestación ocurre en el humano en una edad específica, tal es el caso de las crisis epilépticas por hipertermia, más comunes en la población pediátrica (García García, et al, 2010). Sin embargo, en los siguientes párrafos nos enfocaremos a describir las categorías de los modelos de epilepsia empleados actualmente.

Los modelos animales de epilepsia se pueden categorizar en dos grandes grupos: 1) Aquellos que promueven hiperexcitabilidad o una disminución en el umbral para producir “crisis epilépticas”. También se denominan modelos agudos ya que se caracterizan por promover cambios breves y rápidos en la función neuronal, habitualmente en un cerebro “normal” y que ocurren en respuesta a un estímulo de diversa naturaleza, lo que desencadena una crisis epiléptica que no persiste a lo largo del tiempo. 2) Modelos de epilepsia, los cuales se reproducen las crisis epilépticas espontáneas y recurrentes que se observan en la epilepsia humana, por lo que se consideran crónicos. Los primeros se pueden generar a través de

estimulación eléctrica, la aplicación de sustancias químicas, inducción de hipoxia o por hipertermia. Se han empleado en gran medida para identificar fármacos capaces de detener las crisis epilépticas, mismos que han llegado a la práctica clínica. Sin embargo, entre sus desventajas se encuentran que algunos de los fármacos identificados en los modelos no previenen o evitan la epilepsia, ni sus comorbilidades y que no se pueden anticipar efectos adversos o tóxicos observados en los seres humanos (Simonato et al., 2014). Para más información ver la Tabla 1. Por otro lado, los modelos de epilepsia que se consideran crónicos y que tienen una alta propensión para inducir crisis epilépticas o epileptogénesis, disminuyen el umbral para su generación bajo una condición específica provocada, pero no de forma espontánea (Simonato et al., 2014). En esta categoría se encuentran el modelo del “*kindling*” (eléctrico o químico) o algunos abordajes genéticos (Tabla 1). Una de sus ventajas es que requieren menos tiempo y no requieren una implementación técnica para la identificación de la actividad epiléptica espontánea a través de videograbación y del electroencefalograma. Éstos permiten identificar tratamientos que reduzcan la posibilidad de presentar una crisis epiléptica, identificar el desarrollo de crisis resistentes al tratamiento farmacológico, o incluso pueden ser convenientes para identificar terapias útiles para tratar otras alteraciones que se presentan en comorbilidad con la epilepsia. Sin embargo, como ya se mencionó previamente, estos modelos no abordan la actividad epiléptica espontánea (Simonato et al., 2014).

En 2018, un grupo de investigadores en epilepsia (Devinsky et al., 2018) publicaron un listado de los principales modelos animales de epilepsia que se emplean hasta el momento y cuyos protagonistas son ratas y ratones. Los autores destacan en esta clasificación el tipo de epilepsia modelada, así como la causa de la epilepsia, es decir su etiología, ya sea estructural, debida a infecciones o por una causa genética (Tabla 2). La ventaja de estos modelos es que los roedores presentan crisis epilépticas de forma espontánea, por lo que son ideales para estudiar los dos mecanismos más relevantes en la epilepsia: la ictogénesis y la epileptogénesis (Figura 1). La ictogénesis se refiere a los cambios dinámicos responsables del inicio, progresión y término de una crisis epiléptica; mientras que la epileptogénesis es el proceso multifactorial que determina el desarrollo y extensión de tejido cerebral que genera crisis epilépticas espontáneas (Devinsky et al., 2018).

Tabla 1. Modelos de crisis epilépticas (Adaptada de Lidster et al., 2016).

Tipo	Modelo	Notas
Modelos agudos de crisis epilépticas		
Eléctricos	Estimulación eléctrica de 6 Hz	Se genera al aplicar corriente eléctrica a través de electrodos corneales.
	Crisis por electrochoque máximo	Se aplica un estímulo eléctrico (50-150 mA, 50-60 Hz, 0.2 s) a través de electrodos corneales o auriculares.
Químicos	Gama-hidroxibutirato (GHB)	GHB es un agonista del receptor GABA _B .
	Pentilentetrazol (PTZ)	Es un antagonista del receptor GABA _A .
	Pilocarpina (<i>status epilepticus</i>)	La pilocarpina es un agente colinérgico agonista de los receptores muscarínicos del tipo M1.
	Ácido kaínico (<i>status epilepticus</i>)	El ácido kaínico es un agonista de los receptores ionotrópicos glutamatérgicos tipo kainato; su activación permite el influjo de los iones sodio y calcio.
Modelos crónicos con alta propensión para generar crisis epilépticas o epileptogénesis		
Genéticos	Ratón <i>knockout</i> D2R	No expresa el receptor a dopamina tipo 2.
	Ratón <i>knockout</i> a En2	No expresa el factor de transcripción En2 (<i>Engrailed-2</i>)
Inducidos	<i>Kindling</i> eléctrico (corneal, hipocampal, amigdalino)	Se genera tras la aplicación continua de estímulos eléctricos subumbrales (que no producen crisis epilépticas) de 60 Hz que eventualmente producen crisis epilépticas generalizadas cada vez que se aplica.
	<i>Kindling</i> químico con PTZ	Se produce tras la administración repetida de una dosis subumbral de PTZ que eventualmente produce crisis epilépticas generalizadas cada vez que se administra.
	Hipoxia y/o isquemia	Se genera encefalopatía debido a hipoxia-isquemia perinatal producida por asfixia o por oclusión de la arteria media cerebral.

La información proporcionada es general, se sugiere seleccionar el modelo de interés y posteriormente identificar la literatura que brinde los aspectos teóricos y técnicos necesarios para su realización e interpretación.

Ética en el manejo de animales para el estudio de la epilepsia

Parte de la validación de un modelo animal en neurociencias implica realizarlo en condiciones controladas, y dentro de este aspecto necesariamente se incluye contemplar el bienestar integral del animal, es decir evitar estados y experiencias negativas y realizar todas las acciones necesarias para minimizar el malestar o dolor que los procedimientos propios del modelo o su generación pudieran producir. En el caso de los modelos de epilepsia, éstos tienen el potencial de causar dolor, sufrimiento, malestar y daño a largo plazo en los animales debido al método empleado para inducir la epilepsia o las crisis epilépticas, así como las comorbilidades asociadas a ésta y las alteraciones postictales (el periodo postictal es aquel que sigue a una crisis epiléptica) que se pueden presentar, así como a los instrumentos o procedimientos empleados para monitorear la actividad epileptiforme (Lidster et al., 2016).

Por lo tanto, el uso de animales para experimentación en epilepsia debe apegarse a las normas éticas relacionadas con su uso, y proveer a los animales de los 5 aspectos básicos para asegurar sus libertades: 1) Acceso a agua fresca y una dieta conveniente para mantenerlos sanos, 2) Un alojamiento adecuado que los proteja y permita su descanso 3) Medidas de prevención, diagnóstico y tratamiento rápido ante dolor, daño o enfermedad, 4) Condiciones que les permitan evitar miedo o angustia y 5) Instalaciones, espacio y compañía de congénere de su especie (Mellor, 2016). Al respecto de este último punto, es importante destacar que en aquellos modelos de epilepsia que implican una cirugía cerebral, ya sea para la administración intracerebral de fármacos o la colocación de sondas o electrodos para recolección de muestras o registros electrofisiológicos, se deben seguir todos los protocolos para una cirugía de supervivencia, manejo de dolor postoperatorio, y el animal debe alojarse de manera individual para evitar que otro congénere pueda afectar la manipulación realizada. Por ejemplo, en los modelos de epilepsia por traumatismo y en aquellos que son secundarios a *status epilepticus*, se debe atender celosamente el bienestar animal, pues en ocasiones se requiere de la asistencia por parte del experimentador para la alimentación de los animales para procurar su supervivencia. Así mismo, cuando se realiza un modelo animal de epilepsia se debe atender las tres R de Russell: 1) Reemplazar, al identificar modelos matemáticos o programas computacionales, experimentos *in vitro* o el uso de otras especies como gusanos o moscas, o incluso humanos, que pudieran responder la pregunta de investigación; 2) Reducir el número de sujetos de experimentación a emplear, utilizar estudios longitudinales, identificando los datos publicados

sobre el tema y discutiendo con otros colegas al respecto, para proveer el mejor diseño de los experimentos; y 3) Refinar los procedimientos realizados, por ejemplo mejorar la manipulación de los animales y entrenar eficientemente a quienes realizan los procedimientos quirúrgicos, atendiendo las condiciones de alojamiento e identificando las estrategias para el alivio de dolor de ser el caso, e incluso acortando la duración de los protocolos experimentales e implementando técnicas no invasivas (Tanner, 2018). Los protocolos experimentales que se aprueben deben asegurar que los animales no tengan un sufrimiento mayor al que *per se* promueva la alteración cerebral propia que se genera y que ésta se encuentre plenamente justificada por los beneficios que generar conocimiento sobre la epilepsia pueda brindar a las personas o a otras especies animales.

Tabla 2. Modelos de epilepsia en roedores vivos (rata y/o ratón)
(Adaptada de Devinsky et al., 2018).

Etiología (Tipo de epilepsia)	Modelo	Notas
ESTRUCTURAL		
Traumatismo encefálico (Múltiples)	Daño cortical inducido por percusión con fluido	Se produce una contusión cortical y daño subcortical leve (1.8-2.2 atm), moderado (2.4-2.8 atm) o severo (>2.8 atm).
	Daño inducido por impacto cortical controlado	El impacto mecánico (0.5-1.0 m/s) origina daño focal, necrosis y edema.
	Daño por corte cortical	Se corta la materia blanca localizada bajo la superficie cortical (corteza somatosensorial o asociación).
Status epilepticus (Epilepsia del lóbulo temporal)	Inducido por estimulación eléctrica del hipocampo o de la vía perforante	Se aplica estimulación eléctrica a través de un electrodo profundo.
	Inducido por sustancias químicas (químio-convulsivantes): aplicación intrahipocampal, intracortical o intraamigdalina de ácido kaínico o de la administración sistémica de pilocarpina o ácido kaínico	Las crisis epilépticas espontáneas aparecen entre 3-24 semanas después del <i>status epilepticus</i> . Esto varía con la edad del sujeto de estudio y el modelo empleado.
	Inducido por hipertermia	Se emplea aire caliente o agua caliente; la temperatura empleada es entre 40 y 48°C.

Infarto cerebral (Múltiples)	Fototrombosis cortical	La oclusión de los vasos cerebrales ocurre por la irradiación de un láser.
	Oclusión permanente de la arterial cerebral media	Se genera hipoxia-isquemia por obstrucción de la arteria cerebral media.
	Aplicación intracortical de endotelina 1	La endotelina-1 es un péptido vasoconstrictor.
Daño a la barrera hematoencefálica (Múltiples)	Exposición cortical o infusión intracerebroventricular de albúmina	La aplicación de albúmina mimetiza la disfunción de la barrera hematoencefálica.
	Infusión intracerebroventricular de TGF	El factor de crecimiento transformante tipo beta 1 (TGF β 1, <i>transforming growth factor-β1</i>) es una citoquina que produce disfunción neural.
Encefalopatías epilépticas del desarrollo (Espasmos infantiles)	Daño hipóxico-isquémico en ratas	Se produce por electrocoagulación de la arteria cerebral media y/o oclusión de la arteria carótida común.
	Modelo de impacto múltiple en ratas	Se genera con la aplicación de doxorubicina y lipopolisacárido, con o sin la administración intraperitoneal de p-clorofenilalanina.
	Aplicación intracortical o intrahipocampal de tetrodotoxina en ratas	La tetrodotoxina es un bloqueador de canales de sodio.
Displasia cortical (Múltiples)	Ratón knockout Pten, Dcx y Otx-1	Pten funciona como regulador negativo de la vía Pl3K, DCX es una proteína asociada a microtúbulos y el gen Otx-1 participa en la neocorticoogénesis.
	Ratón knockout PAFAH1B1 humano (también conocido con LS1)	PAFAH1B1 (<i>Platelet-activating factor acetylhydrolase IB subunit Alpha</i>) es un regulador de la mitosis neural.
	Ratón mutante Arx	ARX (<i>Aristales-related homeobox</i>) es un factor de transcripción implicado en el neurodesarrollo.
	Irradiación ionizante <i>in utero</i> de rata	Se emplea una fuente de irradiación Cesio-137.
	Agentes alquilantes <i>in utero</i>	Exposición prenatal a BCNU (<i>carmustine</i> (1,3-bis(2-chloroethyl)-1-nitrosourea) o MAM (<i>methylazoxymethanol acetate</i>).

Glioblastoma (Múltiples)	Trasplante neocortical de células de glioma humano en ratones SCID	SCID (<i>severe combined immunodeficient</i>) es un tipo genético de inmunodeficiencia severa.
	Trasplante neocortical de líneas celulares de glioma en rata	Se puede emplear la línea C6 de glioma de rata.
INFECCIOSA		
Encefalitis viral (Epilepsia del lóbulo temporal)	Virus de encefalitis murino de Theiler	Es un <i>Cardiovirus</i> de la familia <i>Picornaviridae theilovirus</i> . Produce desmielinización inflamatoria (aumento en la expresión de interleucina-6 y factor de necrosis tumoral alfa.
Malaria Cerebral (Múltiples)	Modelo murino de <i>Plasmodium berghei</i> de la cepa ANKA	Este parásito secuestra eritrocitos parasitados, uniéndolos al endotelio capilar de la microcirculación cerebral.
GENÉTICA		
Esclerosis tuberosa compleja	Ratón <i>knockout Tsc-2</i>	El gen <i>Tsc-1</i> codifica para hamartina y <i>Tsc-2</i> para tuberina. Intervienen en la señalización de la vía de mTOR.
	Ratón <i>knockout Tsc-1</i> célula específica condicional	
Mutaciones espontáneas (Epilepsia de ausencia)	Ratas con epilepsia de ausencia genética de Strasburgo (GAERS, por sus siglas en inglés)	Presentan una mutación que promueve un aumento en la expresión de canales de calcio dependientes de voltaje tipo T.
	Ratas Wistar Albino Glaxo Rijswijk (WAG/Rij)	Presentan una mutación que promueve un aumento en la expresión de canales de calcio dependientes de voltaje tipo T.
	Ratón Tottering	Presentan una mutación en el gen que codifica para la subunidad alfa 1A del canal de calcio tipo P/Q.
	Ratón letárgico	Presentan una mutación en el gen que codifica para la subunidad beta 4 del canal de calcio tipo P/Q.
	Ratón Stargazer	Presentan una mutación en el gen que codifica para la subunidad gama del canal de calcio tipo P/Q.
	Ratón Mocha 2j	Presentan una mutación en el gen que codifica para la subunidad delta del complejo AP-3.

	Ratón Ducky	Presentan una mutación en el gen que codifica para las subunidades alfa 2 y delta 2 del canal de calcio tipo P/Q.
	Mutación <i>knockin</i> condicional de Gabrg2 en ratones	El gen Gabrg2 codifica para la subunidad gama 2 del receptor GABA _A .
Mutaciones monogámicas inducidas (Múltiples)	Ratones <i>Knockout</i> o <i>knockin</i> con mutaciones en subunidades de canales iónicos dependientes de voltaje (sodio, potasio y calcio)	Por ejemplo mutación en el gen Kcna1.
	Mutaciones <i>Knockout</i> o <i>knockin</i> de subunidades de receptores GABA _A y nicotínico	El receptor GABA _A medía la hiperpolarización rápida producida por el influjo de iones de cloruro; el receptor nicotínico promueve despolarización neuronal debido al influjo de iones de sodio.
	Ratón <i>knockout</i> CStb	El gen <i>CStb</i> codifica para la proteína cistatina B que inhibe la actividad de catepsinas.
Encefalopatías epilépticas del desarrollo (Síndrome de Dravet; Espasmos infantiles)	Ratones <i>knockin</i> de mutaciones en SCN1A o SCN1B humano o ratones	El gen SCN1A y SCN1B codifican para la proteína (subunidad) alfa 1 y beta 1 del canal de sodio dependiente de voltaje, respectivamente.
	Ratón <i>knockout</i> condicionado Apc	El gen <i>apc</i> (<i>Adenoma polyposis coli</i>) codifica una proteína implicada en la supresión de tumores.
	Ratones <i>knockin</i> de mutaciones SCN8A humano	El gen SCN8A codifica para la proteína (subunidad) alfa 8 del receptor de sodio dependiente de voltaje.

La información proporcionada es general, se sugiere seleccionar el modelo de interés y posteriormente identificar la literatura que brinde los aspectos teóricos y técnicos necesarios para su realización e interpretación.

En México, la Norma Oficial Mexicana NOM-062 ZOO-1999 incluye las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Dentro de la clasificación de las actividades experimentales de acuerdo al grado de molestia, daño o invasión producido a los animales según el apéndice A de esta norma, los modelos de epilepsia se ubican principalmente en la categoría D, pues éstos pueden implicar procedimientos quirúrgicos que causen alteraciones sensoriales y motoras severas, persistentes o irreversibles en los animales o bien se aplican sus-

tancias químicas que promueven un desequilibrio en la función neuronal y favorecen la presentación de crisis epilépticas, es decir que alteran su fisiología.

Conclusiones

¿Qué han aportado los modelos animales al entendimiento de la epilepsia?

A pesar de que pudiera parecer repetitivo, se debe destacar que mucho de lo que sabemos hoy en día sobre la epilepsia, ha derivado del uso de modelos experimentales, de modelos animales, es decir de todos aquellos, gatos, perros, monos, ratas, ratones, moscas, gusanos, etc., con los cuales se pudo conocer y entender mejor porqué se genera una crisis epiléptica, cómo se autolimita o que pasa cuando este mecanismo falla, qué fármacos pueden limitar su aparición y cuáles pueden facilitarlas. Incluso, se utilizan modelos animales para estudiar las comorbilidades de la epilepsia. El principal objetivo de los modelos animales de epilepsia es conocer los mecanismos patológicos y genéticos que ocasionan la epileptogénesis, identificar blancos potenciales para el desarrollo de tratamientos que la contrarresten o que al menos sean eficaces en el control de la epilepsia. Recordemos que muchos, si no es que todos, los tratamientos que se emplean en los seres humanos deben pasar por una “fase preclínica”, que no es más que investigación básica con modelos animales, para posteriormente, si los resultados son alentadores, pasar a “la fase clínica”, misma que se realiza en las personas sanas y eventualmente en aquellas con la enfermedad. Por estas razones debe darse la relevancia correspondiente a los animales que se emplean para modelar una enfermedad, siempre siguiendo las normas éticas de su implementación y manejo, e identificando el modelo que mejor responda a la pregunta de investigación, lo que permitirá una mejor interpretación de los resultados obtenidos con su uso.

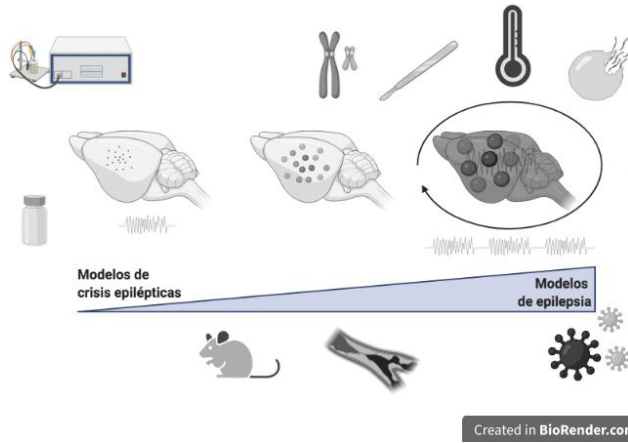


Figura 1. Los modelos animales de epilepsia se pueden categorizar en: 1) Modelos que promueven hiperexcitabilidad o una disminución en el umbral para producir una “crisis epiléptica” (agudos) y 2) Modelos de epilepsia (crónicos). Los primeros se caracterizan por promover cambios en la función neuronal, habitualmente en un cerebro normal, que ocurre en respuesta a un estímulo específico, lo que desencadena una crisis epiléptica, pero que no persiste a lo largo del tiempo. Los modelos de epilepsia reproducen las crisis epilépticas espontáneas y recurrentes que se observan en la epilepsia humana, por lo que se consideran crónicos. Los modelos de epilepsia pueden implicar el uso de estimulación eléctrica cerebral, fármacos que promueven excitación o disminuyen la inhibición neuronal, hipertermia, hipoxia/isquemia, inyección de albúmina intracerebral, sección de la corteza, infecciones por virus o parásitos y alteraciones genéticas que implican el uso de ratones modificados en su ADN, entre otros.

REFERENCIAS

- Baraban, S.C. (2009). Zebrafish as a Simple Vertebrate Organism for Epilepsy Research. En S.C. Baraban (Ed.), *Animal models of epilepsy. Methods and innovations* (pp 59-74). New York, USA: Editorial Humana Press.
- Berg, A. T., Berkovic, S. F., Brodie, M. J., Buchhalter, J., Cross, J. H., Van Emde Boas, W., Scheffer, I. E. (2010). Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: Report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005-2009. *Epilepsia*, 51(4), 676-685. doi.org/10.1111/j.1528-1167.2010.02522.x
- Devinsky, O., Vezzani, A., O'Brien, T. J., Jette, N., Scheffer, I. E., De Curtis, M., y Perucca, P. (2018). Epilepsy. *Nature Reviews Disease Primers*, 4 (May). doi.org/10.1038/nrdp.2018.24
- Doyle, A., McGarry, M.P., Lee, N.A. y Lee, J.J. (2012). The construction of transgenic and gene knockout/knockin mouse models of human disease. *Transgenic Research* 21 (2),327-49. doi: 10.1007/s11248-011-9537-3.
- Fisher, R. S., Van Emde Boas, W., Blume, W., Elger, C., Genton, P., Lee, P., y Engel, J. (2005). Response: Definitions proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE) [4]. *Epilepsia*, 46 (4), 470-472. doi.org/10.1111/j.1528-1167.2005.00273_4.x
- Fisher, R. S., Acevedo, C., Arzimanoglou, A., Bogacz, A., Cross, J. H., Elger, C. E., Wiebe, S. (2014). ILAE Official Report: A practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia*, 55 (4), 475-482. doi.org/10.1111/epi.12550
- Fisher, R. S., Cross, J. H., French, J. A., Higurashi, N., Hirsch, E., Jansen, F. E., Zuberi, S. M. (2017). Operational classification of seizure types by the International League Against Epilepsy: Position Paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*, 58 (4), 522-530. doi.org/10.1111/epi.13670
- García García, M. E., García Morales, I., y Matías Guiu, J. (2010). Modelos experimentales en epilepsia. *Neurología*, 25 (3), 181-188. doi.org/10.1016/S0213-4853(10)70007-4
- Lidster, K., Jefferys, J. G., Blümcke, I., Crunelli, V., Flecknell, P., Frenguelli, B. G., y Prescott, M. J. (2016). Opportunities for improving animal welfare in rodent models of epilepsy and seizures. *Journal of Neuroscience Methods*, 260, 2-25. doi.org/10.1016/j.jneumeth.2015.09.007
- Locke, C.J., Caldwell, K.A., y Caldwell G.A. (2009) The nematode, *Caenorhabditis elegans*, as an Emerging Model for investigating Epilepsy. En S.C. Baraban (Ed.), *Animal models of epilepsy. Methods and innovations* (1-25) New York, USA: Editorial Humana Press.
- López-Meraz, M.L., Beltrán-Parrázal, L., Pérez-Estudillo, C.A., y Morgado-Valle, C. (20017). La epilepsia vista desde un laboratorio. *Ciencia y Desarrollo*, 43 (290) 54-59. ISSN: 0185-0008. http://www.cienciaydesarrollo.mx/?p=articulo&id=270
- Mellor, D. J. (2016). Moving beyond the “Five freedoms” by updating the “five provisions” and introducing aligned “animalwelfare aims.” *Animals*, 6 (10), 1-8. doi.org/10.3390/ani6100059
- Noriega-Morales, G., y Shkurovich-Bialik, P. (2020). Situación de la epilepsia en México y América Latina. *Anales Médicos de La Asociación Médica Del Centro Médico ABC*, 65 (3), 224-232. doi.org/10.35366/95680
- NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.
- Reséndiz-Aparicio, J. C., Pérez-García, J. C., Olivas-Peña, E., García-Cuevas, E., Roque-Villavicencio, Y.L. Hernández-Hernández, M. Castro-Macías, J. I., y Rayo-Mares, J. (2019). Guía clínica. Definición y clasificación de la epilepsia. *Rev. Mex. de Neurociencia*, 20 (62-67).

Rosenblueth, A., y Wiener, N. (1945). The Role of Models in Science. *Chicago Journals*, 12 (4), 316–321. URL: www.jstor.org/stable/184253

Scheffer, I. E., Berkovic, S., Capovilla, G., Connolly, M. B., French, J., Guilhoto, L., y Zuberi, S. M. (2017). ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*, 58 (4), 512–521. doi.org/10.1111/epi.13709

Simonato, M., Brooks-Kayal, A. R., Engel, J., Galanopoulou, A. S., Jensen, F. E., Moshé, S. L., y French, J. A. (2014). The challenge and promise of anti-epileptic therapy development in animal models. *The Lancet Neurology*, 13 (9), 949–960. doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70076-6

Song, J., y Tanouye, M. A. (2009). The genetic and molecular biology of seizure susceptibility in *Drosophila*. En S.C. Baraban (Ed.), *Animal Models of Epilepsy: Methods and Innovations* (27–43). New York, USA: Editorial Humana Press. doi.org/10.1007/978-1-60327-263-6

Staley, K. (2015). Molecular mechanisms of epilepsy. *Nature Neuroscience*, 18 (3), 367–372. doi.org/10.1038/nn.3947

Tanner, R. (2018). The 3Rs: What are Medical Scientists Doing about Animal Testing? *Frontiers for Young Minds*, 6 (44), 1–8. doi.org/10.3389/frym.2018.00044

van der Staay, F. J. (2006). Animal models of behavioral dysfunctions: Basic concepts and classifications, and an evaluation strategy. *Brain Research Reviews*, 52 (1), 131–159. doi.org/10.1016/j.brainresrev.2006.01.006

Modelos animales para la búsqueda del placer

Marisela Hernández González

Pedro Manuel Cortes Esparza

Miguel Angel Guevara

Introducción

Al estudiar las bases neurales de la conducta, los modelos animales han jugado un papel fundamental. A través de la historia, largo ha sido el camino para conocer las bases neurofisiológicas del placer y más aún, para comprender y aceptar si los animales experimentan placer. ¿Cuán disparatada es la idea de evaluar el placer en los animales? Tal vez no tanto si nos regimos por la concepción de Aristóteles en la que se plantea que “el comportamiento animal tiene por objeto lo placentero, lo agradable, pues posee la tendencia natural a “sentirse bien” y su conducta viene motivada únicamente por deseos inmediatos, persiguiendo objetos concretos que contribuyen a su propia conservación y a la autoconservación de la especie” (tomado de Cruz-Ortiz, 2013 en referencia al *De Motu Animalium* de Aristóteles). Bajo esa concepción es que diversos trabajos de investigación han usado a los animales como modelo para el estudio del placer. En este capítulo hacemos una breve revisión a ese pasaje histórico con enfoque principal de los modelos animales que se han utilizado, así como a los preceptos actuales de las bases neurofisiológicas del placer.

El concepto de “placer”

De acuerdo con la Real Academia de la Lengua Española (RAE), la palabra “placer” se puede usar como un verbo intransitivo que hace referencia a “agradar o dar gusto”. Con esta definición el concepto de placer no queda claro. Por lo tanto, si buscamos la palabra como sujeto masculino, la RAE lo define como “goce o disfrute físico o espiritual producido por la realización o la percepción de algo que gusta o se considera bueno”. Si bien, esta definición es más descriptiva que la anterior, tiene elementos que son difíciles de comprender como lo son el “goce espiritual o algo bueno”. El mis-

mo concepto de placer parece ambiguo y libre a interpretación, ligado a una connotación moral y espiritual que pareciera ser únicamente aplicable al humano. Es por esto que no es de sorprender que a diferencia de otros estados afectivos como lo es dolor, el estudio del placer en los animales resulta muy controvertido (Balcombe, 2009).

Podemos remontar estos conceptos a la era de los filósofos griegos, donde Aristipo de Cirene cimentó las bases de la escuela cirenaica en la cual el placer tiene un papel central. Para el filósofo, el placer y el dolor son experiencias físicas que se perciben y relacionan, respectivamente, “a movimientos suaves o duros en la carne o el alma”. Ya desde entonces, se sientan las bases de la definición actual de placer que, aunque limitado a un componente cinético de la experiencia sensorial, deben pasar el umbral de la conciencia. Es entonces a Aristipo a quien podemos atribuir la idea de que el placer no se puede reducir a un simple evento físico (Wolfsdorf, 2020). Platón amplía estos conceptos proponiendo que el placer es resultado de llenar un vacío causado por determinada falta en nuestro organismo. *A priori* esta definición puede parecer estrictamente fisiológica, pero Platón hablaba de deficiencias no solo en el cuerpo, sino también en el espíritu, siendo la saciedad de estas últimas las que originan el placer más importante y verdadero (Montiel & Francisco, 1995). Aristóteles entonces, plantea una distinción entre estos placeres buenos y absolutos (relacionados al espíritu) de aquellos placeres relativos (relacionados al cuerpo), ya que solo son buenos en ausencia de deseo y dolor; propone que estos últimos, son los que evita un hombre moderado y los persiguen niños y bestias por igual (Montiel & Francisco, 1997). Las conclusiones de Aristóteles y otros filósofos respecto al placer, llevaron a la estigmatización de estas experiencias que son resultado de las necesidades del cuerpo y que comparámos con otras especies animales. La percepción de este tipo de placer como malo o indigno es quizá la causa del poco estudio de este componente afectivo, en comparación de otros como el dolor, cuya preponderancia es más evidente (Balcombe, 2009; Marshall, 1883; Norman, 1900) a pesar de que se reconocía la estrecha relación entre ellos (Cason, 1932; Nichols, 1892a; 1892b).

El placer como recompensa

Si bien, el estudio del placer como objeto directo en la ciencia es más reciente, esta experiencia sensorial es fundamental en la conducta animal (incluido al animal humano) y, por tanto, ha sido parte del estudio de diversos procesos cognitivos. Ya en 1690 John Locke proponía que el placer y

el dolor “pegan” las ideas en la memoria mucho mejor que la repetición o la atención, aunque el autor centraba su explicación en el dolor (Locke, 1948). Thorndike al establecer las bases experimentales del aprendizaje asociativo, usaba el concepto de placer como promotor de conductas en diferentes modelos animales, lo cual fundamentó la *ley del efecto* propuesta por el autor (Thorndike, 1898; 1911). La ley del efecto propone que cuando se hace una conexión entre una situación y una respuesta acompañada de un estado “satisfactorio” esta conexión se ve fortalecida (Thorndike, 1932). A este estímulo que fortalece la asociación estímulo-respuesta, Thorndike define como *recompensa* (Marks, 2011). Esto se convierte en un punto de inflexión para el estudio del placer, ya que no solo el placer se empieza a asociar de manera formal con un cambio en el estado interno del individuo, además de su valor afectivo (Cabanac, 1971; Stevenson, 1950), así el placer y la recompensa quedan unidos de manera estrecha en la literatura científica. Antes de esto, el término recompensa se usaba solamente en un contexto ético que contrastaba o incluso se contraponía al concepto del placer (Marks, 2011). Es entonces que esta nueva definición de recompensa, en este punto casi indistinguible al placer, se convierte en el enfoque principal de toda una línea de investigación fisiológica y conductual detalladamente estructurada, para la cual los modelos animales fueron una parte fundamental.

Fisiología del placer

En la época de Thorndike, el concepto que las emociones de “alto” orden como el dolor y el placer tuvieran origen en el cerebro no era reconocido por la comunidad científica (Olds, 1956). Hasta entonces el estudio de la recompensa era principalmente conductual. Para el estudio de este proceso Burrhus Frederic Skinner relacionó la magnitud de la recompensa a una respuesta conductual. Skinner usó como modelo experimental principal a las ratas y las palomas y desarrolló la caja experimental de Skinner, en la cual se inducía en el animal experimental el aprendizaje o asociación: así cada vez que presionaba una palanca, recibía una recompensa (como alimento o agua). Se concluía que, a mayor magnitud de la recompensa, el animal presionaba un mayor número de veces la palanca y por tanto esta conducta era reforzada (Skinner, 1935; 1938).

Uno de los primeros investigadores que empezó a asociar el cerebro con las emociones de manera formal fue James Papez. Papez trabajó con diferentes especies animales como simios o armadillos y propuso que diversas estructuras cerebrales, como el rinencéfalo y el hipotálamo, esta-

ban relacionadas a las emociones. Estas estructuras serían consideradas como parte del circuito de Papez (Papez, 1932; 1937).

A mediados del siglo XX, Olds, fundamentándose en los trabajos de Papez, inició el estudio de las bases fisiológicas de la recompensa. Olds tomó para su trabajo la metodología experimental de Walter Rudolf Hess, quien desarrolló una técnica que permitía estudiar la fisiología del cerebro de una manera poco invasiva para la época: consistía en introducir un electrodo delgado al cerebro para estimular eléctricamente diferentes estructuras. Mediante esta técnica, Hess estudió el sistema reticular y otras estructuras del tallo cerebral utilizando como modelo animal a los gatos (Hess, 1929; 1932; 1939). Así, tomando como base las observaciones de Papez en las estructuras que parecían estar relacionadas con el control de la conducta y la experiencia emocional, y combinando los abordajes metodológicos de Skinner (para el estudio de la conducta) y Hess (para los registros fisiológicos) Olds se dedicó a establecer una relación entre las estructuras cerebrales y el placer. Recibiendo la asesoría de Donald Hebb, James Olds desarrolló el siguiente paradigma experimental: cada vez que una rata presionaba la palanca al encontrarse en una caja de Skinner, en lugar de recibir una recompensa en forma de alimento, se estimulaban eléctricamente diferentes partes de su cerebro. Se observó así que la estimulación de ciertas estructuras cerebrales generaba una evitación del palanqueo mientras que otras, por el contrario, lo promovían. A estas últimas estructuras que al ser estimuladas provocaban un efecto de aumento en el palanqueo del animal (inclusive induciendo que dejara de comer o dormir), se les denominó como “los sitios del placer de Olds” (Olds, 1956).

Los reportes de Olds sirvieron de punto de partida para una serie de trabajos basados en el estudio de la recompensa usando la estimulación cerebral y paradigmas de reforzamiento conductual. Estos se realizaron en diferentes especies animales como gatos, conejos y primates encontrándose que la magnitud de la recompensa era dependiente de la ubicación anatómica del electrodo. Había lugares donde la colocación producía un reforzamiento leve de la conducta y propenso a la extinción, mientras que en otras ubicaciones este era igual de fuerte que el reportado al usar otros tipos de recompensas como la comida (Bower & Miller, 1958; Brodie et al., 1960). Por tanto, se llegó a la conclusión de que había múltiples áreas cerebrales que producían efectos recompensantes y se relacionaban a motivaciones básicas del individuo como la comida y el sexo (Kawakami & Sawyer, 1959; Olds, 1958).

Fue así como algunas investigaciones de la neurofisiología del placer se enfocaron en complementar la electrofisiología con otras técnicas para profundizar en el entendimiento de cómo estos mecanismos afectan la conducta. De entre ellas, llamó la atención cómo el uso de fármacos podía cambiar de manera radical los efectos de la estimulación eléctrica, abriendo paso al estudio de la neuroquímica del placer y la recompensa (Miller, 1958).

Neuroquímica del placer

Diversos estudios conductuales dieron pauta a establecer una relación entre la administración de sustancias químicas exógenas y la respuesta conductual de los animales. Por ejemplo, se observó en ratas y palomas que algunos fármacos servían de recompensa al promover conductas en paradigmas como la caja de Skinner, con igual o mayor eficacia que otros tipos de estímulos como la comida (Dews, 1955; Pickens & Harris, 1968). Se proponía que al igual que respuestas autónomas, como la respiración y la frecuencia cardíaca, la recompensa formaba una dupla antagónica con el castigo. El cese del placer genera un castigo, y de manera “simétrica” el cese del dolor tiene efectos recompensantes (Magoun, 1958; Stein, 1967). Por tanto, las observaciones conductuales en estos paradigmas de reforzamiento se pueden explicar por sistemas neurales específicos que, al igual que el resto de respuestas autónomas, son susceptibles a los efectos de determinadas sustancias químicas (Stein, 1967).

Las ideas anteriores fundamentaron el estudio de la interacción entre diferentes fármacos y la neuroquímica de las estructuras cerebrales relacionadas al placer y la recompensa descritas por Olds. Es entonces que los paradigmas experimentales de estimulación cerebral se acompañaron con la administración sistémica de diversos fármacos. Estos trabajos encontraron que, dependiendo de la sustancia administrada y el área estimulada, los efectos sobre la conducta podían ir desde exacerbar la respuesta conductual, hasta la extinción completa de la misma (Belluzzi & Stein, 1977; Edmonds & Gallistel, 1974; Fouriezos et al., 1978; Olds, 1970; Poschel & Ninteman, 1963). Así, el estudio detallado aplicando estos paradigmas experimentales llevó a definir a los sistemas neuroquímicos catecolaminérgicos como lo más relacionados a la recompensa (Poschel & Ninteman, 1963; Stein & Wise, 1973; Yokel & Wise, 1975).

Los estudios de la época se basaron en la premisa de que todas las neuronas involucradas en la recompensa contenían una catecolamina (adrenalina o dopamina) como neurotransmisor, a esta corriente se le llamó

“hipótesis de las catecolaminas” (Wise, 1978). Esta postura no estuvo exenta de críticas teóricas y metodológicas. Una de las más relevantes se basaba en el hecho de que la administración de fármacos podía tener efectos sobre la conducta, pero no por afectar el valor placentero del estímulo, sino por inhibir la capacidad del animal para ejecutar la conducta. Esto llevó a la apertura del debate de si estos efectos recompensantes se deberían asociar a valores subjetivos como el placer (que algunos autores no creían presentes en animales “inferiores”) (Wise, 1978). Sin embargo, se propuso que un neurotransmisor específico podría resolver estas discrepancias teóricas: la dopamina.

Roy Wise en 1980 hace una revisión de la literatura que hasta esa fecha se centraba en el estudio de la recompensa tanto por medios electrofisiológicos como farmacológicos. En ese momento no existía un consenso sobre cuál era la función real de estas áreas y sustancias químicas en la ejecución conductual, ¿Son parte de la experiencia subjetiva, placentera del individuo? ¿afectan componentes motores y cognitivos necesarios para su ejecución? Inclusive Olds refirió que el término “placer” de su propuesta podría ser muy precipitado. Sin embargo, Wise en ese año, propone que la dopamina podría servir como el verdadero “centro del placer” del cerebro. Esta propuesta se fundamenta en que las zonas cerebrales que producen una conducta de palanqueo en ratas suelen contener cuerpos de neuronas dopaminérgicas (Corbett & Wise, 1980). Además de esto, los efectos de la estimulación eléctrica se pueden ver abatidos por antagonistas dopaminérgicos sin que estos afecten la ejecución motora (Robertson & Mogensson, 1978). Este efecto se replica no solo en paradigmas con estimulación eléctrica, sino también en aquellos que usan recompensas “naturales” como la comida o el agua (Gerber et al., 1981; Wise et al., 1978). Entonces, con estas y otras líneas de evidencias, Wise plantea que la dopamina es central para transformar una experiencia sensorial fría y objetiva, en una afectiva o placentera, incluso en el modelo animal (Wise, 1980).

Placer y dopamina

A partir de la propuesta de Wise, el estudio del papel de la dopamina en el proceso de recompensa tuvo un auge importante. Se estudió a detalle el efecto de la administración de agonistas y antagonistas dopaminérgicos sobre respuestas conductuales como el palanqueo o la preferencia de lugar en diferentes modelos animales. Efectivamente, la administración de agonistas dopaminérgicos favorecía estos cambios conductuales (Robbins et al., 1989; Yokel & Wise, 1975) mientras que los antagonistas suprimían

los efectos recompensantes de estímulos con fuertes efectos sobre la conducta como lo es la heroína (Spyraki et al., 1983; Stellar et al., 1983). Además de esto, los estímulos recompensantes como la cocaína, la comida e incluso la conducta sexual se asociaron, en ratas, con un aumento en los niveles extracelulares de dopamina en estructuras cerebrales como el núcleo accumbens (Hernández & Hoebel, 1988; Pfaus et al., 1990; Wenkstern et al., 1993).

Aunque parecía que la dopamina era esencial para la experiencia placentera y recompensante del individuo, aún quedaban ciertas dudas sobre su papel en este fenómeno. Una de las partes fundamentales de estas críticas se basaba en que los antagonistas dopaminérgicos parecían diferir en su efecto sobre las propiedades recompensantes de una familia de sustancias químicas: los opioides. Si bien, como se ha mencionado antes, hay evidencia de que la dopamina puede alterar la recompensa causada por los opioides, también había estudios que reportaban que la recompensa generada por estas sustancias era independiente a la dopamina (Ågmo & Berenfeld, 1990; Van Ree & Ramsey, 1987). Se empezó entonces a establecer la relación entre estas dos sustancias químicas del cerebro, encontrándose que la recompensa mediada por opioides se asociaba con dos estructuras dopaminérgicas en específico, el núcleo accumbens y el área tegmental ventral (Wise, 1989). Esta evidencia llevó a que el sistema dopaminérgico mesocorticolímbico (que incluye a estas dos estructuras) fuera objeto de estudio para la recompensa asociada tanto con la administración de opioides como a otros tipos de recompensas (Fibiger & Phillips, 1988).

Se encontró, usando monos como modelo animal, que las neuronas del sistema dopaminérgico presentaban una mayor tasa de respuesta frente a estímulos que predecían una recompensa (Schultz, 1998; Schultz et al., 1993). La administración de opioides en áreas de este sistema, como el núcleo accumbens, aumentaba los efectos conductuales en paradigmas de condicionamiento en ratas (Cunningham & Kelley, 1992). Efectivamente, la administración de recompensas tipo opioide, se asoció con un aumento en la tasa de respuesta de neuronas del área tegmental ventral (Matthews & German, 1984) y a su vez, la liberación de opioides en el área tegmental ventral con la liberación de dopamina en el accumbens (Leone et al., 1991). Estas evidencias llevaron a algunos autores a proponer que la interacción entre el sistema dopaminérgico y el opioide podía ser más compleja de lo que se pensaría en un inicio (Ågmo et al., 1993).

Placer, recompensa e incentivo

Después de casi dos décadas de estudio del papel de la dopamina en el placer y la recompensa, la literatura científica aún cuestionaba el papel real de esta catecolamina en tales procesos. Si bien, había evidencia de que los estímulos recompensantes se asociaban a mayores concentraciones de dopamina en estructuras del sistema mesocorticolímbico, por otro lado, algunos autores reportaban que no todos los cambios conductuales eran dependientes de la presencia de este neurotransmisor. Es entonces que el trabajo de Garris y colaboradores en 1999 contribuyó de manera importante en unificar los resultados experimentales obtenidos hasta esa fecha. Estos autores utilizaron el paradigma de estimulación eléctrica en ratas con electrodos en el área tegmental ventral mientras medían la liberación de dopamina en el núcleo accumbens. Se encontró que, cuando la estimulación eléctrica se producía en zonas sin innervación dopaminérgica, no se liberaba dopamina y por tanto la conducta de palanqueo de la rata no se veía promovida. Sin embargo, lo interesante fue que la dopamina no se liberaba durante la estimulación eléctrica, inclusive parecía disminuir. Los aumentos en la concentración de dopamina solo ocurrían durante las primeras sesiones de estimulación, una vez que la rata consolidaba el aprendizaje de la tarea ya no se detectaban cambios en los niveles de dopamina. Estos aumentos en la concentración de dopamina se encontraban también frente a señales que predecían una recompensa, como lo son sonidos, pero no durante el estímulo recompensante. Lo anterior llevó a los autores a proponer que la dopamina no se asociaba a los componentes placenteros de la estimulación. Parecía que la dopamina se relacionaba a aspectos novedosos, predictivos u otro aspecto de la recompensa independiente de la experiencia placentera (Garris et al., 1999).

Con este trabajo se llegó a la propuesta de que la dopamina actúa como una señal a la detección de estímulos relevantes del medio ambiente, los cuales están asociados a la obtención de una recompensa. A estos estímulos se les llamó *incentivos*. También parecía ser una señal que marca el aprendizaje de esta asociación (Spanagel & Weiss, 1999). Pero entonces, ¿Dónde está la señal hedónica o placentera?

Berridge y Robinson en 1998, un año antes del trabajo de Garris, abordaron esta pregunta, y presentaron una serie de experimentos que complementaban muchas de las preguntas que quedaban sobre el papel de la dopamina en la recompensa. Cabe mencionar que estos autores eran conscientes de las dificultades de medir una experiencia subjetiva, como lo es el placer de manera objetiva, y más aún, en el modelo animal. Por tan-

to, para trabajar en ello, Berridge y Robinson cambiaron la palabra placer, por su sinónimo en griego, *hedonismo* y hablaron de reacciones afectivas que señalaban los “gustos” y “disgustos” evaluados por el cerebro, aunque no fueran parte de la experiencia consciente (Berridge & Robinson, 1998). Con esto los autores hablaban del placer en términos de una experiencia hedónica de *gustar* o *disgustar*, aspectos comprobables incluso en el modelo animal.

Los autores entonces, iniciaron estos trabajos preguntándose si la dopamina participaba en la experiencia hedónica del animal, o si bien era parte del aprendizaje de la recompensa y de la predicción asociativa. Para abordar esta pregunta se basaron en los trabajos descritos por Grill y Norgren en los cuales la experiencia afectiva de los animales se podía asociar con cambios en las expresiones faciales, los cuales eran independientes al aprendizaje en una tarea experimental (Grill & Norgren, 1978a; 1978b). Por tanto, en el trabajo de Berridge y Robinson se utilizaron dos soluciones, una “agradable” que contenía sucrosa y otra “desagradable” que contenía quinina. Así, cuando las ratas consumían la solución agradable mostraban expresiones faciales de gusto, cuya duración estaba relacionada a la magnitud de la experiencia hedónica. De manera complementaria, el consumo de la solución desagradable conllevaba expresiones faciales de disgusto. Entonces, los autores lesionaron por completo el sistema dopaminérgico de las ratas y observaron el efecto que este tratamiento tenía sobre el gusto o disgusto por ambas soluciones. Se encontró que después de la lesión, las ratas seguían respondiendo (en términos de expresiones faciales) de manera normal a ambas soluciones, por lo cual los autores concluyeron que la dopamina no estaba asociada a la experiencia hedónica del individuo. Inclusive, la lesión dopaminérgica no afectó la capacidad de estas ratas de cambiar la asociación hedónica del individuo de una experiencia placentera a una displacentera ni tampoco impedía el aumento de estas respuestas por medios farmacológicos (Berridge & Robinson, 1998).

Con estos trabajos y revisando la literatura hasta el momento, Berridge propone que la recompensa no es un evento único, sino que está compuesta por una serie de procesos, los cuales se pueden dividir en tres principales: el gustar, el querer y el aprender. El *gustar* se refiere a la experiencia hedónica (placentera) del individuo que contiene información afectiva de la experiencia sensorial. Este componente, se propone, está asociado a los sistemas de neurotransmisión opioide y endocannabinoide particularmente en estructuras del sistema límbico. El *querer* está asociado a los estímulos que buscamos o las metas que perseguimos. Si bien está

relacionado con el gustar, a veces, queremos cosas que no nos gustan o viceversa. A este *querer* los autores le llaman *saliencia incentiva*, un tipo de motivación que promueve la aproximación y/o consumo de estímulos que son considerados una recompensa. Es en este componente donde el autor propone que la dopamina tiene un papel preponderante. Por último, se propone que existe el *aprender*, el cual permite la asociación estímulo-recompensa y por lo tanto modifica el valor incentivo de los estímulos. El autor menciona que este componente se puede separar del querer ya que algunas metodologías (por ejemplo, la depleción de electrolitos y su subsecuente búsqueda de sal) modifican el valor incentivo del estímulo sin ser dependientes de ningún tipo de aprendizaje. Además, esto explicaría las diferentes estrategias que toman los individuos al momento de presentar estímulos predictores de recompensa, como lo son los buscadores de signos contra los buscadores de metas (Berridge et al., 2009). Es entonces que el autor centra su propuesta en que lo que nos gusta (placer), lo que queremos (incentivo) y como aprendemos son parte de un continuo con elementos en común pero que son disociables, y que en su conjunto forman lo que conocemos como el proceso de recompensa (Berridge, 2001; Berridge & Robinson, 1998 Berridge et al., 2009).

Placer en la actualidad

A partir de la investigación realizada hasta esa fecha y la propuesta de Berridge, muchos investigadores empezaron a asociar principalmente a los sistemas opioides como los encargados de “codificar” el placer (Kut et al., 2011; Leknes & Tracey, 2008; White, 2004). Sin embargo, esta visión actual no está libre de críticas, uno de los puntos importantes es cómo interpretamos y entendemos el cerebro afectivo. Regresando a las definiciones iniciales de placer, éstas incluyen una experiencia consciente en el individuo que las experimenta. Sin embargo, como se ha mostrado a lo largo de este capítulo, gran parte de la investigación del placer y el proceso de recompensa se ha fundamentado en los modelos animales. Algunos autores han planteado que los mecanismos de respuesta en los paradigmas de condicionamiento no son necesariamente parte de una experiencia consciente y, por lo tanto, a pesar de su contribución al fenómeno, no reflejan la experiencia afectiva que es en esencia subjetiva (LeDoux, 2012; 2014). Entonces, ¿Tiene sentido estudiar el placer en los modelos animales? Como en todas las áreas de la ciencia no hay una respuesta concluyente a esta pregunta. Sin embargo, al integrar el conocimiento que hemos adquirido a partir de los modelos animales y predecir cómo es que esperamos que es-

tas experiencias placenteras subjetivas se vean modificadas en el humano, se han encontrado resultados congruentes (Heiskanen et al., 2019; Nummenmaa & Tuominen, 2018). Esto refleja la importancia y la utilidad de los modelos animales para entender la neurofisiología de los procesos afectivos y constituyen una base sólida para seguir en “la búsqueda del placer”.

REFERENCIAS

- Ágmo, A., & Berenfeld, R. (1990). Reinforcing properties of ejaculation in the male rat: Role of opioids and dopamine. *Behavioral Neuroscience*, 104(1), 177-182.
<https://doi.org/10.1037/0735-7044.104.1.177>
- Ágmo, A., Federman, I., Navarro, V., Padua, M., & Velazquez, G. (1993). Reward and reinforcement produced by drinking water: Role of opioids and dopamine receptor subtypes. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 46(1), 183-194.
[https://doi.org/10.1016/0091-3057\(93\)90339-U](https://doi.org/10.1016/0091-3057(93)90339-U)
- Balcombe, J. (2009). Animal pleasure and its moral significance. *Applied Animal Behaviour Science*, 118(3), 208-216.
<https://doi.org/10.1016/j.applanim.2009.02.012>
- Belluzzi, J. D., & Stein, L. (1977). Enkephalin may mediate euphoria and drive-reduction reward. *Nature*, 266(5602), 556-558.
- Berridge, K. C. (2001). Reward learning: Reinforcement, incentives, and expectations. *The psychology of learning and motivation: Advances in research and theory*, 40, 223-278.
- Berridge, K. C., & Robinson, T. E. (1998). What is the role of dopamine in reward: Hedonic impact, reward learning, or incentive salience? *Brain Research Reviews*, 28(3), 309-369.
[https://doi.org/10.1016/S0165-0173\(98\)00019-8](https://doi.org/10.1016/S0165-0173(98)00019-8)
- Berridge, K. C., Robinson, T. E., & Aldridge, J. W. (2009). Dissecting components of reward: 'Liking', 'wanting', and learning. *Current Opinion in Pharmacology*, 9(1), 65-73.
<https://doi.org/10.1016/j.coph.2008.12.014>
- Bower, G. H., & Miller, N. E. (1958). Rewarding and punishing effects from stimulating the same place in the rat's brain. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 51(6), 669.
- Brodie, D. A., Moreno, O. M., Malis, J. L., & Boren, J. J. (1960). Rewarding Properties of Intracranial Stimulation. *Science*, 131(3404), 929-930.
<https://doi.org/10.1126/science.131.3404.929-a>
- Cabanac, M. (1971). Physiological Role of Pleasure. *Science*, 173(4002), 1103-1107.
<https://doi.org/10.1126/science.173.4002.1103>
- Cason, H. (1932). The pleasure-pain theory of learning. *Psychological Review*, 39(5), 440-466.
<https://doi.org/10.1037/h0075963>
- Corbett, D., & Wise, R. A. (1980). Intracranial self-stimulation in relation to the ascending dopaminergic systems of the midbrain: A moveable electrode mapping study. *Brain research*, 185(1), 1-15.
- Cruz-Ortiz, M.M.(2013) ¿Cómo experimentan placer los animales? Una aproximación desde Aristóteles. *Thémata*47, 103-119.
- Cunningham, S. T., & Kelley, A. E. (1992). Evidence for opiate-dopamine cross-sensitization in nucleus accumbens: Studies of conditioned reward. *Brain Research Bulletin*, 29(5), 675-680.
[https://doi.org/10.1016/0361-9230\(92\)90137-M](https://doi.org/10.1016/0361-9230(92)90137-M)
- Dews, P. B. (1955). Studies on Behavior. I. Differential Sensitivity to Pentobarbital of Pecking Performance in Pigeons Depending on the Schedule of Reward. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 113(4), 393-401.
- Edmonds, D. E., & Gallistel, C. R. (1974). Parametric analysis of brain stimulation reward in the rat: III. Effect of performance variables on the reward summation function. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 87(5), 876-883.
<https://doi.org/10.1037/h0037217>

- Fibiger, H. C., & Phillips, A. G. (1988). Mesocorticolimbic dopamine systems and reward. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 537, 206-215.
<https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1988.tb42107.x>
- Fouriez, G., Hansson, P., & Wise, R. A. (1978). Neuroleptic-induced attenuation of brain stimulation reward in rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 92(4), 661.
- Garris, P. A., Kilpatrick, M., Bunin, M. A., Michael, D., Walker, Q. D., & Wightman, R. M. (1999). Dissociation of dopamine release in the nucleus accumbens from intracranial self-stimulation. *Nature*, 398(6722), 67-69.
- Gerber, G. J., Sing, J., & Wise, R. A. (1981). Pimozide attenuates lever pressing for water reinforcement in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 14(2), 201-205.
- Grill, H. J., & Norgren, R. (1978a). The taste reactivity test. I. Mimetic responses to gustatory stimuli in neurologically normal rats. *Brain Res*, 143(2), 263-279.
- Grill, H. J., & Norgren, R. (1978b). The taste reactivity test. II. Mimetic responses to gustatory stimuli in chronic thalamic and chronic decerebrate rats. *Brain research*, 143(2), 281-297.
- Heiskanen, T., Leppä, M., Suvilehto, J., Elomaa, M., Akural, E., Larinkoski, T., Jääskeläinen, I., Sams, M., Nummenmaa, L., & Kalso, E. (2019). The opioid agonist remifentanyl increases subjective pleasure. *British Journal of Anaesthesia*, 122(6), e216-e219.
<https://doi.org/10.1016/j.bja.2019.03.031>
- Hernandez, L., & Hoebel, B. G. (1988). Food reward and cocaine increase extracellular dopamine in the nucleus accumbens as measured by microdialysis. *Life sciences*, 42(18), 1705-1712.
- Hess, W. R. (1929). Brain stimulation experiments on the mechanism of sleep. *Session report) Archive Fuer Psychiatrie*, 86, 287.
- Hess, W. R. (1932). Beiträge zur Physiologie des Hirnstammes. *Leipzig: Georg Thieme*.
- Hess, W. R. (1939). Physiology of the brain stem. *Journal of the American Medical Association*, 112(18), 1851-1851.
<https://doi.org/10.1001/jama.1939.02800180075031>
- Kawakami, M., & Sawyer, C. H. (1959). Induction of behavioral and electroencephalographic changes in the rabbit by hormone administration or brain stimulation. *Endocrinology*, 65(4), 631-643.
<https://doi.org/10.1210/endo-65-4-631>
- Kut, E., Candia, V., Overbeck, J. von, Pok, J., Fink, D., & Folkers, G. (2011). Pleasure-Related Analgesia Activates Opioid-Insensitive Circuits. *Journal of Neuroscience*, 31(11), 4148-4153.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3736-10.2011>
- LeDoux, J. E. (2012). Rethinking the Emotional Brain. *Neuron*, 73(4), 653-676.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.02.004>
- LeDoux, J. E. (2014). Coming to terms with fear. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(8), 2871-2878.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1400335111>
- Leknes, S., & Tracey, I. (2008). A common neurobiology for pain and pleasure. *Nature Reviews Neuroscience*, 9(4), 314-320.
<https://doi.org/10.1038/nrn2333>
- Leone, P., Pocock, D., & Wise, R. A. (1991). Morphine-dopamine interaction: Ventral tegmental morphine increases nucleus accumbens dopamine release. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 39(2), 469-472.
- Locke, J. (1948). *An essay concerning human understanding*, 1690. En W. Dennis (Ed.), *Century psychology series. Readings in the history of psychology* (p. 55-68). Appleton-Century-Crofts.
<https://doi.org/10.1037/11304-008>
- Magoun, H. W. (1958). *The waking brain*.
- Marks, L. E. (2011). A Brief History of Sensation and Reward. En J. A. Gottfried (Ed.), *Neurobiology of Sensation and Reward*. CRC Press/Taylor & Francis.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK92791/>

- Marshall, J. (1883). Bradshaw Lecture on Nerve-Stretching for the Relief or Cure of Pain. *British Medical Journal*, 2(1198), 1173-1179.
- Matthews, R. T., & German, D. C. (1984). Electrophysiological evidence for excitation of rat ventral tegmental area dopamine neurons by morphine. *Neuroscience*, 11(3), 617-625. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(84\)90004-8](https://doi.org/10.1016/0306-4522(84)90004-8)
- Miller, N. E. (1958). Central stimulation and other new approaches to motivation and reward. *American Psychologist*, 13(3), 100-108. <https://doi.org/10.1037/h0042452>
- Montiel, M., & Francisco, J. (1995). El tema del placer en Platón. <https://riuma.uma.es/xmlui/handle/10630/13402>
- Montiel, M., & Francisco, J. (1997). El placer en las «Éticas» de Aristóteles. *Excerpta Philologica* 7-8, 33-48. <https://rodin.uca.es/xmlui/handle/10498/10479>
- Nichols, H. (1892a). The Origin of Pleasure and Pain, I. *The Philosophical Review*, 1(4), 403-432. <https://doi.org/10.2307/2175940>
- Nichols, H. (1892b). The Origin of Pleasure and Pain, II. *The Philosophical Review*, 1(5), 518-534. <https://doi.org/10.2307/2175704>
- Norman, W. W. (1900). Do the reactions of the lower animals against injury indicate pain sensations? *American Journal of Physiology-Legacy Content*, 3(6), 271-284. <https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1900.3.6.271>
- Nummenmaa, L., & Tuominen, L. (2018). Opioid system and human emotions. *British Journal of Pharmacology*, 175(14), 2737-2749. <https://doi.org/10.1111/bph.13812>
- Nussbaum, M. C.: "The *De Motu Animalium* and Aristotle's Scientific Method", en su obra *Aristotle's De Motu Animalium*. Princeton: University Press, 1978, p. 246.
- Olds, J. (1956). Pleasure Centers in the Brain. *Scientific American*, 195(4), 105-117. <http://www.jstor.org/stable/24941787>
- Olds, J. (1958). Self-Stimulation of the Brain: Its Use To Study Local Effects of Hunger, Sex, and Drugs. *Science*, 127(3294), 315-324. <https://doi.org/10.1126/science.127.3294.315>
- Olds, M. E. (1970). Comparative effects of amphetamine, scopolamine, chlórdiazepoxide, and diphenylhydantoin on operant and extinction behavior with brain stimulation and food reward. *Neuropharmacology*, 9(6), 519-532. [https://doi.org/10.1016/0028-3908\(70\)90002-X](https://doi.org/10.1016/0028-3908(70)90002-X)
- Papez, J. W. (1932). The thalamic nuclei of the nine-banded armadillo (*Tatusia novemcincta*). *Journal of Comparative Neurology*, 56(1), 49-103.
- Papez, J. W. (1937). A proposed mechanism of emotion. *Archives of Neurology & Psychiatry*, 38(4), 725-743. <https://doi.org/10.1001/archneurpsyc.1937.02260220069003>
- Pfaus, J. G., Damsma, G., Nomikos, G. G., Wenkstern, D. G., Blaha, C. D., Phillips, A. G., & Fibiger, H. C. (1990). Sexual behavior enhances central dopamine transmission in the male rat. *Brain Research*, 530(2), 345-348. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(90\)91309-5](https://doi.org/10.1016/0006-8993(90)91309-5)
- Pickens, R., & Harris, W. C. (1968). Self-administration of d-amphetamine by rats. *Psychopharmacologia*, 12(2), 158-163.
- Poschel, B. P. H., & Ninteman, F. W. (1963). Norepinephrine: A possible excitatory neurohormone of the reward system. *Life Sciences*, 2(10), 782-788. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(63\)90087-0](https://doi.org/10.1016/0024-3205(63)90087-0)
- Robbins, T. W., Cador, M., Taylor, J. R., & Everitt, B. J. (1989). Limbic-striatal interactions in reward-related processes. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 13(2), 155-162. [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(89\)80025-9](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(89)80025-9)

- Robertson, A., & Mogenson, G. J. (1978). Evidence for a role of dopamine in self-stimulation of the nucleus accumbens of the rat. *Canadian Journal of Psychology/Revue canadienne de psychologie*, 32(2), 67-76.
<https://doi.org/10.1037/h0081677>
- Schultz, W. (1998). Predictive Reward Signal of Dopamine Neurons. *Journal of Neurophysiology*, 80(1), 1-27.
<https://doi.org/10.1152/jn.1998.80.1.1>
- Schultz, W., Apicella, P., & Ljungberg, T. (1993). Responses of monkey dopamine neurons to reward and conditioned stimuli during successive steps of learning a delayed response task. *Journal of Neuroscience*, 13(3), 900-913.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.13-03-00900.1993>
- Skinner, B. F. (1935). The Generic Nature of the Concepts of Stimulus and Response. *The Journal of General Psychology*, 12(1), 40-65.
<https://doi.org/10.1080/00221309.1935.9920087>
- Skinner, B. F. (1938). *The behavior of organisms: An experimental analysis*. Appleton-Century. Oxford, England.
- Spanagel, R., & Weiss, F. (1999). The dopamine hypothesis of reward: Past and current status. *Trends in neurosciences*, 22(11), 521-527.
- Spyraki, C., Fibiger, H. C., & Phillips, A. G. (1983). Attenuation of heroin reward in rats by disruption of the mesolimbic dopamine system. *Psychopharmacology*, 79(2), 278-283.
<https://doi.org/10.1007/BF00427827>
- Stein, L. (1967). Chemistry of reward and punishment. *Psychopharmacology: A review of progress*, 105-123.
- Stein, L., & Wise, C. D. (1973). Amphetamine and noradrenergic reward pathways. En E. Usdin & S. H. Snyder (Eds.), *Frontiers in Catecholamine Research* (pp. 963-968). Pergamon.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-017922-3.50183-0>
- Stellar, J. R., Kelley, A. E., & Corbett, D. (1983). Effects of peripheral and central dopamine blockade on lateral hypothalamic self-stimulation: Evidence for both reward and motor deficits. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 18(3), 433-442.
[https://doi.org/10.1016/0091-3057\(83\)90466-5](https://doi.org/10.1016/0091-3057(83)90466-5)
- Stevenson, I. (1950). Physical Symptoms During Pleasurable Emotional States. *Psychosomatic Medicine*, 12(2), 98-102.
- Thorndike, E. L. (1898). Animal intelligence: An experimental study of the associative processes in animals. *The Psychological Review*, 5(5), 551-553.
<https://doi.org/10.1037/h0067373>
- Thorndike, E. L. (1911). *Animal Intelligence: Experimental Studies*. Cornell University Library; Macmillan.
- Thorndike, E. L. (1932). *The fundamentals of learning*. Columbia University, Teachers College Bureau of Publications.
<https://doi.org/10.1037/10976-000>
- Van Ree, J. M., & Ramsey, N. (1987). The dopamine hypothesis of opiate reward challenged. *European Journal of Pharmacology*, 134(2), 239-243.
[https://doi.org/10.1016/0014-2999\(87\)90172-5](https://doi.org/10.1016/0014-2999(87)90172-5)
- Wenkstern, D., Pfaus, J. G., & Fibiger, H. C. (1993). Dopamine transmission increases in the nucleus accumbens of male rats during their first exposure to sexually receptive female rats. *Brain Research*, 618(1), 41-46.
[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(93\)90426-N](https://doi.org/10.1016/0006-8993(93)90426-N)
- White, J. M. (2004). Pleasure into pain: The consequences of long-term opioid use. *Addictive Behaviors*, 29(7), 1311-1324.
<https://doi.org/10.1016/j.addbeh.2004.06.007>
- Wise, R. A. (1978). Catecholamine theories of reward: A critical review. *Brain Research*, 152(2), 215-247.
[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(78\)90253-6](https://doi.org/10.1016/0006-8993(78)90253-6)

- Wise, R. A. (1980). The dopamine synapse and the notion of 'pleasure centers' in the brain. *Trends in Neurosciences*, 3(4), 91-95.
[https://doi.org/10.1016/0166-2236\(80\)90035-1](https://doi.org/10.1016/0166-2236(80)90035-1)
- Wise, R. A. (1989). Opiate reward: Sites and substrates. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 13(2), 129-133.
[https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(89\)80021-1](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(89)80021-1)
- Wise, R. A., Spindler, J., DeWit, H., & Gerberg, G. J. (1978). Neuroleptic-induced "anhedonia" in rats: Pimozide blocks reward quality of food. *Science*, 201(4352), 262-264.
- Wolfsdorf, D. C. (2020). *Early Greek Ethics*. Oxford University Press.
- Yokel, R. A., & Wise, R. A. (1975). Increased Lever Pressing for Amphetamine after Pimozide in Rats: Implications for a Dopamine Theory of Reward. *Science*, 187(4176), 547-549.

El topillo de la pradera: modelo para entender la neurobiología de las conductas sociales complejas

María Fernanda López-Gutiérrez

Wendy Portillo

Raúl G. Paredes

Introducción

En nuestra especie las interacciones sociales, así como las relaciones de pareja sanas y duraderas, son fundamentales para nuestra salud emocional y física. De esta forma las personas que se encuentran en relaciones estables de pareja tienen un mejor desempeño cognitivo, son más longevos, su sistema inmune y cardiovascular es más saludable y desarrollan menos cuadros depresivos. En caso de que exista progeñie, las relaciones estables de pareja también conllevan a un cuidado intensivo de sus hijos por ambos progenitores, lo cual favorece la sobrevivencia, desarrollo y educación de la descendencia (House, Landis, & Umberson, 1988; Kiecolt-Glaser & Newton, 2001; Sarkadi, Kristiansson, Oberklaid, & Bremberg, 2008). En familias de un solo progenitor este se ve agobiado, entre otras, por las largas horas laborales que afectan la calidad del cuidado y las relaciones con sus hijos (Weinraub & Wolf, 1983) lo cual puede resultar en deserción escolar, incremento en la posibilidad de embarazos no deseados durante la adolescencia, problemas conductuales en los varones y psicológicos en las mujeres (Ellis et al., 2003; Krein and Beller, 1988; Sarkadi et al., 2007). Estos efectos negativos de los cuidados uniparentales son más notorios en familias de escasos recursos y en países en vías de desarrollo (Brady and Burroway, 2012).

Las bases neurobiológicas de las conductas sociales en el humano aún no se conocen completamente, debido a que la dinámica de la formación de vínculos de pareja, así como los efectos de los cuidados parentales, por

ejemplo, en la modulación del comportamiento social de la progenie, son muy complejos dado el alto grado de sofisticación de nuestro sistema nervioso. Además, estándares éticos no permiten su abordaje experimental, por lo que el uso de modelos animales es una gran herramienta para estudiar estas conductas.

En los mamíferos, únicamente el 5-9% de las especies son socialmente monógamas, esta estrategia reproductiva se caracteriza por un sistema de apareamiento en el cual dos individuos consistentemente copulan entre ellos (Tecot, Singletary, & Eadie, 2015) y/o forman vínculos de pareja, lo cual conlleva a cuidados biparentales de la progenie. Los vínculos de pareja se definen como una relación social a largo plazo que se extiende más allá de una estación reproductiva, entre individuos del sexo opuesto (Lukas & Clutton-Brock, 2013; Numan & Young, 2015).

En los últimos años y dentro de las especies socialmente monógamas, es el topillo de la pradera (*Microtus ochrogaster*) quien ha sido muy utilizado para estudiar las bases neurobiológicas y los mecanismos de plasticidad neuronal involucrados en los vínculos de pareja, así como los efectos de los cuidados biparentales sobre la expresión de las conductas sociales complejas de la progenie. Es una especie que se puede mantener fácilmente en condiciones de laboratorio donde conserva su comportamiento natural. Los topillos sexualmente vírgenes también se caracterizan por presentar de manera innata cuidados alopARENTALES es decir tanto el macho como la hembra colaboran activamente en el cuidado de las crías. Los topillos de la pradera pertenecen a la familia de los crisetidos, son endémicos de las praderas del norte de Estados Unidos y sur de Canadá. En la naturaleza los miembros de esta especie viven en parejas macho-hembra, siendo grupos comunales pequeños compuestos por solo una pareja reproductiva y sus crías así como individuos solitarios, lo cual se asemeja a la variabilidad biológica presente también en nuestra especie (Getz & Carter, 1996).

En la edad adulta, las crías del topillo de la pradera pueden dejar el nido parental y buscar una pareja sexual. A diferencia de otros roedores, las hembras no presentan ciclo estral al llegar a la madurez sexual. Las hembras entran en receptividad sexual cuando son expuestas a feromonas de machos no emparentados (Smale, Nelson, & Zucker, 1985; Taylor, Salo, & Dewsbury, 1992). La cópula por seis horas o la cohabitación sin interacción sexual por 24 horas induce un vínculo de pareja, caracterizado por una preferencia hacia la pareja sexual y la agresión hacia otros congéneres. La pareja comparte y defiende su territorio desplegando conductas parentales, por lo que se forman sólidas estructuras familiares (Ahern,

Hammock, & Young, 2011; Insel, Preston, & Winslow, 1995; Perkeybile, Griffin, & Bales, 2013; Wang, Hulihan, & Insel, 1997). Una vez que los vínculos de pareja se han constituido, estos lazos los mantienen unidos hasta la muerte, ya que generalmente el sobreviviente no busca una nueva pareja (Gobrogge, 2014; Perkeybile et al., 2013; K. A. Young, Gobrogge, Liu, & Wang, 2011).

En el vínculo de pareja se requiere que los individuos consoliden una memoria por su compañero sexual, esta memoria es fundamental para llevar a término la gestación. Si la hembra es expuesta durante los primeros 17 días de preñez a un macho diferente con el que copuló, la hembra aborta (efecto Bruce) (Smale, 1988). Como se puede apreciar entonces el sistema olfatorio es crucial para la inducción de la receptividad sexual, el reconocimiento de la pareja sexual, el mantenimiento de la gestación y evitar el incesto en este modelo animal.

En este capítulo describiremos las principales regiones neuronales y los neuromoduladores involucrados en la formación de los vínculos de pareja, así como los cambios en la plasticidad neuronal inducidos por esta conducta. Los cambios de plasticidad neuronal en los que nos enfocaremos serán la neurogénesis adulta y cambios en la conectividad funcional. Posteriormente se abordarán algunas alteraciones en la formación de vínculos de pareja y los cuidados alopARENTALES de los topillos criados por solo un progenitor.

Regiones neuronales y neuromoduladores involucrados en la formación de vínculos de pareja

Actualmente se tiene un buen conocimiento de las vías neuronales y los neuromoduladores involucrados en la formación del vínculo de pareja. Se proponen dos procesos plásticos en la formación del vínculo: la formación de la memoria de la pareja, es decir, su representación neural; y la formación de una preferencia selectiva por la pareja, la cual implica el mantenimiento del vínculo (Walum & Young, 2018). Dada la complejidad de estas conductas, participan tanto mecanismos hormonales como circuitos neuronales relacionados al procesamiento sensorial y al sistema mesolímbico; este último se asocia a mecanismos de memoria y recompensa. La convergencia de estos circuitos se ha denominado la red de toma de decisiones sociales (*social-decision making network*; SDM) (O'Connell & Hofmann, 2011). Estas redes se encuentran moduladas principalmente por hormonas esteroides, dopamina, oxitocina, y arginina-vasopresina. Aunque también participan el glutamato, el ácido- -amino-butírico y el factor li-

berador de corticotropinas (Walum & Young, 2018). En particular, se ha prestado especial atención a los primeros, ya que diversos estudios han demostrado su relevancia en la formación y mantenimiento del vínculo de pareja. El núcleo paraventricular del hipotálamo es el centro de síntesis tanto de oxitocina como vasopresina, y gracias a que posee numerosas proyecciones (Vertes & Hoover, 2008), un gran número de regiones de la SDMN responden a la liberación de estos neuromoduladores y expresan sus receptores.

En la primera etapa de la formación del vínculo, el macho y la hembra sexualmente maduros inician sus primeras interacciones socio-sexuales, realizándose un reconocimiento sensorial y contextual, lo cual incrementa la liberación de oxitocina, optimizando la extracción de información social a través del sistema olfatorio (Oettl et al., 2016). El procesamiento de esta información a través de la amígdala medial determinará si el estímulo tiene o no relevancia sexual (Yao, Bergan, Lanjuin, & Dulac, 2017). El septum lateral, sitio de relevo de información de relevancia social, modulará la información proveniente de regiones asociadas a la memoria, como la corteza retrosplenial, la corteza prefrontal y la formación hipocampal; de estructuras asociadas a recompensa, como el núcleo accumbens, el pálido ventral y el área ventral tegmental; y de regiones que participan en procesos de estímulo-respuesta (amígdala basolateral) y toma de decisiones (corteza cingulada anterior) (Lopez-Gutierrez et al., 2021; Ophir, 2017), Figura 1. De esta forma se integra la información contextual y social a las que se les puede asignar una valencia de recompensa. La actividad conjunta de esta red conducirá al individuo a tomar la decisión de continuar o no la interacción social con el otro y se generará una respuesta conductual acorde. Si los individuos cohabitan el tiempo suficiente, o copulan (Williams, Catania, & Carter, 1992), se generará una asociación entre el estímulo sensorial relacionado al conespecífico, con una valencia positiva de recompensa, formándose así el vínculo de pareja (L. J. Young & Wang, 2004), Figura 1. La activación de receptores de oxitocina, dopamina y arginina-vasopresina durante este proceso, serán necesarios para que ocurran cambios plásticos en este circuito neuronal (Aragona et al., 2006). Estos cambios favorecerán la formación de la memoria asociada al individuo con el que se hizo el vínculo, así como la preferencia a este sobre conespecíficos extraños. Así, tanto la conectividad funcional cerebral como el grado de expresión de receptores de arginina-vasopresina y de oxitocina, en algunas estructuras integrando esta red, se relacionarán al nivel de preferencia por la pareja y al grado de sociabilidad particular de cada indi-

viduo (Lopez-Gutierrez et al., 2021; Ophir, 2017). Además de participar en la formación del vínculo de pareja en el topillo de la pradera, la oxitocina, la arginina-vasopresina y la dopamina también inducen cambios plásticos en estas regiones para la formación de un vínculo con las crías y fomentar su cuidado tanto por parte de la madre como del padre (Tabbaa, Lei, Liu, & Wang, 2017). Principalmente, la activación de receptores de oxitocina en el área preóptica media es esencial para la expresión de conductas parentales (Rogers & Bales, 2019), aunado a que la activación de receptores de dopamina en el núcleo accumbens incrementa conductas de cuidado parental como la limpieza de las crías (Lei, Liu, Smith, Lonstein, & Wang, 2017). Siendo el vínculo materno una conducta social evolutivamente muy antigua en el reino animal, no es de sorprender que los circuitos neuronales relacionados a su modulación hayan evolucionado también para extender conductas de vínculo social más allá del núcleo familiar (Numan & Young, 2016).

Cambios en la plasticidad neuronal inducidos por la formación del vínculo de pareja

Neurogénesis adulta. La neurogénesis adulta es uno de los mecanismos de plasticidad neuronal estudiado en la formación del vínculo de pareja. Por muchos años se postuló que la producción de nuevas neuronas finalizaba después del nacimiento. Sin embargo, estudios en aves y mamíferos han demostrado que la generación de neuronas es un proceso constante durante las diferentes etapas del desarrollo del individuo y puede ser un mecanismo involucrado en los procesos plásticos cerebrales (Altman & Das, 1965; Goldman & Nottebohm, 1983; Yuan, Li, Ding, & Arias-Carrion, 2014).

Durante la edad de algunos mamíferos se pueden integrar nuevas neuronas en el bulbo olfatorio y en el giro dentado del hipocampo (revisión en (Bedos, Portillo, & Paredes, 2018; Portillo, 2019). Las células nuevas que llegan al bulbo olfatorio se originan en la zona subventricular, donde residen las células troncales neurales que generan neuronas, y que migran a través de la vía migratoria rostral y son incorporadas al bulbo olfatorio principal y accesorio. Las neuronas nuevas pueden facilitar y generar nuevos circuitos olfatorios, los cuales son estimulados por conductas como la elección de la comida o la selección de la pareja sexual (revisión en (Bedos et al., 2018; Portillo, 2019).

La neurogénesis adulta tiene un papel fundamental en la conducta sexual y materna, en la formación de memoria de la pareja, en la gestación,

entre otros procesos fisiológicos y conductuales. Sakamoto, demostró que la disminución/eliminación de la neurogénesis adulta, genera que los ratones macho monten menos y un bajo porcentaje, al eyacular, forme tapones vaginales en la hembra. En las hembras por su parte se provocó una baja tasa de gestación y no desplegaron cuidados maternos (Sakamoto et al., 2011). Si en el ratón hembra se inhibe la neurogénesis la memoria de pareja sexual no se establece, por lo que el ratón hembra no reconocer al macho con el que copuló y en presencia de este aborta (Oboti et al., 2011). Mientras que, en la rata macho, la inhibición de la neurogénesis genera una disminución en la eficiencia copulatoria (número de intromisiones/número de intromisiones más la frecuencia de monta) (Lau et al., 2011).

En el topillo se ha propuesto que la neurogénesis adulta puede ser un mecanismo de plasticidad neuronal subyacente a la formación de los vínculos de pareja. En la hembra se ha demostrado que la inducción del estro, por la exposición al macho, incrementa en un 90% la proliferación celular en la vía migratoria rostral y el 80% de las células expresan marcadores de neuronas inmaduras (Smith, Pencea, Wang, Luskin, & Insel, 2001). De manera similar se incrementa la proliferación celular en la amígdala y en el hipotálamo por la cohabitación con un macho y se induce la formación de vínculos de pareja, (Fowler, Liu, Ouimet, & Wang, 2002). Asimismo, las hembras gestantes alojadas con machos y sacrificadas tres días después del parto, mostraron un incremento en la supervivencia de células nuevas en la amígdala y en el hipotálamo (Fowler et al., 2002). Nuestro grupo demostró que las hembras de topillos de la pradera que cohabitaron y copularon con un macho por 45 días tienen un incremento en la supervivencia de neuronas nuevas en el bulbo olfatorio principal, y en la supervivencia de células nuevas en el giro dentado del hipocampo (Castro et al., en preparación), estas células nuevas pueden estar involucradas en la formación de la memoria de la pareja sexual. En el topillo macho, nuestro grupo recientemente demostró que el vínculo de pareja incrementa la proliferación celular en la región dorsal de la zona subventricular y el giro dentado del hipocampo, así como incrementa el número de neuronas inmaduras en la región infrapiramidal del giro dentado del hipocampo (Castro et al., 2020). Los machos que han establecido un vínculo de pareja disminuyen el número de neuronas nuevas que sobreviven en el bulbo olfatorio principal y el giro dentado. Esto es, la neurogénesis adulta puede estar involucrada en los vínculos de pareja en el topillo de la pradera. Se requieren más estudios para determinar si las células nuevas se

integran a los circuitos neuronales y determinar si tienen una función en la memoria de la pareja sexual.

Cambios en la conectividad funcional

Aunque se conocen muchas de las regiones neuronales que están involucradas en los vínculos de pareja en el topillo, las interacciones entre estas estructuras no se han descrito completamente. Una herramienta para poder dilucidar estos mecanismos es la conectividad funcional, la cual es definida como la correlación temporal de distintas regiones del cerebro que genera información sobre la relación entre patrones de activación neuronal y redes neuronales (Friston, Frith, Liddle, & Frackowiak, 1993). Nuestro grupo de investigación caracterizó las redes neuronales en el topillo de la pradera utilizando la imagen por resonancia magnética (IRM). El estudio se realizó en un resonador Bruker Pharmascan 70/16US, de 7 teslas. En este estudio identificamos entre 10 y 30 componentes de conectividad funcional, entre ellos los componentes de la red por defecto (default mode network; DMN) y la red de saliencia (Ortiz, Portillo, Paredes, Young, & Alcauter, 2018). La red de defecto se define como un grupo de estructuras cerebrales que son parte de un sistema funcional, son más activas en estado de reposo o cuando los sujetos no están concentrados en una tarea; mientras que la red de saliencia está involucrada en eventos biológicos, cognitivos y emocionales; esta red está involucrada en desórdenes mentales como la depresión, la ansiedad, el autismo y la esquizofrenia. En la red por defecto, se observó una correlación entre la actividad de la corteza prefrontal y el núcleo accumbens, estructuras que al aumentar su conectividad funcional favorecen la formación del vínculo de pareja en la hembra. Recientemente mediante un estudio longitudinal de análisis de IRM funcional en estado de reposo, realizado en nuestro grupo de trabajo, encontramos cambios en las redes cerebrales de los topillos de la pradera machos y hembras como consecuencia de la formación y mantenimiento del vínculo de pareja (Lopez-Gutierrez et al., 2021). Estos estudios se realizaron cuando los sujetos no habían tenido contacto físico con un topillo del sexo opuesto (basal), posteriormente cada pareja sexual cohabitó y copuló libremente por 24 h, los sujetos fueron escaneados para determinar los cambios en la conectividad funcional en respuesta a la formación del vínculo de pareja. Este vínculo fue evaluado mediante la prueba de preferencia de pareja. Esta prueba se realizó en una caja con tres compartimentos. Los laterales se separan del central por rejillas de acrílico con pequeños orificios. El topillo experimental se coloca en el compartimento central y

en cada uno de los laterales a la pareja sexual o a un topillo del sexo contrario no conocido del sujeto experimental (extraño). En esta prueba el topillo experimental puede oler, ver y escuchar a los dos animales estímulo, pero no puede interactuar físicamente con ellos. Se registra el tiempo que pasa en la proximidad de cada animal estímulo y la latencia de acurrucarse con uno de los topillos, este parámetro indica conducta afiliativa previa al vínculo de pareja. Posteriormente los topillos fueron escaneados a los 15 días para determinar la conectividad funcional inducida por el mantenimiento del vínculo de pareja. Nuestros resultados demuestran que, antes de la cohabitación con cópula en los topillos de la pradera macho y hembra, entre más alta es la conectividad entre el pálido ventral - amígdala medial - septum lateral - área ventral tegmental - corteza retrosplenial - núcleo paraventricular, núcleo paraventricular - corteza retroesplenial - amígdala basolateral - núcleo accumbens - corteza del cíngulo anterior - núcleo accumbens-giro dentado del hipocampo, es más corta la latencia para acurrucarse (huddling). Es decir, la conectividad funcional en esta red corticoestriatal predice el inicio de la conducta afiliativa en el topillo de la pradera. Esta red está entonces involucrada en la saliencia social, la memoria y el reconocimiento social, la memoria espacial y las redes de recompensa. Después de que los topillos cohabitaron y copularon con su pareja sexual se encontró una correlación lineal entre el tiempo que pasan interactuando socialmente (tiempo con su pareja sexual más el tiempo con el topillo extraño) y la red integrada por el septum lateral - núcleo accumbens - corteza medial prefrontal - amígdala medial - pálido ventral - bulbo olfatorio principal y giro dentado. Por lo que esta red predice las interacciones sociales durante la preferencia de pareja. También se encontraron cambios en la conectividad funcional entre la corteza del cíngulo anterior - amígdala basolateral - hipocampo dorsal - septum lateral - corteza medial prefrontal - núcleo accumbens - corteza retroesplenial - hipotálamo ventral - pálido ventral y área ventral tegmental, cuando se compararon la línea basal (antes de cohabitar y copular), la formación (24 horas de cohabitación con cópula) y el mantenimiento (15 días de cohabitación con cópula) del vínculo de pareja. Esto es, una conducta social compleja como son los vínculos de pareja induce cambios en la conectividad funcional de redes cerebrales involucrados en la formación de la memoria de congéneres, la conducta sexual y las conductas recompensantes.

Actualmente nuestro grupo está interesado en dilucidar la conectividad funcional en topillos criados en familias uniparentales que presentan alteraciones en las conductas afiliativas. De la misma manera se pueden

evaluar los cambios en la conectividad en estas redes cerebrales en topillos expuestos a drogas de abuso que disrumpen la dinámica de los vínculos de pareja.

Efectos de los cuidados paternales sobre las conductas socio-sexuales de los topillos de la pradera

Los cuidados parentales son la primera relación social en nuestra especie, donde es habitual que ambos progenitores inviertan en el cuidado de la descendencia. El cuidado biparental es una estrategia adoptada por los mamíferos que aumenta la eficacia biológica al incrementar las posibilidades de supervivencia de la descendencia. Los topillos de la pradera son una especie que despliega altos cuidados biparentales, ambos progenitores se coordinan para el cuidado de la camada para evitar dejar desatendido el nido y defenderlo de otros congéneres y depredadores (Ahern et al., 2011; Perkeybile et al., 2013).

En el topillo de la pradera, se ha demostrado que la ausencia de un progenitor durante el desarrollo tiene un impacto sobre la conducta social de las crías y los mecanismos neuroquímicos que las modulan (Tabbaa et al., 2017). Los topillos que son criados únicamente por su madre (familia uniparental), se encuentran más tiempo desatendidos en el nido, reciben menos acicalamiento y pesan menos que los animales que son cuidados por ambos padres. Estas diferencias se deben a una disminución en el enriquecimiento social y no a la malnutrición (Ahern et al., 2011). En las crías con poca estimulación sensorial o de cuidado uniparental, se han reportado cambios en la expresión de genes relevantes en múltiples regiones cerebrales para la manifestación de la conducta social (Hiura & Ophir, 2018; Perkeybile et al., 2019; Seelke, Perkeybile, Grunewald, Bales, & Krubitzer, 2016), influyendo en la función endócrina y conducta socio-sexual en la etapa adulta (Ahern & Young, 2009; Bales et al., 2007; Hiura & Ophir, 2018; Keebaugh & Young, 2011; Perkeybile et al., 2019).

En la edad adulta las hembras criadas solamente por su madre presentan una disminución en las conductas alopARENTALES espontaneas dirigidas a las crías (Ahern & Young, 2009) y despliegan con sus propias crías menos cuidados maternales en comparación a las hembras criadas por sus dos padres (Ahern et al., 2011). Así mismo, los topillos criados en familias uniparentales muestran un retraso en la formación del vínculo de pareja (Ahern & Young, 2009). De esta forma, los topillos hembra y macho adultos criados en familias con sus dos padres requieren de 24 horas de cohabitación con su pareja sexual para formar una preferencia selectiva por esta.

En cambio, machos y hembras criados en familias uniparentales después de 24 horas de cohabitación, no muestran preferencia por su pareja sexual en comparación con un individuo extraño del sexo opuesto. Estos sujetos requieren hasta una semana de cohabitación para preferir a su pareja sexual (Ahern & Young, 2009). Este efecto se ha atribuido a la experiencia social temprana, la cual en este roedor depende principalmente de la recepción de estímulos sensoriales por parte de los padres. Diversos investigadores (Seelke et al., 2016). Rogers y Bales (Rogers & Bales, 2020) han demostrado que los topillos hembra criados por su madre con la ayuda de una hermana mayor de una camada anterior, recibieron una mayor cantidad de cuidados parentales que los topillos criados solo por su madre y topillos criados por su madre y padre, debido a que la hermana despliega conductas alopARENTALES que son en mayor cantidad que los cuidados del padre. Cuando las hembras fueron criadas por su madre y hermana llegan a la edad adulta, copulan y cohabitan con el macho con quien establecieron un vínculo de pareja en un tiempo similar a lo observado por los topillos hembras criados por ambos progenitores. Es decir que en la hembra el incremento en los cuidados posnatales obtenidos por la madre y una hermana revierten el retraso en la formación del vínculo de pareja observado en sujetos en crianza uniparental. Interesantemente los machos criados por la madre y la hermana, en la edad adulta después de la cohabitación con cópula muestran un retraso en la formación del vínculo de pareja de forma similar a los machos criados en familias uniparentales. En los machos otras características exclusivas del padre juegan un papel preponderante en esta conducta afiliativa. La crianza con la madre y la hermana mayor no modificó sustancialmente en la progenie las conductas alopARENTALES.

Conclusión

El topillo de la pradera es una especie que en los últimos años ha cobrado una gran relevancia para el estudio de las bases neuronales de conductas sociales complejas como son los vínculos de pareja y los efectos de los cuidados paternos sobre las conductas sociales de la progenie. Estos conocimientos en ciencia básica contribuirán a entender las alteraciones en las conductas sociales en nuestra especie ya que las deficiencias en la habilidad o motivación para conectarse con otros impacta profundamente en la vida de los individuos con desordenes en las conductas sociales como el autismo, desordenes bipolares, depresión ansiedad y esquizofrenia.

Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo de UNAM-DGAPA-PAPIIT proyectos IN202818, IN208221 e IN203518-3. María Fernanda López Gutiérrez es estudiante del programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas, de la UNAM y recibe beca del CONACYT (600922).

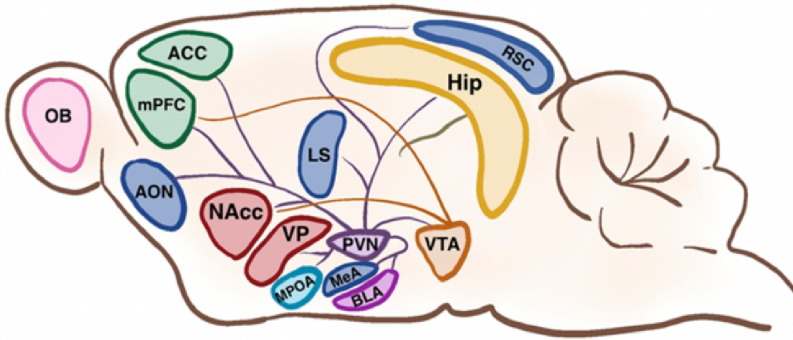


Figura 1: Regiones cerebrales involucradas en el circuito del vínculo de pareja en el topillo de la pradera. Las regiones en color azul se han asociado a procesamiento de información de relevancia contextual y social, las regiones en color rojo a la asignación de valencias de recompensa, y las color verde a la toma de decisiones y conducta motivada. El núcleo paraventricular (PVN) sitio de síntesis de oxitocina y vasopresina, tiene proyecciones a regiones de la corteza, de la formación hipocámpal y del sistema mesolímbico; la liberación de estos nanopéptidos es necesaria para la modulación de la conducta social. El área ventral tegmental (VTA) es el principal núcleo de síntesis de dopamina y la liberación de esta es necesaria para la formación del vínculo y modular conductas de motivación y de recompensa. ACC: corteza cingulada anterior. AON: núcleo olfatorio anterior. BLA: amígdala basolateral. Hip: hipocampo. LS: septum lateral. MeA: amígdala medial. mPFC: corteza medial prefrontal. MPOA: área preóptica media. NAcc: núcleo accumbens. OB: bulbo olfatorio. RSC: corteza retrosplenial. VP: pallidum ventral.

REFERENCIAS

- Ahern, T. H., Hammock, E. A., & Young, L. J. (2011). Parental division of labor, coordination, and the effects of family structure on parenting in monogamous prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Dev Psychobiol*, 53(2), 118-131. doi:10.1002/dev.20498
- Ahern, T. H., & Young, L. J. (2009). The impact of early life family structure on adult social attachment, alloparental behavior, and the neuropeptide systems regulating affiliative behaviors in the monogamous prairie vole (*microtus ochrogaster*). *Front Behav Neurosci*, 3, 17. doi:10.3389/neuro.08.017.2009
- Altman, J., & Das, G. D. (1965). Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. *J Comp Neurol*, 124(3), 319-335. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=5861717
- Aragona, B. J., Liu, Y., Yu, Y. J., Curtis, J. T., Detwiler, J. M., Insel, T. R., & Wang, Z. (2006). Nucleus accumbens dopamine differentially mediates the formation and maintenance of monogamous pair bonds. *Nat Neurosci*, 9(1), 133-139. doi:10.1038/nn1613
- Bales, K. L., van Westerhuyzen, J. A., Lewis-Reese, A. D., Grotte, N. D., Lanter, J. A., & Carter, C. S. (2007). Oxytocin has dose-dependent developmental effects on pair-bonding and alloparental care in female prairie voles. *Horm Behav*, 52(2), 274-279. doi:10.1016/j.yhbeh.2007.05.004
- Bedos, M., Portillo, W., & Paredes, R. G. (2018). Neurogenesis and sexual behavior. *Front Neuroendocrinol*, 51, 68-79. doi:10.1016/j.yfrne.2018.02.004
- Castro, A. E., Young, L. J., Camacho, F. J., Paredes, R. G., Diaz, N. F., & Portillo, W. (2020). Effects of Mating and Social Exposure on Cell Proliferation in the Adult Male Prairie Vole (*Microtus ochrogaster*). *Neural Plast*, 2020, 8869669. doi:10.1155/2020/8869669
- Fowler, C. D., Liu, Y., Ouimet, C., & Wang, Z. (2002). The effects of social environment on adult neurogenesis in the female prairie vole. *J Neurobiol*, 51(2), 115-128. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11932953>
- Friston, K. J., Frith, C. D., Liddle, P. F., & Frackowiak, R. S. (1993). Functional connectivity: the principal-component analysis of large (PET) data sets. *J Cereb Blood Flow Metab*, 13(1), 5-14. doi:10.1038/jcbfm.1993.4
- Gobrogge, K. L. (2014). Sex, drugs, and violence: neuromodulation of attachment and conflict in voles. *Curr Top Behav Neurosci*, 17, 229-264. doi:10.1007/7854_2013_264
- Goldman, S. A., & Nottebohm, F. (1983). Neuronal production, migration, and differentiation in a vocal control nucleus of the adult female canary brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 80(8), 2390-2394. Retrieved from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=6572982
- Hiura, L. C., & Ophir, A. G. (2018). Interactions of sex and early life social experiences at two developmental stages shape nonapeptide receptor profiles. *Integr Zool*, 13(6), 745-760. doi:10.1111/1749-4877.12338
- House, J. S., Landis, K. R., & Umberson, D. (1988). Social relationships and health. *Science*, 241(4865), 540-545. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3399889>
- Insel, T. R., Preston, S., & Winslow, J. T. (1995). Mating in the monogamous male: behavioral consequences. *Physiol Behav*, 57(4), 615-627. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7777594>

- Keebaugh, A. C., & Young, L. J. (2011). Increasing oxytocin receptor expression in the nucleus accumbens of pre-pubertal female prairie voles enhances alloparental responsiveness and partner preference formation as adults. *Horm Behav*, 60(5), 498-504. doi:10.1016/j.yhbeh.2011.07.018
- Kiecolt-Glaser, J. K., & Newton, T. L. (2001). Marriage and health: his and hers. *Psychol Bull*, 127(4), 472-503. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11439708>
- Lau, B. W., Yau, S. Y., Lee, T. M., Ching, Y. P., Tang, S. W., & So, K. F. (2011). Effect of corticosterone and paroxetine on masculine mating behavior: possible involvement of neurogenesis. *J Sex Med*, 8(5), 1390-1403. doi:10.1111/j.1743-6109.2010.02081.x
- Lei, K., Liu, Y., Smith, A. S., Lonstein, J. S., & Wang, Z. (2017). Effects of pair bonding on parental behavior and dopamine activity in the nucleus accumbens in male prairie voles. *Eur J Neurosci*, 46(7), 2276-2284. doi:10.1111/ejn.13673
- Lopez-Gutierrez, M. F., Gracia-Tabuenca, Z., Ortiz, J. J., Camacho, F. J., Young, L. J., Paredes, R. G., . . . Alcauter, S. (2021). Brain functional networks associated with social bonding in monogamous voles. *Elife*, 10. doi:10.7554/eLife.55081
- Lukas, D., & Clutton-Brock, T. H. (2013). The evolution of social monogamy in mammals. *Science*, 341(6145), 526-530. doi:10.1126/science.1238677
- Numan, M., & Young, L. J. (2015). Neural mechanisms of mother-infant bonding and pair bonding: Similarities, differences, and broader implications. *Horm Behav*. doi:10.1016/j.yhbeh.2015.05.015
- Numan, M., & Young, L. J. (2016). Neural mechanisms of mother-infant bonding and pair bonding: Similarities, differences, and broader implications. *Horm Behav*, 77, 98-112. doi:10.1016/j.yhbeh.2015.05.015
- O'Connell, L. A., & Hofmann, H. A. (2011). The vertebrate mesolimbic reward system and social behavior network: a comparative synthesis. *J Comp Neurol*, 519(18), 3599-3639. doi:10.1002/cne.22735
- Oboti, L., Schellino, R., Giachino, C., Chamerio, P., Pyrski, M., Leinders-Zufall, T., . . . Peretto, P. (2011). Newborn interneurons in the accessory olfactory bulb promote mate recognition in female mice. *Front Neurosci*, 5, 113. doi:10.3389/fnins.2011.00113
- Oettl, L. L., Ravi, N., Schneider, M., Scheller, M. F., Schneider, P., Mitre, M., . . . Kelsch, W. (2016). Oxytocin Enhances Social Recognition by Modulating Cortical Control of Early Olfactory Processing. *Neuron*, 90(3), 609-621. doi:10.1016/j.neuron.2016.03.033
- Ophir, A. G. (2017). Navigating Monogamy: Nonapeptide Sensitivity in a Memory Neural Circuit May Shape Social Behavior and Mating Decisions. *Front Neurosci*, 11, 397. doi:10.3389/fnins.2017.00397
- Ortiz, J. J., Portillo, W., Paredes, R. G., Young, L. J., & Alcauter, S. (2018). Resting state brain networks in the prairie vole. *Sci Rep*, 8(1), 1231. doi:10.1038/s41598-017-17610-9
- Perkeybile, A. M., Carter, C. S., Wroblewski, K. L., Puglia, M. H., Kenkel, W. M., Lillard, T. S., . . . Connelly, J. J. (2019). Early nurture epigenetically tunes the oxytocin receptor. *Psychoneuroendocrinology*, 99, 128-136. doi:10.1016/j.psyneuen.2018.08.037
- Perkeybile, A. M., Griffin, L. L., & Bales, K. L. (2013). Natural variation in early parental care correlates with social behaviors in adolescent prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Front Behav Neurosci*, 7, 21. doi:10.3389/fnbeh.2013.00021
- Portillo, W. N., M. Bedos M. Paredes RG. (2019). Neurobiology of reproductive behavior, the role of neurogenesis In C. JC (Ed.), *Animal Behavior* (2 ed., Vol. 1, pp. 282). USA: Elsevier.

- Rogers, F. D., & Bales, K. L. (2019). Mothers, Fathers, and Others: Neural Substrates of Parental Care. *Trends Neurosci*, 42(8), 552-562. doi:10.1016/j.tins.2019.05.008
- Rogers, F. D., & Bales, K. L. (2020). Revisiting paternal absence: Female alloparental replacement of fathers recovers partner preference formation in female, but not male prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Dev Psychobiol*, 62(5), 573-590. doi:10.1002/dev.21943
- Sakamoto, M., Imayoshi, I., Ohtsuka, T., Yamaguchi, M., Mori, K., & Kageyama, R. (2011). Continuous neurogenesis in the adult forebrain is required for innate olfactory responses. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 108(20), 8479-8484. doi:10.1073/pnas.1018782108
- Sarkadi, A., Kristiansson, R., Oberklaid, F., & Bremberg, S. (2008). Fathers' involvement and children's developmental outcomes: a systematic review of longitudinal studies. *Acta Paediatr*, 97(2), 153-158. doi:10.1111/j.1651-2227.2007.00572.x
- Seelke, A. M., Perkeybile, A. M., Grunewald, R., Bales, K. L., & Krubitzer, L. A. (2016). Individual differences in cortical connections of somatosensory cortex are associated with parental rearing style in prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *J Comp Neurol*, 524(3), 564-577. doi:10.1002/cne.23837
- Smale, L. (1988). Influence of male gonadal hormones and familiarity on pregnancy interruption in prairie voles. *Biol Reprod*, 39(1), 28-31. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3061485>
- Smale, L., Nelson, R. J., & Zucker, I. (1985). Neuroendocrine responsiveness to oestradiol and male urine in neonatally androgenized prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *J Reprod Fertil*, 74(2), 491-496. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3900382>
- Smith, M. T., Pencea, V., Wang, Z., Luskin, M. B., & Insel, T. R. (2001). Increased number of BrdU-labeled neurons in the rostral migratory stream of the estrous prairie vole. *Horm Behav*, 39(1), 11-21. doi:10.1006/hbeh.2000.1630
- Tabbaa, M., Lei, K., Liu, Y., & Wang, Z. (2017). Paternal deprivation affects social behaviors and neurochemical systems in the offspring of socially monogamous prairie voles. *Neuroscience*, 343, 284-297. doi:10.1016/j.neuroscience.2016.12.011
- Taylor, S. A., Salo, A. L., & Dewsbury, D. A. (1992). Estrus induction in four species of voles (*Microtus*). *J Comp Psychol*, 106(4), 366-373. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1451419>
- Tecot, S. R., Singletary, B., & Eadie, E. (2015). Why "monogamy" isn't good enough. *Am J Primatol*. doi:10.1002/ajp.22412
- Vertes, R. P., & Hoover, W. B. (2008). Projections of the paraventricular and paratenial nuclei of the dorsal midline thalamus in the rat. *J Comp Neurol*, 508(2), 212-237. doi:10.1002/cne.21679
- Walum, H., & Young, L. J. (2018). The neural mechanisms and circuitry of the pair bond. *Nat Rev Neurosci*, 19(11), 643-654. doi:10.1038/s41583-018-0072-6
- Wang, Z., Hulihan, T. J., & Insel, T. R. (1997). Sexual and social experience is associated with different patterns of behavior and neural activation in male prairie voles. *Brain Res*, 767(2), 321-332. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9367264>
- Weinraub, M., & Wolf, B. M. (1983). Effects of stress and social supports on mother-child interactions in single- and two-parent families. *Child Dev*, 54(5), 1297-1311. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6354635>

Williams, J. R., Catania, K. C., & Carter, C. S. (1992). Development of partner preferences in female prairie voles (*Microtus ochrogaster*): the role of social and sexual experience. *Horm Behav*, 26(3), 339-349. doi:10.1016/0018-506X(92)90004-f

Yao, S., Bergan, J., Lanjuin, A., & Dulac, C. (2017). Oxytocin signaling in the medial amygdala is required for sex discrimination of social cues. *Elife*, 6. doi:10.7554/eLife.31373

Young, K. A., Gobrogge, K. L., Liu, Y., & Wang, Z. (2011). The neurobiology of pair bonding: insights from a socially monogamous rodent. *Front Neuroendocrinol*, 32(1), 53-69. doi:10.1016/j.yfrne.2010.07.006

Young, L. J., & Wang, Z. (2004). The neurobiology of pair bonding. *Nat Neurosci*, 7(10), 1048-1054. doi:10.1038/nn1327

Yuan, T. F., Li, J., Ding, F., & Arias-Carrion, O. (2014). Evidence of adult neurogenesis in non-human primates and human. *Cell Tissue Res*, 358(1), 17-23. doi:10.1007/s00441-014-1980-z

Modelos animales para estudiar el miedo y la ansiedad

*Rodrigo Triana Del Río
Tamara Cibrián-Llenderal*

Introducción

Está bien tener miedo. Todos podemos tener miedo en diferentes momentos de nuestra vida. Desde miedos básicos como al fuego, a la sangre, a las alturas; hasta miedos más complejos como perder a un ser querido o a no cumplir nuestras metas en la vida. El problema viene cuando el miedo se generaliza y se sale de control, cuando estamos aterrados y no podemos salir de nuestra casa o no podemos conciliar un sueño durante un ataque de pánico. También cuando sufrimos un trauma en la infancia relacionado a un estímulo “X”, y toda la vida creamos una aversión hacia todo lo que nos recuerde “X”. El aprendizaje de los posibles peligros del entorno es fundamental para la función de adaptación, que promueve la defensa contra las amenazas y reduce la necesidad de volver a aprender sobre el peligro, pero a veces el aprendizaje del miedo puede ser inadaptado, lo que puede convertirlo en ansiedad excesiva. Los modelos animales han sido ampliamente utilizados para entender los diferentes mecanismos neurales del miedo y de la ansiedad. En este capítulo se revisarán diferentes definiciones del miedo y la ansiedad, los modelos de miedo condicionado utilizados en laboratorio, además de las bases neurobiológicas del miedo y su neuromodulación.

185

Circuitos de supervivencia y estrategias de defensa: cuando el miedo se convierte en ansiedad

La ansiedad puede definirse como una respuesta adaptativa generada por factores físicos, emocionales y ambientales, dichos factores activan los mecanismos de alarma en el individuo asegurando la supervivencia; la ansiedad también es considerada como una patología cuando esta es genera-

lizada e inadaptada, cerca de 260 millones de personas a nivel mundial tienen trastornos de ansiedad (OMS, 2016). Los trastornos relacionados con la ansiedad son, en la actualidad, un problema psiquiátrico, farmacológico y económico de alcance mundial, de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2016), desde 1990 el número de personas que sufren de ansiedad en algún momento de su vida ha aumentado en casi un 50%. De hecho, cerca del 10% de la población mundial se ve afectada por trastornos mentales y esto representa el 30% de la carga de enfermedades no mortales a nivel mundial (OMS, 2016). De esta forma, la reducción de las neuropatologías relacionadas con la ansiedad y el miedo representa una prioridad en el actual sistema de salud.

Diferentes neurocientíficos de la actualidad han postulado su aproximación hacia la definición del miedo, y la integración de diferentes puntos de vista provee una riqueza a la teoría que sustenta los experimentos en el laboratorio (Mobbs et al., 2019). Por ejemplo, Michael Fanselow propone que el miedo (y la ansiedad) pueden ser colocados a lo largo de un continuo de amenaza-inminencia, donde la intensidad de la amenaza puede estar vinculada a procesos de motivación y comportamientos defensivos. El miedo es un sistema de comportamiento neuronal que evolucionó para proteger a los animales contra las amenazas ambientales (depredadores) (Fanselow et al., 2005).

Lisa Feldman Barrett propone que el miedo, como otras categorías emocionales, no tiene precisamente un sustrato neuroanatómico de cableado fijo, sino que forma parte de un sistema cerebral dinámico en el que las señales de predicción del peligro son categorías que se ensamblan a partir de experiencias pasadas, similares a las condiciones actuales. En esta visión el cerebro va creando continuamente conceptos contextualmente relevantes que son apropiados para la homeostasis de un animal. Así, cada evento mental (como el miedo) se construye en el cerebro de un animal como un plan para ensamblar el motor y las acciones visceromotoras que las sustentan (Barret et al., 2017). En una postura más clínica, Kerry Ressler define el miedo como una combinación de las respuestas defensivas -fisiológicas, de comportamiento y (tal vez en el caso de los humanos) la experiencia consciente y las interpretaciones de estas respuestas que son activadas por estímulos específicos (Mobbs et al., 2019). En el caso de los sistemas experimentales en el laboratorio, estos estímulos son señales externas, pero presumiblemente en los humanos también pueden tener representaciones internas (pensamientos y recuerdos que pueden en sí mismas ser señales de miedo) (Davis et al., 2006).

Finalmente, Joseph LeDoux sostiene que los estados de miedo subjetivos implican circuitos cognitivos de orden superior, y sólo pueden ser integrados en el cerebro humano. Así, las experiencias de miedo son experiencias emocionales ensambladas cognitivamente por circuitos corticales que los otros animales no tienen. En roedores y otros animales, es posible sin embargo observar la actividad de los “circuitos de supervivencia defensiva”. La activación de estos circuitos subcorticales, que controlan las respuestas conductuales y fisiológicas que ocurren al mismo tiempo, pueden intensificar la experiencia al proporcionar entradas a los circuitos cognitivos, pero no determinan el contenido de la experiencia, que es algo más consciente o cortical. Mientras que otros animales pueden tener algún tipo de experiencia cuando están en peligro, no es posible medir científicamente en el laboratorio lo que experimentan, y si pudiéramos, es poco probable que fuera equivalente al tipo de conciencia personal cognitivamente ensamblada de estar en peligro que los humanos experimentan. Tal función cognitiva es necesaria para explicar la variedad de situaciones amenazantes en las que se puede experimentar conscientemente el miedo humano; por ejemplo: depredador, conespecífico, homeostático, social, existencial (LeDoux, 1996; 2015).

Un punto en que todas estas teorías coinciden es en el beneficio de observar el comportamiento animal, y de diseñar experimentos que muestran la causalidad básica de funciones cerebrales a tales comportamientos, esta es la base de la neurobiología de las respuestas emocionales.

Sabemos que es fundamental ajustar con flexibilidad el comportamiento del miedo cuando las circunstancias cambian. De hecho, la falta de adaptación a las condiciones cambiantes puede contribuir a los trastornos de ansiedad. Un aspecto central de la modulación del miedo es la capacidad de trasladar con flexibilidad las respuestas del miedo de un estímulo a otro, si un estímulo que antes era una amenaza se convierte en algo seguro o si un estímulo que antes era seguro se convierte en una amenaza. Si el cerebro no es capaz de realizar esto producirá acciones y reacciones de miedo mal adaptadas, es por ello que diferentes áreas del cerebro deben trabajar en armonía para hacer una dinámica percepción del peligro e integración de respuestas emocionales.

Un circuito neuronal que subyace a la expresión de las respuestas de defensa provocadas por amenazas condicionadas e incondicionadas (presumiblemente innatas) puede ser llamado “circuito de supervivencia defensiva” (LeDoux, 2012; 2014) que es similar a lo que se ha llamado un sistema de defensa (Davis et al., 2006). Los circuitos cerebrales de supervi-

vencia se conservan dentro de las especies de mamíferos y, en cierta medida, entre los vertebrados, es por ello que podemos estudiar la conducta defensiva de animales de laboratorio para comprender mejor las bases neurobiológicas de las reacciones defensivas y emocionales en los humanos.

Modelos de condicionamiento del miedo

Tradicionalmente, los investigadores interesados en el aprendizaje de los mamíferos y otros vertebrados recurren al condicionamiento Pavloviano, inspirado por el uso satisfactorio de enfoques de condicionamiento simples en los estudios de invertebrados (Carew et al. 1981). Esta estrategia funcionó notablemente bien, y el condicionamiento del miedo Pavloviano se convirtió en el método estándar para estudiar el miedo, así como para los estudios de la relación entre la emoción y la memoria, usando los patrones de congelación o parálisis como evidencia de la respuesta del miedo (LeDoux et al., 2012; LeDoux et al., 2014; LeDoux et al., 2017).

Los recuerdos de miedo son causados por amenazas concretas. Durante el aprendizaje condicionado por el miedo, un estímulo aversivo o un estímulo incondicionado (EI), como una leve descarga eléctrica en los roedores o un disparo en los humanos, se asocia con un estímulo sensorial neutro o un estímulo condicionado (EC), como un tono, un olor o una señal visual, lo que da lugar a la creación de un recuerdo condicionado de miedo. Cuando el individuo se vuelve a exponer al EC, la memoria de miedo se recupera o se recuerda, generando una respuesta de miedo (LeDoux 2012; Alberini 2013), acompañado de la activación de toda una serie de respuestas fisiológicas (Debiec & LeDoux 2006). Mientras tanto, los estados de ansiedad pueden ser inducidos por amenazas circunstanciales, potenciales, imaginarias o anticipadas, que están más relacionadas con la generalización no convencional del miedo.

El EC llega a provocar respuestas conductuales típicas de la especie (presumiblemente innatas) (por ejemplo, comportamiento de congelación/parálisis) y apoyar los ajustes fisiológicos controlados por el sistema nervioso autónomo (por ejemplo, cambios en el ritmo cardíaco, la presión arterial, la respiración) o por los sistemas endocrinos (por ejemplo, la hormona adrenocorticotrópica, el cortisol, la epinefrina). A través del condicionamiento del miedo, los investigadores tienen así el control de las condiciones precedentes (las variables independientes, el EC y el EI) y pueden medir los resultados (variables dependientes, como el comportamiento de congelamiento o las respuestas del sistema nervioso autóno-



Figura 1. Un depredador es percibido como amenaza por el circuito neuronal de defensa, y será catalogado por él como un estímulo incondicionado de peligro. El miedo desencadenará respuestas emocionales de defensa: congelación/parálisis o evitación activa. Ilustración: Javier Triana-Del Río.

mo). Esta es una forma experimental para conocer cómo las memorias aversivas se forman en diversas áreas del cerebro involucrando cambios celulares, sinápticos y de red neuronal.

El procedimiento de condicionamiento del miedo funciona porque aprovecha un proceso llamado aprendizaje asociativo que es una característica de los circuitos en los sistemas nerviosos de muchos, si no de todos los animales y también puede existir en los organismos unicelulares. Cuando el aprendizaje asociativo se produce en el circuito que se ocupa del procedimiento de condicionamiento del miedo, el proceso de aprendizaje en sí mismo se denomina también condicionamiento del miedo. El proceso de condicionamiento del miedo permite a los EI alterar la eficacia del EC en la activación de los circuitos que controlan las respuestas de defensa en anticipación al daño. El condicionamiento del miedo tiene muchas características atractivas como herramienta de laboratorio. Se adquiere rápidamente, y es duradero, a menudo persistiendo a lo largo de la vida. Además, puede ser utilizado en una amplia gama de animales, incluyendo vertebrados e invertebrados, lo que permite explorar hasta qué punto mecanismos similares subyacen al proceso de condicionamiento en diversos organismos. Una posible desventaja es que, a pesar de que las aproximaciones farmacológicas que utilizan el modelo de miedo condicionado pueden ser exitosas, la perspectiva psiquiátrica de los mismos fármacos en humanos es mas compleja, ya que requiere una visión holística (psicoterapia), relacionada con el nivel de complejidad cerebral en la corteza prefrontal de los humanos (consciencia emergente).

Por su parte, en el condicionamiento de la evitación, como ejemplo de acción motivada defensiva, los animales aprenden a realizar (evitación activa) o a retener (evitación pasiva) una acción con el fin de evitar resultados negativos o perjudiciales (típicamente una descarga eléctrica). Las respuestas que se miden en los estudios de evitación incluyen el desplazamiento (moverse entre habitaciones), el giro de la rueda o la presión de una palanca. El condicionamiento de la evitación se ha entendido tradicionalmente como un proceso de dos etapas. En primer lugar, los estímulos se asocian con el choque mediante el condicionamiento pavloviano, y luego se realizan respuestas instrumentales que terminan o escapan (o evitan) esos estímulos amenazantes, proporcionando así un refuerzo negativo de la respuesta (LeDoux et al., 2017). Como una ventaja, dado que ayuda a hacer frente a una amenaza, la respuesta de evitación puede, por lo tanto, utilizarse para estudiar la motivación aversiva que ayuda a disminuir las respuestas de congelamiento. Una desventaja en el modelo de evitación condicionada es que esta

respuesta comportamental proactiva puede ser en si misma adaptativa o patológica. Si la evitación, una vez aprendida, se vuelve excesiva y llega a interferir con la vida diaria, entonces pierde sus cualidades adaptativas. Esto suele ocurrir cuando la respuesta de evitación se vuelve habitual (LeDoux, 2017). Es por ello que deben respetarse e interpretarse correctamente los puntos de adquisición, mantenimiento y extinción de respuestas de evitación condicionada.

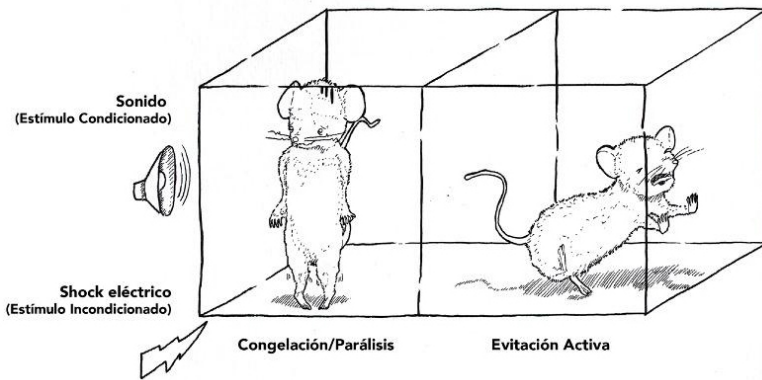


Figura 2. En el laboratorio las respuestas defensivas de miedo pueden observarse por medio del condicionamiento pavloviano o instrumental en cajas/aparatos de conducta. Un estímulo sensorial como un sonido se volverá un estímulo condicionado cuando se asocia a un estímulo amenazante, como un ligero shock eléctrico (estímulo incondicionado). Tal condicionamiento desencadenará respuestas defensivas condicionadas: congelación/parálisis o evitación activa. Ilustración: Javier Triana-Del Río.

Los estados de ansiedad y los recuerdos de miedo se producen en parte por los mismos circuitos neuronales, al activar los diferentes sub núcleos de la amígdala y la corteza prefrontal entre otras áreas del cerebro (LeDoux 2014; 2016; Davis et al., 2006; Tye & Deisseroth 2012; Anderson y Adolphs 2014; Tovote y otros 2015), de modo que las opciones de tratamiento del miedo condicionado y la ansiedad pueden superponerse. Además, los recuerdos de ansiedad y miedo están codificados en un “engrama neuronal”, que ha sido representado por una población específica de neuronas activadas durante eventos específicos de aprendizaje (Tonegawa et al. 2015). Esta noción proporciona un sustrato celular que puede ser sometido a modulación neuroquímica durante el recuerdo de la memoria origi-

nal (re-consolidación), pero también durante su extinción (Alberini, 2013; Triana-Del Río et al., 2019).

Por lo tanto, se necesitan terapias eficaces de modulación de los engramas neuronales del miedo para promover su extinción, y el aprendizaje de la extinción está en la base de esta neuromodulación durante la terapia psicológica. En efecto, la extinción de las respuestas condicionadas al miedo, que abarca la formación de nuevas memorias aversivas que codifican la seguridad y, por lo tanto, inhiben el miedo, representa un mecanismo importante en el tratamiento de los trastornos de ansiedad, como el trastorno de estrés postraumático (TEPT), la fobia social, los trastornos de pánico y la generalización del miedo. Los neurocientíficos se encargan de descubrir en animales de laboratorio cómo modular la actividad neuronal desde diferentes aproximaciones experimentales, y esto brinda información que puede resultar de utilidad en el ámbito clínico.

Si se pudiera restaurar una antigua memoria de miedo incorporando información neutra o más positiva, proporcionada en el momento de la recuperación, podría ser posible modificar permanentemente las propiedades de miedo de esta memoria (Debiec and LeDoux, 2006; LeDoux, 2017). Los medicamentos que no logran reducir los sentimientos de miedo o ansiedad pueden, sin embargo, tener efectos beneficiosos al controlar los sistemas defensivos que son demasiado sensibles y que producen reacciones defensivas exageradas, evitación excesiva, hiperactivación, hipervigilancia, etc. El enfoque de dos sistemas (regulación cortical y subcortical) sugiere que una comprensión detallada de los circuitos neuronales y sus funciones puede ayudar a establecer expectativas realistas sobre lo que pueden lograr los medicamentos combinados con la terapia psicológica. Nuevas aproximaciones tecnológicas en las neurociencias permiten estudiar, en el laboratorio, estas funciones cerebrales en tiempo real, mientras los animales expresan conductas defensivas, algunas de ellas son: estimulación optogenética, estimulación quimiogénica, registro electrofisiológico unitario o multiunitario, registro de actividad de calcio, registro de fotometría de fibra, microscopio de dos fotones, etc.

Necesitamos aprender el idioma de las neuronas para comunicarnos con ellas

Básicamente, todos los circuitos del cerebro (por ejemplo los del miedo/ansiedad) funcionan por conexiones eléctricas/químicas entre las neuronas, y los mensajes que ellas envían/reciben pueden ser codificados en la excitación/inhibición de potenciales de acción y la potenciación si-

náptica. El miedo entonces puede ser comprendido como una función de circuitos neuronales, ya que todo comportamiento es originado en el cerebro. Los circuitos neuronales y los mecanismos celulares, sinápticos y moleculares que subyacen a la adquisición y expresión de respuestas de miedo condicionado han sido caracterizados con detalle. (Quirk et al., 2008, LeDoux, 2015, Fanselow et al, 2005, Johansen et al., 2011). Tradicionalmente, la amígdala y sus subnúcleos han sido un centro cerebral importante en la integración y producción de comportamientos de defensa. El núcleo lateral de la amígdala (LA) recibe entradas sensoriales sobre el EC y el EI.

Tabla 1. Principales áreas cerebrales involucradas en la integración del miedo

Estructura cerebral	Función
Amígdala	Detecta y responde a amenazas presentes o inminentes, aporta la relevancia emocional de los estímulos.
Corteza prefrontal	Filtra y controla conductas de acuerdo al raciocinio y predicción del éxito, ayuda a regular a la amígdala para razonar si un estímulo es beneficioso o inocuo y reaccionar hacia diferentes estímulos de peligro.
Hipocampo	Ayuda a crear memorias de contexto hacia los estímulos que han producido reacciones de miedo.
Estriado	Pone en marcha la reacción motora y también la valencia positiva de escapar o evadir el miedo
Área basal de la estría terminalis	Es parte de un circuito de defensa innato que detecta y procesa amenazas inciertas para generar ansiedad.

Creación propia con información de: LeDoux, 2002; LeDoux, 2014; Ochsner et al. 2002; LeDoux et al., 2017; Triana Del Río et al., 2019.

Antes del entrenamiento, el EC sólo activa débilmente las neuronas de LA. Después de que el EC se asocia con el EI, la capacidad del EC para activar el LA aumenta y con él, el fortalecimiento de la plasticidad sináptica en estas conexiones. Cuando el EC más tarde ocurre sólo, la activación del EC del LA lleva a la actividad neuronal que se propaga a través de los circuitos de la amígdala,, particularmente el núcleo central (CeA). Las conexiones de salida del CeA resultan entonces en la expresión de un comportamiento defensivo y respuestas fisiológicas, así como cambios en la excitación del cerebro. La plasticidad sináptica también se produce en el núcleo central de la amígdala (Haubensak et al., 2010). A nivel celular y molecular, el condicionamiento del miedo se produce cuando las neuronas de LA que procesan el EC se activan débilmente, al mismo tiempo que los EI despolarizan fuertemente las neuronas (Fanselow et al., 2005; Johansen et

al., 2011). Esto resulta en un aumento de la fuerza de las sinapsis que procesan el EC, permitiéndole activar más eficazmente los circuitos de la amígdala en el futuro cuando se enfrenten peligros semejantes. Los mecanismos intracelulares y sinápticos involucrados dan como resultado la expresión de genes y la síntesis de proteínas, estabilizando los cambios temporales en la fuerza sináptica y creando memorias a largo plazo. De forma interesante, muchos de los hallazgos moleculares se realizaron siguiendo la investigación de aprendizaje y memoria usando animales invertebrados (Carew et al., 1981).

El condicionamiento del miedo se convirtió así en un proceso que es llevado a cabo por células, sinapsis y moléculas en circuitos específicos del sistema nervioso. Como tal, el condicionamiento del miedo se explica únicamente en términos de las asociaciones creadas y almacenadas a través de mecanismos de plasticidad celular, sináptica y molecular en los circuitos de la amígdala. Cuando posteriormente se produce el EC, se activa la asociación y conduce a la expresión de respuestas defensivas típicas de la especie y que preparan al organismo para hacer frente al peligro señalado por el EC. No hay necesidad de que intervengan sentimientos conscientes de miedo (Davis et al. 2006).

En los animales, la regulación del miedo (adaptación) puede estudiarse examinando la manera en que se tratan los estímulos que provocan miedo. Aunque las ratas se congelan inicialmente cuando son expuestas a un EC asociado con un leve choque eléctrico, pueden, con entrenamiento, aprender a controlar activamente su exposición al EC por medio de la evitación o el escape y así reducir sus consecuencias aversivas (Amorapanth et al., 2000; LeDoux et al., 2017). Por ejemplo, los roedores pueden aprender a cruzar al otro lado de una cámara para terminar o prevenir la aparición de un EC temible, como lo harían normalmente al evitar o escapar de un depredador en su hábitat natural. El daño al núcleo central de la amígdala impide la congelación del EC pero no interfiere con la capacidad de aprender respuestas que terminen o impidan el EC (evitación activa). En cambio, el daño a la amígdala basal no tiene efecto sobre la congelación, pero impide el aprendizaje de la respuesta activa. El daño en el núcleo lateral precede a ambas formas de aprendizaje. Estos hallazgos son pertinentes para comprender los beneficios de las estrategias activas de afrontamiento en los trastornos de la seguridad, de la ansiedad y de memorias aversivas (Sotres et al., 2006; LeDoux et al., 2017).

La neuromodulación del miedo y la ansiedad

Los neuromoduladores ejercen efectos sobre la forma en cómo las neuronas se comunican. Esto es especialmente importante para los circuitos que codifican el miedo y la ansiedad, ya que los neuromoduladores regulan de forma muy fina la excitación de potenciales de acción y la potenciación sináptica, esta es la forma en la que funcionan los medicamentos para reducir el miedo y la ansiedad. Un método para reducir la respuesta al miedo y ansiedad es el uso de agentes farmacológicos que se dirigen precisamente a la plasticidad sináptica de los circuitos neuronales de las memorias de extinción, cuyas vías de señalización descendentes pueden permitir la extinción del miedo y fortalecer la memoria de la extinción de manera continua en los modelos preclínicos y clínicos (véase: Bukalo et al., 2014; Singewald et al., 2015). Estos compuestos farmacológicos son probados en animales de laboratorio como un paso inicial para probar su efectividad en humanos. Por ello, se utilizan experimentos que muestran las reacciones de miedo y ansiedad en ellos, de una forma biológicamente homóloga a la experiencia humana. De hecho, los agentes farmacológicos aplicados después de la recuperación de la memoria del miedo podrían facilitar la extinción del miedo, como lo demuestran los aparentes efectos amnésicos del propranolol, un antagonista beta-adrenérgico, en los animales y los seres humanos (Kroes et al., 2016). Así como los neuroquímicos exógenos, los neuromoduladores o neuroquímicos endógenos en el cerebro también ejercen un efecto sobre la excitación de potenciales de acción y potenciación sináptica, y de esta forma en la estabilidad de redes sinápticas subyacentes a las memorias de miedo (Triana-Del Río et al., 2018).

Un claro ejemplo es el de los neuromoduladores de la amígdala central, que como se mencionó es un importante pivote cerebral en la integración de las respuestas de miedo. La amígdala central tiene un rico repertorio de neuropéptidos y receptores de neuropéptidos. (van den Burg & Stoop, 2019). La investigación de estos neuromoduladores representa un primer paso en el uso de la neuroquímica endógena como terapias farmacológicas para tratar trastornos de miedo y ansiedad, principalmente actuando en la amígdala y en otras redes neuronales que integran las emociones. Entre estos neuromoduladores, la señalización efectuada por la oxitocina y sus receptores, ha demostrado ser efectiva en las zonas corticales y límbicas que modulan numerosas funciones comportamentales (Triana-Del Río et al., 2015; Eliava et al., 2016; Terburg et al., 2018), actuando sobre los circuitos del miedo y la ansiedad, y que aumentan la prominencia de los estímulos sociales (Stoop, 2012). Lo anterior sin duda ofrece una perspecti-

va que sugiere que la oxitocina podría ser un agente farmacológico promotor para ajustar la consolidación de la memoria y favorecer la extinción del miedo. Además, es posible que los cambios a largo plazo en la señalización de la oxitocina endógena también puedan contribuir a reducir la expresión del miedo en diferentes áreas cerebrales (Triana-Del Río et al., 2019).

Los animales de laboratorio nos muestran cómo manejar nuestras respuestas emocionales

En 1872, Charles Darwin publicó “La expresión de las emociones en el hombre y los animales” (Darwin, 1872/1965). Durante gran parte de este trabajo, Darwin se preocupó por documentar las manifestaciones externas de las emociones (expresiones) por las que los animales producen gestos faciales y corporales que caracterizan una emoción particular como el miedo, la ira o la felicidad. Darwin señaló cuántas expresiones se conservan entre especies; la ira implica una mirada directa con la boca abierta y los dientes visibles, etc. Afirmó que tales expresiones son innatas “es decir, no han sido aprendidas por el individuo”. Además, tales expresiones permiten a un animal interpretar el estado emocional de otro animal; por ejemplo, si es probable que un animal ataque, o es probable que acoja con agrado un avance sexual. La contribución de Darwin fue proporcionar evidencia preliminar sobre cómo se pueden conservar las emociones entre especies. Su estudio de las expresiones resuena con algunos enfoques, como los intentos de Ekman de definir las emociones “básicas” de las comparaciones de expresiones faciales (Ekman et al., 1972). Investigaciones más recientes han dilucidado los orígenes funcionales de algunas de estas expresiones. Por ejemplo, una expresión de miedo planteada aumenta el campo visual y el volumen nasal y conduce a movimientos oculares más rápidos (adaptativos para detectar peligro), mientras que una expresión de disgusto tiene una efectividad opuesta (adaptativa para evitar contaminantes) (Susskind et al., 2008).

La evidencia reciente sugiere que la función y la estructura del cerebro están evolutivamente relacionados en varias especies. Esta relación histórica entre diferentes especies de mamíferos permite el estudio de funciones mentales humanas en animales en condiciones normales y patológicas. Esta idea constituye un soporte teórico para la aplicación del método experimental en Psiquiatría. Los modelos de enfermedades psiquiátricas en animales representan hoy un capítulo importante de la investigación médica y biológica. Los modelos de ansiedad en roedores se

han utilizado ampliamente para investigar las características básicas y farmacológicamente modificadas del comportamiento relacionado con la ansiedad en los mamíferos. Las principales pruebas que existen son la prueba del laberinto en cruz elevado (EPM en inglés) y la prueba de campo abierto (OF por sus siglas en inglés). Estas pruebas de laboratorio explotan la aversión natural de los roedores a los campos expuestos (Carola et al., 2002). Por lo tanto, se basan en un agente ansiógeno, como un campo elevado y sin protección o un área abierta (Ramos et al., 1998), expresando el nivel de ansiedad por el número de entradas y el tiempo de permanencia en el área de aversión. El EPM y el OF tienen una excelente sensibilidad bidireccional a los tratamientos farmacológicos y conductuales (Gribel et al., 2000; Carola et al., 2012). Por este motivo, estas pruebas procuran gran beneficio cuando los neurocientíficos evalúan la base genética o farmacológica del comportamiento ansioso en los roedores.

Así, este tipo de pruebas en el laboratorio han ayudado a descubrir en los roedores, como sucede en los humanos, que los rasgos individuales de ansiedad son contribuyentes significativos a las diferencias interindividuales en la vulnerabilidad al estrés. Específicamente, el rasgo de alta ansiedad es un fenotipo de vulnerabilidad clave. Los individuos altamente ansiosos muestran tanto alteraciones de comportamiento como déficits cognitivos, junto con respuestas fisiológicas de estrés más reactivas (Weger & Sandi, 2018).

Respuestas emocionales de miedo

Un estado orgánico defensivo se desencadena por la actividad en los circuitos de supervivencia que detecta las amenazas y genera reacciones de defensa automáticas (LeDoux, 2014). El término “circuitos defensivos motivacionales” es útil como una descripción de los circuitos neurales que, en presencia de señales de predicción de amenazas, controlan los comportamientos defensivos instrumentales en el hábitat natural (acciones dirigidas a un objetivo como la evitación y otras respuestas de afrontamiento). Los circuitos de detección están preformados en el cerebro para responder a las amenazas típicas de las especies o están cableados a través de la experiencia (como el aprendizaje social) para detectar nuevos estímulos que predicen las fuentes de daño (LeDoux et al., 2017). Cuando una amenaza la activa, se producen diversas respuestas: comportamientos típicos de las especies (por ejemplo, congelamiento), respuestas fisiológicas periféricas de los sistemas nervioso y endocrino autónomos que producen señales que retroalimentan al cerebro, y cambios en la actividad cerebral, incluida

la transmisión sináptica dentro de los circuitos y entre ellos, y aumentos de la excitación general debido a la liberación generalizada de neuromoduladores aminérgicos (por ejemplo la noradrenalina). En conjunto, estas respuestas constituyen el estado defensivo del organismo. Esos estados son multidimensionales, no unitarios, ya que los diferentes componentes pueden activarse en distintos grados en condiciones diferentes (LeDoux, 2002; 2014).

Conclusiones

Cuando el organismo se encuentra frente a un peligro o un estímulo que ha asociado con el peligro, primero hay una reacción (congelamiento/parálisis, respuestas hormonales) hacia este estímulo y luego una acción (evitación, lucha o huida) hacia el mismo. Esta secuencia de reacción y acción se observa repetidamente en las experiencias aversivas evocadas en los seres humanos y los animales no humanos (LeDoux, 2012; 2016). Mientras que las reacciones son respuestas inflexibles provocadas automáticamente por un estímulo, las acciones son respuestas o comportamientos que son producidos por el sistema incentivo motivacional de un organismo. Los comportamientos reactivos están genéticamente incrustados en el repertorio de respuestas de un organismo como consecuencias preparadas para las presiones ambientales significativas (por ejemplo, los depredadores).

Por otra parte, las acciones son comportamientos operacionalmente aprendidos por sus consecuencias reforzantes (por ejemplo, un niño aprendiendo a llorar para recibir atención) realizadas con el fin de obtener algún objetivo o recompensa. Las reacciones son conductas preparadas genéticamente y evocadas por estímulos que implican mecanismos simples y grupos musculares limitados. Las reacciones de congelación pueden ser pensadas como un ejemplo de un patrón de acción fijo (Lorenz y Tinbergen 1938 en LeDoux, 2014), o más específicamente, un comportamiento defensivo típico de la especie. Es probable que los circuitos neurales de reacción y acción defensiva interactúen, por ejemplo, cuando un aumento en la actividad del circuito motivacional de evitación del peligro provoca la disminución en el circuito de congelamiento, el sujeto debe detener este congelamiento/parálisis para moverse y evitar el peligro (LeDoux et al., 2016; 2017). En el contexto clínico existe una analogía cuando el sujeto toma conciencia y control de su miedo, y tiene conductas proactivas para disminuir el congelamiento/parálisis emocional (LeDoux et al., 2012; 2017).

REFERENCIAS

- Alberini, C.M. (ed). (2013). Memory reconsolidation. Academic Press, London.
- Amorapanth, P., LeDoux, J.E., & Nader, K. (2000). Different lateral amygdala outputs mediate reactions and actions elicited by a fear-arousing stimulus. *Nat Neurosci.* 3(1), 74-9. doi: 10.1038/71145. PMID: 10607398.
- Anderson, D. J., & Adolphs, R. (2014). A framework for studying emotions across species. *Cell*, 157(1), 187-200.
- Barrett, L. F., & Simmons, W. K. (2015). Interoceptive predictions in the brain. *Nature reviews neuroscience*, 16(7), 419-429.
- Barrett, L. F. (2017). The theory of constructed emotion: an active inference account of interoception and categorization. *Social cognitive and affective neuroscience*, 12(1), 1-23.
- Bukalo, O., Pinard, C. R., & Holmes, A. (2014). Mechanisms to medicines: elucidating neural and molecular substrates of fear extinction to identify novel treatments for anxiety disorders. *British journal of pharmacology*, 171(20), 4690-4718.
- Carew, T. J., Walters, E. T., & Kandel, E. R. (1981). Associative learning in Aplysia: Cellular correlates supporting a conditioned fear hypothesis.
- Carola, V., D'Olimpio, F., Brunamonti, E., Mangia, F., & Renzi, P. (2002). Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in inbred mice. *Behavioural brain research*, 134(1-2), 49-57.
- Darwin, C. J. (1872/1965). The expression of the emotions in man and animals. University of Chicago Press.
- Davis, M. (1992). The role of the amygdala in conditioned fear. In J. P. Aggleton (Ed.), *The amygdala: Neurobiological aspects of emotion, memory, and mental dysfunction* (pp. 255-306). Wiley-Liss.
- Davis, M., Myers, K. M., Chhatwal, J., & Ressler, K. J. (2006). Pharmacological treatments that facilitate extinction of fear: relevance to psychotherapy. *NeuroRx*, 3(1), 82-96.
- D'biec, J., & LeDoux, J. E. (2006). Noradrenergic signaling in the amygdala contributes to the reconsolidation of fear memory: treatment implications.
- Ekman, P., Friesen, W. V., & Ellsworth, P. (1972). *Emotion in the human face: Guidelines for research and an integration of findings*. Pergamon Press
- Eliava, M., Melchior, M., Knobloch-Bollmann, H. S., Wahis, J., da Silva Gouveia, M., Tang, Y., Ciobanu, A.C., Triana-Del Rio, R., Roth, L.C., Althammer, F., Chavant, V., Goumon, Y., Gruber, T., Petit-Demoulière, N., Busnelli, M., Chini. B., Tan, L.L., Mitre, M., Froemke, R.C., Chao, M.V., Giese, G., Sprengel, R., Kuner, R., Poisbeau, P., Seeburg, P.H., Stoop, R., Charlet, A., & Grinevich, V. (2016). A new population of parvocellular oxytocin neurons controlling magnocellular neuron activity and inflammatory pain processing. *Neuron*, 89(6), 1291-1304.
- Fanselow, M. S., & Poulos, A. M. (2005). The neuroscience of mammalian associative learning. *Annu. Rev. Psychol.*, 56, 207-234.
- Griebel, G., Belzung, C., Perrault, G., & Sanger, D. J. (2000). Differences in anxiety-related behaviours and in sensitivity to diazepam in inbred and outbred strains of mice. *Psychopharmacology*, 148(2), 164-170.
- Haubensak, W., Kunwar, P. S., Cai, H., Ciocchi, S., Wall, N. R., Ponnusamy, R., Biag, J., Dong, H. W., Deisseroth, K., Callaway, E. M., Fanselow, M. S., Lüthi, A., & Anderson, D. J. (2010). Genetic dissection of an amygdala microcircuit that gates conditioned fear. *Nature*, 468(7321), 270-276.
- Johansen, J. P., Cain, C. K., Ostroff, L. E., & LeDoux, J. E. (2011). Molecular mechanisms of fear learning and memory. *Cell*, 147(3), 509-524.

- Kandel, E. R. (2001). The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses. *Science*, 294(5544), 1030-1038.
- Kroes, M. C., Schiller, D., LeDoux, J. E., & Phelps, E. A. (2015). Translational approaches targeting reconsolidation. *Translational neuropsychopharmacology*, 28,197-230.
- LeDoux, J. (2012). Rethinking the emotional brain. *Neuron*, 73(4), 653-676.
- LeDoux, J., & Self, S. (2003). How Our Brains Become Who We Are.
- LeDoux, J. E., & Pine, D. S. (2016). Using neuroscience to help understand fear and anxiety: a two-system framework. *American journal of psychiatry*. 173(11), 1083-1093.
- LeDoux, J. E. (2014). Coming to terms with fear. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(8), 2871-2878.
- LeDoux, J. E., & Brown, R. (2017). A higher-order theory of emotional consciousness. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(10), E2016-E2025.
- LeDoux, J. E. (2017). Semantics, surplus meaning, and the science of fear. *Trends in cognitive sciences*, 21(5), 303-306.
- LeDoux, J. E. (2015). *Anxious: Using the brain to understand and treat fear and anxiety*. Viking.
- LeDoux, J. (1996). *The emotional brain: The mysterious underpinnings of emotional life*. Simon and Schuster.
- Mobbs, D., Adolphs, R., Fanelow, M. S., Barrett, L. F., LeDoux, J. E., Ressler, K., & Tye, K. M. (2019). Viewpoints: Approaches to defining and investigating fear. *Nature neuroscience*, 22(8), 1205-1216.
- Quirk, G. J., & Mueller, D. (2008). Neural mechanisms of extinction learning and retrieval. *Neuropsychopharmacology*, 33(1), 56-72.
- Ramos, A., & Mormède, P. (1997). Stress and emotionality: a multidimensional and genetic approach. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 22(1), 33-57.
- Singewald, N., Schmuckermair, C., Whittle, N., Holmes, A., & Ressler, K. J. (2015). Pharmacology of cognitive enhancers for exposure-based therapy of fear, anxiety and trauma-related disorders. *Pharmacology & therapeutics*, 149, 150-190.
- Sotres-Bayon, F., Cain, C. K., & LeDoux, J. E. (2006). Brain mechanisms of fear extinction: historical perspectives on the contribution of prefrontal cortex. *Biological psychiatry*, 60(4), 329-336.
- Stoop, R. (2012). Neuromodulation by oxytocin and vasopressin. *Neuron*, 76(1), 142-159.
- Susskind, J. M., Lee, D. H., Cusi, A., Feiman, R., Grabski, W., & Anderson, A. K. (2008). Expressing fear enhances sensory acquisition. *Nature neuroscience*, 11(7), 843-850.
- Terburg, D., Scheggia, D., Del Rio, R. T., Klumpers, F., Ciobanu, A. C., Morgan, B., ... & van Honk, J. (2018). The basolateral amygdala is essential for rapid escape: A human and rodent study. *Cell*, 175(3), 723-735.
- Tonegawa, S., Pignatelli, M., Roy, D. S., & Ryan, T. J. (2015). Memory engram storage and retrieval. *Current opinion in neurobiology*, 35, 101-109.
- Tovote, P., Fadok, J. P., & Lüthi, A. (2015). Neuronal circuits for fear and anxiety. *Nature Reviews Neuroscience*, 16(6), 317-331.
- Triana-Del Río, R., Tecamachaltzi-Silvarán, M. B., Díaz-Estrada, V. X., Herrera-Covarrubias, D., Corona-Morales, A. A., Pfaus, J. G., & Coria-Avila, G. A. (2015). Conditioned same-sex partner preference in male rats is facilitated by oxytocin and dopamine: effect on sexually dimorphic brain nuclei. *Behavioural brain research*, 283, 69-77.
- Triana-Del Río, R., van den Burg, E., Stoop, R., & Hegoburu, C. (2019). Acute and long-lasting effects of oxytocin in cortico-limbic circuits: consequences for fear recall and extinction. *Psychopharmacology*, 236(1), 339-354.

Tye, K. M., & Deisseroth, K. (2012). Optogenetic investigation of neural circuits underlying brain disease in animal models. *Nature Reviews Neuroscience*, 13(4), 251-266.

Van den Burg, E. H., & Stoop, R. (2019). Neuropeptide signalling in the central nucleus of the amygdala. *Cell and tissue research*, 375(1), 93-101.

World Health Organization. (2018). Investing in treatment for depression and anxiety leads to fourfold return. WHO. Retrieved April 5, 2018, from <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2016/depression-anxiety-treatment/en/>.

El cerdo como modelo biológico para el estudio de la conducta

Ulises Aguilera Reyes
Norma S. Gómez Torres
Porfirio Carrillo Castilla

Introducción

El uso de organismos no humanos en la investigación se puede identificar en diferentes áreas y disciplinas, donde son fundamentales para la generación de conocimiento. En biología con frecuencia se realizan para conocer aspectos evolutivos, en los que se pretenden reconocer continuidades en las características entre organismos individuales o como parte de un grupo evolutivo. Con respecto al estudio de la conducta el modelo que más se ha utilizado es la rata de laboratorio, sin embargo existen animales que por sus características anatómicas, fisiológicas y conductuales resultan ser buenos modelos de estudio como es el caso del cerdo doméstico. Este es un animal con un patrón de conducta bien definido, anatomía y fisiología ampliamente estudiadas, esto permite que con el cerdo se realicen estudios que involucran desde estudios de bienestar animal hasta estudios en el ámbito de la nutrición, biomedicina, psicología, psiquiatría y por su puesto etología (Valenzuela et al., 2015; Aguirre y Morfín, 2016; Fernández et al., 2019).

En el presente capítulo se describen algunos estudios realizados en el Laboratorio de Conducta Animal de la Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma del Estado de México, en los que se utilizó como modelo de estudio al cerdo doméstico. En primer lugar se habla acerca de su conducta precopulatoria, copulatoria y su relación con la elección de pareja en las cerdas, posteriormente se hace referencia a las características histológicas del sistema reproductor de la hembra y finalmente se describe la conducta de agrupamiento, competencia entre hermanos y su relación con la termorregulación como estrategia de sobrevivencia.

Relaciones de parentesco entre las razas de cerdo doméstico

En el cerdo doméstico se han realizado estudios genéticos que han demostrado, que las diferentes razas presentan patrones de parentesco distintos, las razas *Landrace* y *Duroc* presentan mayor parentesco ya que tienen un posible origen europeo común a diferencia de la raza *Yorkshire* cuyo origen es asiático (Wu et al., 2007). Acerca de la raza *Pietrain* existe polémica en cuanto a su origen, Wu et al., (2007) y Carranza (2015) apoyan la idea de que esta raza tiene origen europeo, aunque existe también evidencia de que puede tener origen asiático.

Conducta precopulatoria, copulatoria y elección críptica en la cerda

Se ha descrito que durante el estro la cerda despliega conductas como el levantamiento de orejas, acercamiento al macho, olfateo y el llamado reflejo de inmovilización, el cual es un indicativo de que se encuentra sexualmente receptiva (Hughes & Marley 1984 y Anderson 1987). En presencia de uno o varios machos la hembra se desplaza rítmicamente olfateando hacia ellos, y los machos responden liberando grandes cantidades de saliva que contiene elevadas concentraciones de androstenona, la cual funciona como feromona al igual que las secreciones prepuciales, pudiendo inducir el estro (Pearce et al., 1988).

Los machos que antes de copular olfatean frecuentemente a la hembra especialmente en sus flancos, tienen una mayor tasa de reproducción (Hemsworth *et al.*, 1978). Este frecuente olfateo sobre los flancos de la hembra estimula la secreción de oxitocina que a su vez provoca contracciones de la musculatura del conducto vaginal, favoreciendo la velocidad del transporte espermático incrementando así la probabilidad de fertilización (Mayer & Brisbin 1986).

En uno de los estudios utilizamos cuatro cerdos machos sementales de raza pura; *Duroc*, *Pietrian*, *Yorkshire* y *Landrace*, además de once hembras multíparas de las mismas razas: tres hembras *Duroc*, tres *Landrace*, tres *Yorkshire* y dos *Pietrain*. Se obtuvieron secreciones salivales y prepuciales de cada uno de los sementales. Las muestras de prepucio y saliva fueron colectadas manualmente en gases estériles, por frotamiento continuo durante diez segundos, minutos antes de presentárselas a las hembras. Las gases con las secreciones prepuciales y salivales fueron colocadas en una varilla de metal limpio de dos metros de longitud que en la punta presentaba una bifurcación (la separación entre cada punta de la varilla fue de 30 cm). Las secreciones se presentaron por separado y al azar.

Es decir, primero las hembras eran expuestas a la secreción de saliva y posteriormente a la de prepucio o viceversa. De igual forma el orden en que se presentaron las combinaciones fue azarosa para ambas secreciones. La persona que exponía las varillas a las cerdas desconocía el contenido y la procedencia de las secreciones. Se registró durante tres minutos la frecuencia y tiempo invertido de la conducta de olfateo de cada una de las cerdas, hacia las secreciones prepuciales y salivales de cada uno de los machos. Los resultados de este estudio indicaron que las hembras *Duroc* y *Landrace* invirtieron más tiempo en olfatear las secreciones del macho *Yorkshire* con quien se presume se encuentran genéticamente menos emparentadas (Wu *et al.*, 2007), por su parte las hembras *Pietrain* mostraron el mismo patrón de respuesta olfateando durante más tiempo del esperado las secreciones del macho *Yorkshire*. Mientras que la mayor inversión de tiempo de las hembras *Yorkshire* fue dirigida hacia las secreciones del macho *Duroc* (con quien comparte menos caracteres genéticos) (Carrillo-Castilla *et al.*, 2020). Además, los resultados evidenciaron que, estas hembras siempre invierten más tiempo en olfatear las muestras de los cerdos originados en Europa.

Elección críptica en las cerdas

Otro estudio que realizamos fue el determinar si las cerdas en celo son capaces de sesgar su elección hacia algún macho en condiciones de cautiverio. Para registrar la elección y comportamiento antes de la cópula, cada cerda fue colocada en un área de experimentación, que consistió en un encierro de forma cuadrada y con una superficie de 3m^2 . Cada pared presentaba una ventana de 1m^2 , prolongada hasta el piso delimitada con tubos de acero cada 20 cm, lo que permitía la comunicación olfativa, visual, auditiva y parcialmente táctil de cada hembra con los machos que se encontraban en tres encierros adjuntos al de la hembra. Los machos eran rotados sistemáticamente de su posición en los encierros en cada evento de elección precopulatoria femenina a fin de evitar sesgos en el comportamiento de las hembras debidas al sitio y no al macho. El registro del comportamiento precopulatorio de los cerdos se realizó a través de una técnica de muestreo “focal en pareja” (Altman 1974, Lehner 1996). Cada evento de registro conductual precopulatorio tuvo una duración de 15 minutos iniciando con la introducción de la hembra en el área de experimentación. La elección precopulatoria de la hembra sobre los machos se determinó registrando el tiempo que la hembra estaba en contacto con la cerca donde se encontraban los machos, así como las frecuencias de conductas de acer-

camiento, olfateo y contacto naso-nasal desplegadas por las hembras hacia los machos. Este procedimiento se llevó a cabo siguiendo el registro conductual descrito por Blackshaw (1986) para el cortejo en el cerdo; acercamiento, olfateo, contacto naso-nasal, olfateo de vagina, trompeo, mordiscos, castañeteo de dientes, vocalizaciones, secreciones prepuciales y salivación. Encontramos que las conductas precopulatorias “acercamiento”, “olfateo” y “contacto naso-nasal” desplegadas por las hembras, así como el tiempo promedio que invirtieron lo realizaron mayormente hacia el macho Y/N (híbrido). Estos resultados se muestran en la siguiente tabla tomada de (Aguilera-Reyes et al., 2006a).

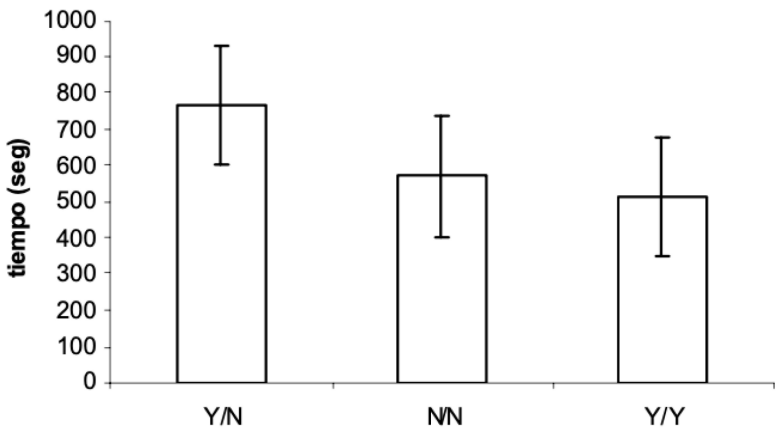


Figura 2. Tiempo de permanencia de las cerdas cerca de cada macho durante la precópula (seg.) (media $\pm$ error estándar)

Después que las hembras estuvieron expuestas a los tres sementales, fueron copuladas por ellos con 12 horas de diferencia. Queríamos determinar si el macho por el que las hembras mostraron mayor interés en términos de tiempo podría ser el que tendría la mayor paternidad.

Así es que los tres sementales copularon con un grupo de 18 hembras, el orden de la cópula fue: que cada macho copuló con seis hembras en primera posición, con otras seis en segundo lugar y por último con otras seis en tercer lugar. Posteriormente, se extrajeron 5 ml de sangre se realizó la extracción de ADN y con la ayuda de microsatélites como marcadores moleculares se determinó la paternidad.

Los resultados encontrados indicaron que, de las cópulas realizadas a las 18 cerdas, nacieron 166 lechones, de los cuales el 85,29% fueron del macho Y/N (híbrido), el macho Y/Y (puro) obtuvo el 8,8%, mientras que el ma-

cho N/N (puro) obtuvo el 5,8% según tablas III y IV (tomado de Aguilera et al., 2006b).

Table III. Paternity percentages of the three males.

No. of offspring	Y/Y male	Y/N male	N/N male	Undetermined
166	6 (8.8%)	58 (85.29%)	4 (5.8%)	98

Table IV. Paternity by copula order.

Female	Copula order			No. of offspring	Y/N male	Y/Y male	N/N male
1	Y/Y	Y/N	N/N	12	8	0	0
5	Y/Y	N/N	Y/N	13	6	2	1
6	Y/Y	N/N	Y/N	11	4	1	1
7	Y/N	Y/Y	N/N	14	8	0	0
9	Y/N	Y/Y	N/N	10	6	0	0
11	Y/N	N/N	Y/Y	9	6	1	0
11	Y/N	N/N	Y/Y	8	6	1	0
12	Y/N	N/N	Y/Y	10	0	1	0
14	N/N	Y/Y	Y/N	11	9	0	1
13	N/N	Y/Y	Y/N	9	5	0	1
TOTAL				98	58	6	4

Code: York male Y/Y; York/Landrace male Y/N; Landrace male N/N.

Con base en estos resultados, consideramos que la inclinación en el mayor porcentaje de la paternidad masculina Y/N podría explicarse en términos de elección críptica femenina y no en términos de competencia espermática debido a que el tiempo transcurrido entre las cópulas por cada macho tuvo una diferencia de 12 horas.

De acuerdo con Aguilera et al., (2006) las secreciones odoríferas liberadas al ambiente por los machos durante la fase precopulatoria fueron útiles como indicadores para que las hembras sesgaran su selección hacia el macho Y/N, por lo tanto, la facilitación de la liberación de la Hormona Liberadora de Gonadotropina (GnRH) hipotalámica generó que se secretaran la hormona folículo estimulante (FSH) y luteinizante (LH), favoreciendo de este modo la ovulación de las cerdas. Por el contrario, el olfateo frecuente en los flancos de las hembras podría estimular la secreción de oxitocina, provocando entonces contracciones del útero y el oviducto, facilitando el transporte de los espermatozoides y favoreciendo las probabilidades de fecundación (Mayer y Brisbin 1986). Con estos antecedentes nos propusimos realizar un estudio más, donde probáramos que además de que las secreciones prepuciales y salivales pueden sensibilizar a las cerdas para aceptar las cópulas con algún macho, de acuerdo con lo descrito por Eberhard (1996) donde señala que las características complejas de los aparatos reproductores de las hembras pueden ser evidencia de elección críptica, así nos propusimos investigar la organización histológi-

ca del cérvix de la cerda a fin de comprender mejor el papel que juega durante la cópula.

El cérvix de la cerda es una estructura característica debido a su longitud que va de los 10 a los 15 cm., se extiende desde el piso de la cavidad pélvica hasta la cavidad peritoneal, está revestido por una serie irregular de crestas y valles. Los extremos del cérvix son poco definidos, uniéndose gradualmente al cuerpo del útero, lo mismo ocurre con la porción craneal de la vagina, de modo que no se encuentra protusión o fórnix. En general, éste órgano presenta una pared gruesa y una luz estrecha (Sorensen 1987). La túnica serosa no presenta ninguna particularidad, el miometrio está especialmente desarrollado en su capa de fibras longitudinales. La mucosa forma un espiral o anillo con rosca hacia la izquierda, esta se acopla adecuadamente al glándulo del macho el cual presenta forma de sacacorchos (Getty 1982, Dyce et al., 1996). Cuando el macho copula se presentan movimientos de giro del pene hacia delante y hacia atrás, producidos por la contracción y relajación alternadas del músculo retractor del pene. La introducción del pene desencadena en la cerda diversos reflejos. Los músculos que rodean a la vagina se contraen y oprimen al pene.

En el útero ocurren una serie de contracciones en las que también participa el cérvix y dan lugar a que una parte de las secreciones del mismo, se viertan en la vagina. Estas contracciones que se realizan en dirección al útero, favorecen el ascenso de los espermatozoides hacia el oviducto. La cópula se realiza en un lapso de 3 a 20 minutos, durante el cual la hembra suele permanecer completamente inmóvil hasta que el cerdo desmonta (Dyce et al., 1996, Aguilera-Reyes et al., 2006).

Describimos las características histológicas del cérvix de la cerda siguiendo el protocolo descrito por Rodríguez-Antolín et al., (2008), así se analizaron diez cortes al azar de cada una de las siete secciones del cérvix, en cada uno de estos se midió el espesor de cada una de las capas mucosa, submucosa, muscular y túnica adventicia, así como el espesor total de la pared en cuatro puntos, dorsal (D), ventral (V), lateral derecho (LD) y lateral izquierdo (LI).

Encontramos diferencias en tres regiones: craneal, en la que el epitelio se observa de tipo columnar simple, se encuentran acinos glandulares en la submucosa; la región medial donde se presenta una transición del epitelio columnar simple a columnar estratificado, comienzan a desaparecer los acinos; y por último, en la región caudal donde el epitelio es columnar estratificado y no hay presencia de acinos glandulares (Figuras 4, 5 y 6).

El espesor a lo largo del conducto no es homogéneo, probablemente



Figura 4. Esquema de un corte transversal de la región craneal del cérvix que ilustra cada una de sus capas. Tinción hematoxilina-eosina.

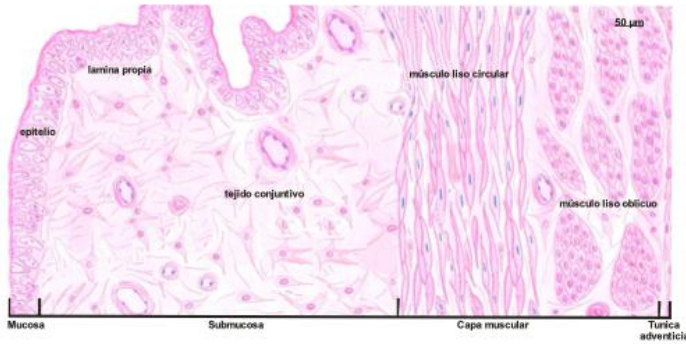


Figura 5. Esquema de un corte transversal de la región medial del cérvix que ilustra cada una de sus capas. Tinción hematoxilina-eosina.

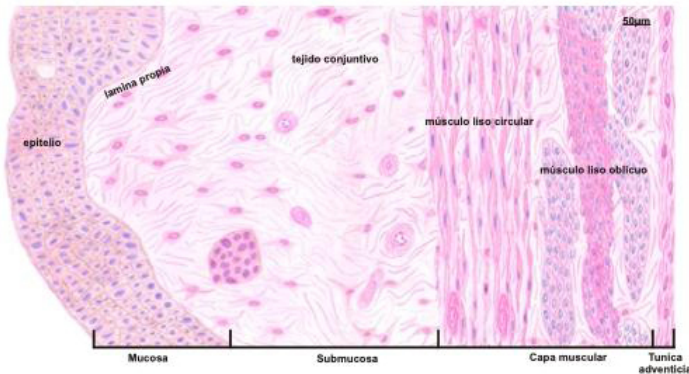


Figura 6. Esquema de un corte transversal de la región caudal del cérvix que ilustra cada una de sus capas. Tinción hematoxilina-eosina.

debido a los pliegues en forma de anillos que se observan en la mucosa. De acuerdo con un estudio realizado por Rigby (1967), las prominencias en la porción uterina del cérvix de cerdas en estro son más pequeñas y delgadas que en la porción vaginal. Observamos un mayor espesor en la porción craneal que en la porción caudal a lo largo del conducto y en los cuatro puntos medidos. En la cerda, como ya mencionamos, las prominencias en forma de anillos que presenta el cérvix se acoplan a la forma del glande del macho, el cual presenta una forma de sacacorchos en sentido contrario al del cérvix. Estas características morfológicas apoyan la hipótesis de la especialización de la genitalia “llave-cerradura” (Fooden 1967).

En la capa mucosa de la región craneal se observó un epitelio de tipo columnar simple, con evidencia de secreción serosa la cual probablemente permite que los espermatozoides puedan pasar al sitio de fertilización más fácilmente.

Dentro de la capa submucosa se observó epitelio encriptado que pudiera estar funcionando como una especie de criptas cervicales para almacenar el semen, aunque no lo podemos afirmar puesto que sería necesario realizar un estudio inmediatamente después de que se lleve a cabo la cópula. Durante la cópula, en la cerda, los espermatozoides son depositados directamente en la región mas craneal del cérvix, los cambios cualitativos cíclicos del moco cervical durante el ciclo estral y las variaciones cíclicas en cuanto a disposición y viscosidad causan cambios periódicos en la penetrabilidad y transporte del espermatozoide hacia el sitio de fertilización (Hafez 1987).

A lo largo del conducto cervical se observaron dos tipos de epitelio, en la región craneal se presenta epitelio cilíndrico simple. En la región medial hay una transición de este tipo de epitelio a epitelio cilíndrico estratificado y en la región caudal se presenta por completo el epitelio cilíndrico estratificado. Durante la cópula el cérvix se relaja y el glande llega hasta este punto siguiendo una rotación durante la intromisión (Rigby 1967). Esta fuerza mecánica a la cual es sometido el cérvix sugiere que exista una protección mayor en la porción caudal, la cual probablemente es dada por el epitelio estratificado, este epitelio está formado por seis a ocho capas que permitirían que la fricción que ejerce el pene sea menos agresiva, así mismo el cérvix durante el parto juega un papel importante en el momento de la expulsión de los fetos. Si no existiera esta protección mecánica se podrían dañar elementos internos del conducto que provoquen que la función esfintérica del cérvix disminuya.

También se observó que la capa muscular a lo largo del conducto cervi-

cal está formada por fibras musculares lisas dispuestas en dirección circular y oblicua. Estas características posiblemente favorezcan el movimiento de rotación del pene que se lleva a cabo durante la intromisión. A diferencia de lo descrito anteriormente para especies como la coneja (Naaktgeboren y Sitsen 1970), oveja (Aughey et al., 1983) y la rata (Harkness y Harkness 1959), solo se observan fibras longitudinales y circulares, una capa externa y una interna, respectivamente; en la mujer la organización de estas fibras cambia ya que la capa interna es longitudinal y la externa circular.

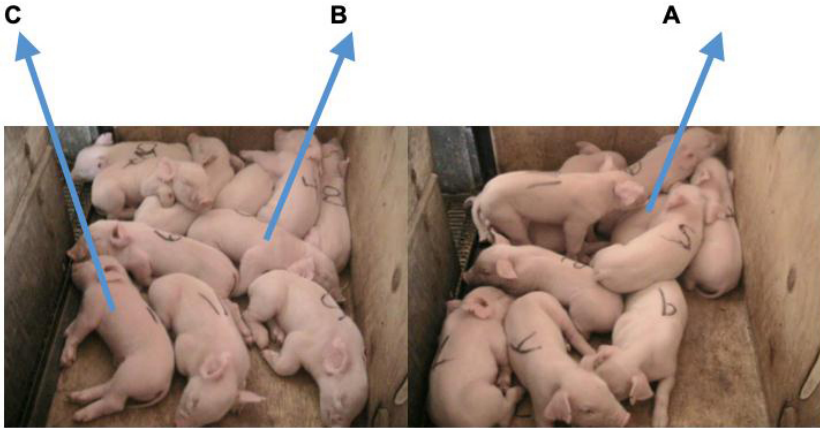
La información de este estudio contribuye con información básica de la histología del aparato reproductor femenino con fines de comparación con otras hembras de mamíferos (Rivas-Arzaluz 2008).

Conducta de agrupación

Realizamos un estudio respecto a la posición de los lechones durante la fase de amamantamiento. La mayoría de los animales altriciales (con escasa madurez durante al momento del nacimiento) presentan una conducta común durante la cual cada individuo recibe diversos estímulos provenientes del medio que los rodea, además de buscar cobijo entre ellos para obtener calor, a esta conducta se le denomina apiñonamiento o agrupamiento. Esta actividad se encuentra bajo control del hipotálamo. Además, existe un intervalo de temperaturas alrededor de los recién nacidos dentro de la cual la tasa metabólica es constante (zona termoneutral o zona confort). La magnitud de este intervalo depende de la edad, el sexo, tamaño corporal y la hora del día.

La termorregulación conductual dentro del agrupamiento es de gran importancia para la mayoría de los mamíferos ya que la inversión de energía tiene un efecto positivo sobre la sobrevivencia, obtención de recursos y de ocupar la mejor posición térmica. Con la finalidad de determinar la posición individual del lechón durante el agrupamiento y sus temperaturas corporales así como la ganancia de peso corporal realizamos el presente estudio en la posta Zootécnica de la Facultad de Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México. Se registraron siete camadas de cerdos de las razas *York-Landrace* (1 camada 12 crías, 1 camada 7 crías, 1 camada 11 crías, 1 camada 7 crías, 1 camada 10 crías y 2 camadas 8 crías), cada lechón oportunamente identificado fué pesado y se les midió la temperatura corporal, a su vez, durante la etapa de amamantamiento, se tomaron fotografías cada 5 minutos durante dos horas aproximadamente por 21 días. Se asignaron tres zonas: Zona A aquellos lechones que se encuentran en la parte central, Zona B aquellos lechones que se

encuentran en la parte intermedia y Zona C aquellos lechones que se encuentran en la periferia) (Figuras 1 y 2).



Representación del agrupamiento de los lechones, así como las posiciones A, B y C.

Se analizaron las fotografías para la obtención de la superficie expuesta y no expuesta (cobertura), tomando en consideración variables como el número de individuos y cobertura por día.

Los resultados indicaron que los lechones que se encuentran en la zona central tienen mayor peso que los lechones que se encuentran en la periferia. Las correlaciones realizadas muestran que tempranamente no está definida la posición y el patrón de distribución dentro del agrupamiento pero, conforme van creciendo y definiendo su posición, los lechones monopolizan el acceso a la zona céntrica y por lo tanto el agrupamiento es más estrecho. Además, los lechones que tienen menor cobertura, tienen una temperatura baja. Las temperaturas corporales de los lechones van de 35 a 38°C (Lucatero-Villaseñor 2009).

En conclusión, los lechones con mayor peso se encuentran en la posición central, con peso intermedio la posición intermedia y los menos pesados en la posición periférica. Por lo tanto, los lechones que tienen un peso corporal mayor tienen una mayor habilidad de competir por la mejor posición térmica dando como resultado el dominio, la sobrevivencia y en este caso, la mejor producción porcícola.

Competencia agresiva entre hermanos durante el amamantamiento

La competencia es una interacción entre individuos provocada por la necesidad común de un recurso limitado. La competencia conduce a la reduc-

ción de la supervivencia, el crecimiento y/o la reproducción de por lo menos algunos de los individuos implicados en ella. Esta interacción puede ocurrir entre miembros de la misma especie (competencia intra específica) o entre individuos de diferentes especies (competencia interespecífica). Una consecuencia de la competencia puede impactar en la disminución de la contribución genética de un individuo a la generación siguiente, en comparación con una situación de ausencia de competidores (Begon et al., 1996).

En las camadas y nidadas de algunos animales, la presencia de hermanos puede disminuir la proporción de alimento que recibe cada uno de los integrantes de una camada o nidada, lo que da como resultado variaciones en el crecimiento y ganancia de peso corporal entre hermanos de la misma edad, razones suficientes para que al interior de las camadas o nidadas se den episodios de competencia por los recursos limitados; lo que, a su vez, es un buen ejemplo de competencia intraespecífica. En estas situaciones, es casi inevitable que hermanos de la misma edad compitan por los recursos provistos por los padres, tales recursos pueden ser: sitios térmicamente ventajosos, cuidado parental, alimento, entre otros. A este tipo de competencia, se le conoce como competencia entre hermanos (Drummond 2006).

En las camadas de cerdo doméstico, se ha descrito competencia entre hermanos. Al nacimiento, los lechones compiten por el acceso a las tetas de la madre para establecer lo que se conoce como “amamantamiento ordenado”. Los individuos con mayor peso al nacimiento son los que acaparan los primeros calostros de la madre lo que les da ventaja competitiva con respecto a sus hermanos menos pesados. Establecido el amamantamiento ordenado, los lechones más agresivos y/o más pesados son los que defienden mejor la teta en la que se posesionan y en consecuencia tienen mayor ganancia de peso durante la lactancia. Las primeras interacciones empiezan minutos después del nacimiento cuando los cerdos recién nacidos compiten por apropiarse de una teta en particular; empujando o mordiendo la cara de los rivales, posteriormente, los lechones tienden a amamantarse hasta el término del amamantamiento de la teta en la que se posesionaron primero (English et al., 1992; Bautista et al., 2005).

Hay evidencia de que los lechones tienden a alimentarse con más frecuencia de las tetas pectorales, con respecto a las abdominales e inguinales. Algunas causas de esta diferencia es que las tetas pectorales, proporcionan mayor seguridad, presentan mayor separación entre sí, con relación a las otras, son más largas y delgadas representando una ventaja,

debido a que los lechones pueden sujetarlas mejor durante la succión, además de que producen mayor cantidad de leche (English et al., 1992).

La confrontación entre los lechones por defender las tetas de las cuales se amamantan, puede considerarse como un caso de lucha por la existencia. Se consideran como más aptos a los lechones de mayor peso o tamaño corporal, ya que se sabe que los más grandes al nacimiento son más resistentes al frío, son los que acaparan los primeros calostros y son más agresivos, por lo que ganan mayor peso corporal y su mortalidad es baja. Lo contrario ocurre con los individuos menos pesados cuya sobrevivencia, es consecuencia de su oportunidad para acceder a las tetas de la cerda. Por lo anterior, es de esperar que los lechones más agresivos defiendan mejor y los más pesados puedan adoptar una mejor posición que les permita pasar más tiempo succionando leche; en consecuencia, tienen mayor ganancia de peso corporal y mayor crecimiento (English et al., 1992 y Drake et al., 2008).

Por otro lado, hay evidencias de que las hormonas esteroides, como la testosterona, están asociadas con la conducta agresiva que se despliega durante la competencia. Sin embargo, la mayoría de los estudios donde se relaciona la concentración de testosterona con el comportamiento agresivo se han hecho principalmente con primates humanos y no humanos adultos, por esta razón existe poca información acerca de la relación de la concentración de testosterona con la agresión en la etapa neonatal de los mamíferos (Bronson y Desjardins 1971).

Con base en lo anterior, en un estudio adicional a los anteriormente descritos, quisimos probar que los lechones con mayor peso corporal al nacimiento presentan mayor concentración de testosterona y mayor frecuencia de conductas agresivas, asegurando su sobrevivencia durante las primeras semanas de vida (etapa de amamantamiento). Utilizamos tres camadas de cerdos *Landrace/Pietrain*, cada una con ocho integrantes, se registró la ganancia de peso corporal diariamente, durante las tres semanas que dura el amamantamiento, se evaluó la competencia por la posición de las mamas, la frecuencia del despliegue de conductas agresivas y se cuantificó la concentración de testosterona por el método de radioinmunoensayo (RIA), con la finalidad de relacionar el peso corporal, concentración de testosterona y conducta agresiva (Gómez-Torres 2010).

De los resultados más importantes de este estudio fue que la conducta agresiva y la ganancia de peso corporal están relacionadas, entre más agresivo es un individuo, más alimento obtiene y por lo tanto gana más peso. Estos resultados fueron parecidos a los encontrados en investigacio-

nes previas, por ejemplo, lo reportado por Drummond (2006), quien menciona que en las camadas de cerdos los encuentros de mayor agresión intracamada, siempre están asociados a la obtención de alimento, igual como ocurre en otras especies. Golla et al., (1999), documentaron que la agresión entre hermanos de camada en la hiena manchada es la principal causa de la diferencia en el peso corporal pre destete. Hartsock y Graves (1976), encontraron que los lechones más pesados al nacimiento, fueron más agresivos durante la etapa de amamantamiento.

Este estudio da cabida a la realización de nuevas investigaciones de conducta neonatal en el cerdo y otras especies, es importante verificar si los individuos más agresivos durante la etapa neonatal, mantienen su nivel de agresión en la etapa del destete y de crecimiento, esto con la finalidad de probar si la agresión es una conducta lineal.

Agradecimientos

A Lesly Berenice Bobadilla Alegría por su apoyo en la compilación de la bibliografía y valiosas aportaciones al manuscrito.

REFERENCIAS

- Aguilera R.U., García L.G.I., Zavala P.G., Monroy V.O., Pescador S.N., Elección precopulatoria y conducta copulatoria en cerdos yorkshire, yorklandrace y landrace, *Acta Zool. Mexicana (nueva serie)* 22 (2006) 63–73.
- Aguilera R.U., García L.G.I., Zavala P.G., Monroy V.O., Pescador S.N., Elección precopulatoria y conducta copulatoria en cerdos yorkshire, yorklandrace y landrace, *Acta Zool. Mexicana (nueva serie)* 22 (2006) 63–73.
- Aguirre, C. J. F., & Morfin, L. R. M. (2016). Contribución de modelos animales para el estudio de desórdenes del comportamiento humano. *PSIENCIA. Revista Latinoamericana de Ciencia Psicológica*, 8(2), 1-24.
- Altman J., Estudio observacional del comportamiento: métodos de muestreo, *comportamiento* 49 (1974) 227–267.
- Anderson L.L., Pigs, en: Hafez E.S.E. (Ed.), *Reproducción en animales de granja*, 5a ed., Lea y Febiger, EE. UU., 1987.
- Aughey E, Munro C D, Calder A A, Coutts JRT y Fleming R. 1983. The histology and ultrastructure of the pregnant sheep cervix uteri. *J. Anatomy*. 132: 448.
- Bautista, A., Juárez, M., Martínez-Gómez, M., y Hudson, R. (2005). Hermano, querido hermano: competencia por la leche. *Ciencias*. 77: 48-54.
- Begon, M., Harper, J., y Townsendi, C. (1996). *Ecología*. Tercera edición. Editorial Omega. Barcelona. 230pp.
- Blackschaw J.K., Notas sobre algunos ics en comportamiento animal aplicado, Escuela de Ciencias Veterinarias, Australia, 1986.
- Bronson, F. H., & Desjardins, C. (1971). Steroid hormones and aggressive behavior in mammals. In *The physiology of aggression and defeat* (pp. 43-63). Springer, Boston, MA.
- Carranza DG. Respuesta de un promotor de crecimiento en cerdos landrace x pietrain en el crecimiento fase. Tesis de Licenciatura, Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Quevedo, Los Ríos, Ecuador. 2015.
- Carrillo Castilla, P., García López, G. I., Gómez Torres, N. S., Venebra Muñoz, A., & Aguilera Reyes, U. (2020) Elección diferencial de secreciones prepuciales y salivales de machos por un grupo de cerdas (scrofa). *Revista Veterinaria Argentina*.
- Drake, A., Fraser, D., y Weary, D. (2008). Parent-offspring resource allocation in domestic pigs. *Behavior, Ecology and Sociobiology*. 62: 309-319.
- Drummond, H. (2006). Dominance in vertebrate broods and litters. *The Quarterly Review of Biology*. 81: 3-32.
- Dyce K. M., Sack W. O., Wensing C. J. G. (1996). *Anatomía Veterinaria*. Ed. Mc Graw Hill Interamericana. Segunda Edición. México. D.F. págs. 377-379.
- Eberhard W.G., elección de control femenino, prensa académica, Nueva York, 1996.
- English, P. V., Fowler, S., Baxter, M y Smith, W. (1992). Crecimiento y finalización del cerdo. El manual moderno. México. Distrito Federal. 512 pp.
- Fernández, L., Velásquez, M., Sua, L. F., Cujiño, I., Giraldo, M., Medina, D., ... & Gutiérrez-Martínez, L. (2019). El biomodelo porcino en la investigación médica traslacional: del biomodelo al humano en trasplante pulmonar. *Biomédica*, 39(2), 300-313.
- Fooden J. 1967. Complementary Specialization of Male and Female Reproductive Structures in the Bear Macaque, *Macaca arctoides*. *Nature*. 214: 939-941.
- Getty R. (1982). *Anatomía de los animales domésticos*. Tomo II. Quinta Edición. Salvat. Editores. S. A. Barcelona. España. págs. 1563-1565.

- Golla, W., Hofer, H., & EAST, M. L. (1999). Within-litter sibling aggression in spotted hyaenas: effect of maternal nursing, sex and age. *Animal Behaviour*, 58(4), 715-726.
- Gómez-Torres, N.S. 2010. Competencia entre hermanos durante el amamantamiento: relación entre el comportamiento agresivo, peso corporal y concentración de testosterona en el cerdo doméstico (*sus scrofa*). Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de México.
- Hafez E.S.E., Anatomía de la reproducción femeninación, en: Hafez E.S.E. (Ed.), Reproducción en animales de granja, Lea y Febiger, Filadelfia, Estados Unidos, 1987, págs. 35-64.
- Hartsock, T., y Graves, H. (1976). Neonatal behavior and nutrition-Related Mortality in Domestic Swine. *J Anim Sci.* 42: 235-241.
- Hemsworth, P. H., Beilharz, R. G. y W. L. Brown. 1978. La importancia del cortejo y comportamiento del jabalí sobre el éxito de los apareamientos naturales y artificiales. *Apl. Anim. Ethol.*4: 341-347.
- Hughes, P. E., & M. A. Marley. 1984. Reproducción del cerdo. Ed. Acribia. Zaragoza, España. 384 pp.
- Lucatero Villaseñor, R. 2009. Posición de los lechones dentro del agrupamiento y su relación con la temperatura corporal. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de México.
- Mayer, J. J. e I. L. Brisbin. 1986. Una nota sobre el comportamiento de marcado de olor de dos criados en cautiverio jabalíes. *Apl. Anim. Behav. Sci.* 16 81986) 85-90.
- Naaktgeboren C y Sitsen MWL. 1970. On the Functional Anatomy of the Cervical Region in the Rabbit. *Forma et Functio.* 2: 254-265.
- Pearce, G. P., P. E. Hughes y W. D. Booth. 1988. La afectación del submaxilar de verraco. Las secreciones de las glándulas salivales en el verraco indujeron el logro de la pubertad precoz en las primerizas. *Anim.Repro. Sci.* 16, 125-134.
- Rigby JP. 1967. The Cervix of the Sow During Oestrus. *The Veterinary Record.* 80:672-675.
- Rodríguez-Antolín, J., Xelhuanzi, N., García-Lorenzana, M., Cuevas, E., Hudson, R., & Martínez-Gómez, M. (2009). General tissue characteristics of the lower urethral and vaginal walls in the domestic rabbit. *International Urogynecology Journal*, 20(1), 53-60.
- Rivas Arzaluz, C.U. 2008. Caracterización histológica del cérvix de la cerda doméstica (*Sus scrofa*). Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de México.
- Sorensen AM. 1987. Reproducción Animal. Editorial Mc.Graw-Hill.
- Valenzuela, C., Antileo, R., Lagos, G., & Pizarro, F. (2015). El cerdo como modelo experimental para la nutrición de hierro. *Revista chilena de nutrición*, 42(2), 191-198.
- Wu C, Jiang Y, Chu H, Li S, Wang Y, Li Y, Changs Y Y Ju Y. El cerdo Lanyu tipo I tiene un linaje genético materno distinto de los cerdos asiáticos y europeos. 38 (5), 499-505. *Genética animal*, 2007.

Modelos animales para el estudio de la obesidad

Deissy Herrera-Covarrubias
Antares Basulto Natividad
Gonzalo E. Aranda-Abreu
María Elena Hernández

“La comida que comes puede ser la más poderosa forma de medicina o la forma más lenta de veneno”

Ann Wigmore.

Introducción

La obesidad tiene muchas implicaciones en la salud y en la enfermedad de los individuos. Por un lado pudieramos argumentar que la capacidad de generar obesidad resulta de una adaptación biológica. Por ejemplo, se ha sugerido que a partir de una mutación genética los organismos desarrollaron la capacidad de ahorrar calorías y almacenarlas (Venniyoor, 2020). Dicha teoría del “gen ahorrativo” considera que en épocas pasadas todos los organismos dependían de la disponibilidad estacional de los alimentos, y eran susceptibles a las carencias ocasionadas por el clima inadecuado. Por lo tanto, los organismos con la mutación del “gen ahorrativo” expresarían modificaciones en el metabolismo que les permitirían almacenar el exceso de energía en forma de grasa y sobrevivir a largos periodos de hambruna. Desde esa perspectiva el exceso en los depósitos de grasa se explicaría como un proceso fisiológico adaptativo, ya que la disposición de acumular energía sería determinante entre sobrevivir o morir en circunstancias donde no hay alimento (Méndez-Sánchez, 2020). Hace apenas unos siglos, en la época del renacimiento, la acumulación de grasa seguía siendo considerada como un símbolo de abundancia, fertilidad, placer e incluso belleza, sin importar las consecuencias que implicaba poseerla. Sin embargo, en la actualidad la obesidad ya es catalogada como un factor de riesgo clave para el desarrollo de múltiples enfermedades físicas y mentales, tales como la diabetes, enfermedades

cardiovasculares, Alzheimer y el cáncer (Aizawa-Abe et al., 2000; Allott, Masko, & Freedland, 2013; Argolo, Iyengar, & Hudis, 2015; Tabassum, Misrani, & Yang, 2020). Para muchos, la obesidad es considerada actualmente como una pandemia, y además, algunos creen que es la principal causa de muerte evitable (Patterson & Abizaid, 2013), sobre todo porque se considera que un individuo se torna obeso cuando la cantidad de energía voluntariamente consumida sobrepasa por periodos prolongados los niveles necesarios para mantener sus actividades diarias. En realidad, los mecanismos que subyacen a algunos casos de obesidad son mucho más complejos que el consumo voluntario, e incluyen alteraciones endocrinas, genéticas o cerebrales. En México y en el mundo, las estrategias para combatirla o reducirla son insuficientes. En parte, porque el consumo de alimentos surge de neurocircuitos que producen conductas motivadas muy potentes, pero también porque hay fácil acceso a la comida rápida, bebidas azucaradas y/o carbonatadas con alto valor calórico y pobre valor nutricional. Dada la complejidad de estudiar experimentalmente la obesidad en humanos, se han desarrollado varios modelos en animales para estudiar su fisiopatología, sus diferentes orígenes y posibles aproximaciones clínicas.

Dieta de cafetería / obesidad alimentaria

Para inducir obesidad por alimentación, los animales deben consumir más energía de la que van a utilizar para sus actividades diarias. En el siglo pasado se comenzó a utilizar dietas semilíquidas para roedores experimentales, con más de 50% de la energía total basada en grasas. Cuando se aplicaba a ratones recién destetados estos incrementaban su peso corporal de manera muy rápida, por lo que le llamaron “obesidad nutricional”, cambiándolo más tarde por el término “obesidad alimentaria” (Fenton & Dowling, 1953). De manera general se utilizan dietas altas en grasas con valores del 30-80% de la ingesta total de energía, agregando un tipo de grasa en particular a la dieta o usando diferentes alimentos de supermercados ricos en grasas y azúcares (Ghibaudi, Cook, Farley, van Heek, & Hwa, 2002). Esto último ha dado origen a la popular “dieta de cafetería”, la cual es un tipo de alimentación considerada alta en grasa (30-40%) y alta en azúcares (45-55%), pero deficiente en proteínas (15%). Por lo general los animales de laboratorio son alimentados con donas, pasteles, chocolates, galletas, tocino, salchicha y queso, por mencionar algunos. Este modelo, imita los patrones de alimentación en el humano, por lo que es considerada como el mejor modelo para estudiar la obesidad inducida por la dieta.

Otras dietas altas en carbohidratos y bajas en grasa no son tan eficientes. El consumo excesivo de la “dieta de cafetería” favorece la adiposidad y el desarrollo de síndrome metabólico (Lalanza & Snoeren, 2021). Además, ha sido utilizada para analizar el comportamiento en animales, ya que tras su consumo, se encuentra que puede reducir el valor hedónico (placer) de otros estímulos, afecta la percepción del estrés e incluso la memoria espacial (Lalanza & Snoeren, 2021).

No todas las dietas altas en grasa resultan en la misma proporción de obesidad o en las mismas alteraciones metabólicas. Por ejemplo, en una revisión de los datos se concluyó que roedores alimentados con aceites vegetales que contienen omega-6 y omega-9 sí pueden generar obesidad con resistencia a la insulina, mientras que los animales alimentados con aceite de pescado no desarrollan estos trastornos (Buettner, Scholmerich, & Bollheimer, 2007). El modelo de “dieta de cafetería” permite proporcionar altos porcentajes de energía total en forma de grasa saturada, y estudiar el deterioro metabólico en roedores a través del desarrollo de obesidad (Buettner et al., 2007). La composición de ácidos grasos en la dieta desempeña un papel determinante en la regulación del peso corporal, así como el volumen del tejido adiposo. Por ejemplo, estudios en humanos han mostrado que los ácidos grasos saturados (AGS) tienen un mayor potencial para inducir obesidad, es decir son más obesogénicos que los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) (Lawton, Delargy, Brockman, Smith, & Blundell, 2000). En animales, sucede el mismo patrón. Los AGS tienen un mayor efecto obesogénico al ser poco utilizados como fuente de energía, por lo que son fácilmente almacenados en el tejido adiposo, mientras que los AGPI se usan frecuentemente para la obtención de energía y por lo tanto, su almacenamiento es menor (Storlien et al., 2001). Las dietas de cafetería pueden incrementar más del 30% de peso corporal en cuatro semanas (Leone et al., 2018) (Figura 2).

Obesidad hipotalámica

La ingesta de alimentos es un proceso necesario para la correcta actividad de las funciones vitales y está mediada por los diversos sistemas neuroendócrinos que regulan la homeostasis energética (Palma & Iriarte, 2012). Por ejemplo, el hipotálamo es una estructura cerebral indispensable para la generación de hambre o saciedad, lo cual lleva a los individuos a consumir o detener el consumo de alimentos (Hall & Guyton, 2011). Además, esta estructura cerebral cuenta con circuitos de comunicación neuronal con otras regiones cerebrales como la amígdala, hipocampo, tálamo y la

corteza que también participan en la conducta alimentaria produciendo emoción, memoria y hábitos en el consumo (González Hita, 2006). En el hipotálamo los núcleos laterales (LH) participan como centro integrativo del hambre, ya que cuando estos se activan los animales tienden a expresar mayor cantidad o frecuencia en el consumo de alimentos, denominado hiperfagia. Por el contrario, los núcleos ventromediales (VMH) están relacionados con la generación de saciedad, ya que cuando se activan los animales dejan de comer (Figura 1).

Para comprender mejor los mecanismos del hambre y la saciedad es necesario conocer como funcionan en el cerebro las señales a corto y largo plazo. Por ejemplo, las señales a corto plazo surgen de la ingesta de comida más que del almacenamiento de energía, ya que esas señales están reguladas por nutrientes y hormonas intestinales presentes en la circulación y que son enviadas, por aferencias nerviosas vagales, hacia el cerebro generando una sensación de saciedad sin repercusiones en la adiposidad del organismo (Malbert, 2021). Por el contrario, las señales a largo plazo envían información al cerebro acerca del almacenamiento general de energía y no sólo del contenido energético de la última comida realizada (Higgins, 2019). Esto se lleva acabo a través de señales enviadas por los adipocitos, las cuales son las células presentes en la grasa. Por lo tanto, las señales químicas de largo plazo dependen de la cantidad de grasa que tenemos almacenada, y que atraviesan la barrera hematoencefálica, estimulando receptores específicos en el cerebro para producir cambios en la conducta de alimentación, con lo cual se modera la ingestión calórica y el gasto energético (Higgins, 2019).

Los primeros experimentos realizados en animales mostraron que el cerebro puede detectar los niveles de energía circulante y modular de manera rápida el consumo de alimentos. Quedó comprobado que una inyección de glucosa directamente dentro de los ventrículos laterales en el cerebro disminuía el consumo de comida de manera rápida en ratas (Herberg, 1960). Posteriormente, se descubrió que es en el LH y VMH donde respectivamente yacen los centros de hambre y saciedad, funcionan mediante la inhibición mutua a través de neuropéptidos reguladores (Higgins, 2019). Por ejemplo, en una prueba conductual en ratas para medir su deseo por la comida, se encontró que la estimulación eléctrica del LH mediante electrodos resultaba en cruce de barreras electrificadas para tener acceso al consumo de comida (Morgane, 1961), pero la ingesta de comida era inhibida por la estimulación del VMH, o exacerbada cuando este último era anestesiado con lidocaína (Hoebel & Teitelbaum, 1962). Experi-

mentos en cabras también mostraron que la estimulación eléctrica del VMH producía inhibición de la conducta de ingesta, ya fuera en animales con ayuno o en aquellos que se evocaba el consumo mediante la estimulación del LH (Wyrwicka & Dobrzecka, 1960). Datos recientes indican que la subregión tuberal del LH es la responsable de la conducta de alimentación y no las regiones posterior o preóptica (Urstadt & Berridge, 2020). A partir de la dualidad hipotálmica se generó la teoría del “set-point” para el peso corporal. Es decir, que el LH y VMH modulan de manera exclusiva el consumo de energía para mantener un peso estable (Harris, 1990). Las lesiones del VMH pueden incrementar el peso corporal de ratas hasta 195% (Keesey, Mitchel, & Kemnitz, 1979) (Figura 2). Estas regiones cerebrales responden a los niveles de hormonas que producen hambre (orexigénicas) o que inhiben el hambre (anorexigénicas). Por ejemplo, el ayuno prolongado estimula al estómago para incrementar la liberación en sangre de los niveles de la hormona llamada grelina. Esta puede cruzar la barrera hematoencefálica y llegar a núcleos cerebrales, como el arcuato para estimular el hambre a través de la producción de neuropéptido Y (NPY) y a la proteína relacionada con agoutí (AgRP) (Calzada-León, Altamirano-Bustamante, & Ruiz-Reyes, 2008). Estas hormonas estimulan el LH para incrementar el apetito (Gumbs et al., 2020). Modelos de estudios de obesidad con grelina, han mostrado que, en roedores, la administración de grelina mediante inyecciones vía intracerebroventricular, estimula la ingesta de alimentos, produce incremento de peso corporal y disminución del gasto energético. Además, mediante la co-expresión de marcadores de actividad neural como el c-Fos, se mostró que la grelina se encuentra en regiones cerebrales que participan en la regulación de alimentos, y que su administración incrementa la ingesta de alimentos en ratas genéticamente deficientes de la hormona de crecimiento (Nakazato et al., 2001). Otros estudios muestran que la administración directa de la grelina al tronco cerebral caudal en roedores aumenta significativamente la ingesta acumulada de alimentos, 1, 2 y 3 horas posteriores a la inyección, por lo que induce a la obesidad. Así mismo, se detectó un incremento en la expresión de NPY y AgRP en los animales tratados con grelina, lo que refuerza su efecto orexigénico (Toshinai et al., 2001). Por el contrario, cuando el individuo ha consumido alimentos, el tejido adiposo libera la hormona leptina, la cual inhibe directamente al núcleo arcuato para disminuir la cantidad de NPY y activar mecanismos de saciedad en el VMH (van Swieten, Pandit, Adan, & van der Plasse, 2014).

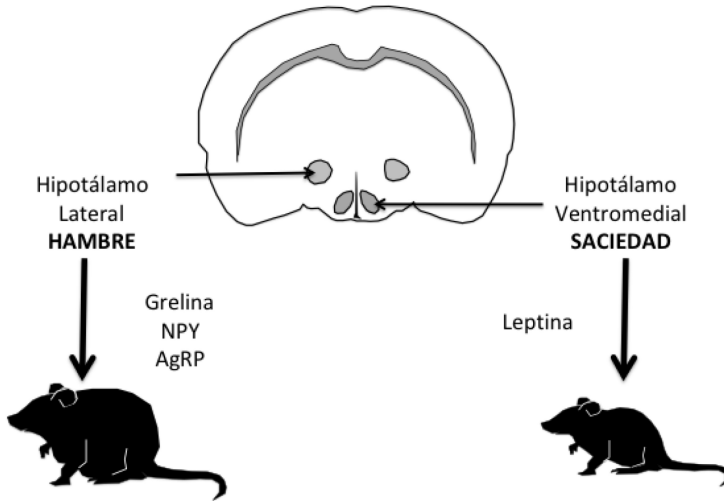


Figura 1. El hipotálamo es el centro regulador de la conducta de alimentación. El hipotálamo lateral (LH) participa en la generación de hambre a través de péptidos como la grelina, el neuropéptido Y (NPY) y la proteína relacionada con agouti (AgRP), mientras que el hipotálamo ventromedial (VMH) participa en la generación de saciedad a través de la leptina.

Obesidad por estrés

El estrés puede ser un factor ambiental que impacta en la cantidad de comida consumida, y por lo tanto puede contribuir al desarrollo de la obesidad (Patterson & Abizaid, 2013). La activación del eje hipotalámico-pituitario-adrenal (HPA) y sus hormonas resultantes tienen una fuerte asociación entre la grasa abdominal y la obesidad (Bjorntorp, 2001). Niveles elevados de cortisol, así como la inhibición de esteroides sexuales y la secreción de hormona de crecimiento (GH), originan la acumulación de grasa en tejidos viscerales y desencadenan anomalías metabólicas. Un modelo de obesidad en roedores ha utilizado la administración de glucocorticoides, ya que estos favorecen una mayor ingesta de alimentos y resistencia a la leptina (Bjorntorp, 2001). Del mismo modo, otros modelos de estrés en animales favorecen de manera colateral el incremento de peso corporal (Patterson & Abizaid, 2013).

Paradigma residente-intruso y obesidad

Dentro de estos modelos de estrés encontramos el paradigma de residente intruso o también conocido como derrota social. Este modelo consiste en colocar dos roedores macho; uno es residente, el dominante que establece y defiende su territorio (jaula). El otro es el intruso que, por lo general, ten-

drá que defenderse de las agresiones del macho dominante. Con este modelo se estudia el estrés que se genera al animal intruso, así como la agresión por parte del residente, aunque también sirve para estudiar los efectos de la dominancia y subordinación en animales. Esta convivencia genera una disminución en la respuesta inmune para el animal intruso o subordinado, así como un incremento en la ingesta de alimentos y ganancia de peso corporal (Foster, Solomon, Huhman, & Bartness, 2006). Dentro de este mismo modelo se observan elevaciones de corticosteroides, glucosa y grelina. Así como aumento en la expresión del neuropéptido Y (NPY) y proteína relacionada con agoutí (AgRP) en el hipotálamo, por lo que los animales que son sometidos a este paradigma presentan un incremento en la ingesta de alimentos y adiposidad de tipo visceral (Patterson, Khazall, Mackay, Anisman, & Abizaid, 2013). El estrés social puede incrementar la obesidad en un 10-13% (Foster et al., 2006; Tamashiro et al., 2007) (Figura 2).

Inmovilización o estrés por restricción

La inmovilización o estrés por restricción, son considerados como factores físicos que generan estrés leve en los animales. Sin embargo, se ha observado que además del estrés que generan, también alteran las respuestas endocrinas, aumentando la expresión de péptidos orexigénicos en el hipotálamo de los animales, incluso cuando ya no están sometidos a la restricción/inmovilización (Tamashiro, Hegeman, & Sakai, 2006). Dentro de los cambios neuroendocrinos que genera el estrés por restricción, encontramos un incremento de neuronas que expresan AgRP, así como una reducción de la hormona estimulante de melanocitos (MSH) en el núcleo arcuato del hipotálamo, lo que sugiere un aumento del hambre y una inhibición de la saciedad, respectivamente, resultando en incremento de la ingesta de alimento y depósito de grasa corporal en los animales sometidos a estrés (Chagra, Zavala, Hall, & Gosselink, 2011).

225

Estrés por frío

Este es un modelo ampliamente utilizado como un estresor físico que permite explorar cómo se afectan los procesos metabólicos mediante el estrés. En este modelo, se puede evaluar el incremento en los niveles de cortisol y de la hormona corticotropina, la cual está vinculada con el aumento de péptidos orexigénicos como son el NPY y el AgRP a nivel hipotálamico. El estrés por frío combinado con una dieta alta en grasas incrementa los niveles de NPY, favorece el aumento de sus receptores

(NPY2R) de manera independiente a glucocorticoides y favorece el almacenamiento de grasa abdominal, infiltración de macrófagos, proliferación y diferenciación de adipocitos, fomentando una obesidad de tipo abdominal, muy parecida a lo que sucede en el síndrome metabólico (Kuo et al., 2007). A pesar de que este modelo puede ser utilizado para estudiar la obesidad por estrés, se ha argumentado que no es un modelo claro, ya que no se sabe de manera precisa si los cambios en el NPY son en realidad un mecanismo de termoregulación que desencadenan una respuesta en la ingesta, para recuperar la energía del organismo, mas que de cambios permanentes a nivel metabólico. Además, que este tipo de estrés presenta efectos opuestos tanto en animales como en humanos (Patterson & Abizaid, 2013).

Si bien es cierto que diversos estudios han mostrado cómo el estrés modula el metabolismo favoreciendo la ganancia de peso, existen otros estudios que muestran lo contrario, encontrando una disminución del peso corporal y de la ingesta de alimento (Depke et al., 2008). Por ejemplo, experimentos de estrés psicológico crónico, llevados a cabo en ratones hembra BALB/c, una cepa de ratón albino, provocaron el desarrollo de un síndrome hipermetabólico, con pérdida grave de masa corporal, además de presentar altos niveles de glucosa en sangre (hiperglucemia) y alteraciones en los niveles de lípidos en sangre (dislipidemia), asociadas a niveles elevados de cortisol, resistencia a la insulina e hiperleptinemia, esto comparado con ratones hembra que solo fueron sometidas a una sola exposición de estrés agudo (Depke et al., 2008). Además, es importante resaltar que no todos respondemos igual al estrés, algunas personas pierden peso, mientras que otras aumentan. Sin embargo, el estudio en modelos animales nos permite acercarnos un poco más para encontrar las respuestas fisiológicas que se relacionan con la obesidad por estrés. El estrés por frío puede incrementar la grasa visceral en un 15% en aquellos animales con dietas altas en grasa y azúcar, comparados con los que solamente reciben esa dieta (Kuo et al., 2007).

Obesidad genética

Ratas Zucker

Las ratas Zucker obesas, son un excelente modelo animal de obesidad genética. Ya que la obesidad en estas ratas es heredada cuando ambos padres transmiten a su descendencia un gen recesivo (Amaya & Miguel, 2008). La presencia del gen recesivo se asocia con alteraciones en el receptor de leptina, lo cual hace que las ratas Zucker sean insensibles a la señalización de

saciedad de la hormona leptina, causando hiperfagia y obesidad. Fueron descubiertas en 1961 por Lois Zucker, por eso llevan su nombre. Son ratas ampliamente utilizadas para diversos estudios, aunque presentan algunas limitantes. Por ejemplo, presentan altos niveles de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y de alta densidad (HDL), pero no de lipoproteínas de baja densidad (LDL), por lo que no deberían utilizarse como modelo de lesiones vasculares por acumulación de grasa (ateroesclerosis). También presentan hiperinsulinemia y se las han considerado como un modelo para estudiar la diabetes mellitus. Sin embargo, su utilización es debatible ya que la mayoría de las veces los niveles de glucosa son normales y algunas ratas Zucker solo presentan una ligera intolerancia a la glucosa. Sin embargo, como modelo de síndrome metabólico y obesidad son ampliamente utilizados y es un modelo válido a nivel mundial. Las ratas Zucker pueden llegar a pesar 60% más comparados con un animal control (Amaya & Miguel, 2008) (**Figura 2**).

Ratón *ob/ob*, *db/db*

Hace algunas décadas se descubrió que algunos ratones son portadores de una mutación que genera hiperfagia, letargia, hiperglucemia y obesidad, a los cuales se les denomina como cepa *ob/ob* (Ingalls, Dickie, & Snell, 1950). Posteriormente se mostró que existía una nueva cepa que presentaba hiperfagia, obesidad, diabetes e hiperlipidemia a la cual se le designó como *db/db* (Piattini et al., 2019). Mediante estudios de parabiosis, técnica quirúrgica utilizada en fisiología y que trata de combinar dos organismos vivos mediante la unificación sanguínea, se realizaron varios experimentos con estas dos cepas y con ratones normales. Los ratones *ob/ob* conectados a un ratón normal disminuían la hiperfagia y perdían peso, mientras que en el ratón *db/db* no sucedía nada. Se propuso que en los ratones normales existía “algo”, alguna molécula que regulaba el apetito y por lo tanto evitaba la obesidad en ellos y que en los otros ratones esa molécula estaba ausente, ahora sabemos que era la *leptina* (Manuel, Zárate, & Hernández-Valencia, 2012). Los ratones *ob/ob* no producen leptina, mientras que los *db/db* tiene un receptor de leptina inactivo. El nombre *leptina* proviene del griego “leptos” que significa delgado. Esta hormona fue descubierta en 1950, en el Jackson Laboratory de Maine en Estados Unidos, y es una hormona sintetizada por las células del tejido adiposo llamados adipocitos que promueve la reducción de la ingesta de alimentos a través del envío de señales de saciedad al cerebro, indicando que existe suficiente tejido adiposo, por lo que a nivel central se origina una disminución en la ingesta de alimentos y un aumento del gasto

energético (Rosado, Monteiro, Chaia, & do Lago, 2006). Estudios con ratones *ob/ob* han mostrado que la administración de leptina reduce la ingesta de alimentos y promueve el gasto energético (Du, Higginbotham, & White, 2000). Los animales *ob/ob* son excelentes modelos animales con defecto en la señalización de la leptina, ya sea en la producción o la expresión de esta hormona, en los cuales se desarrolla hiperfagia y obesidad, independientemente de los niveles de insulina que los animales presenten. Lo mismo sucede en modelos animales con resistencia a la leptina, tal resistencia favorece la ganancia de peso en los animales. Los ratones con la mutación *ob/ob* pueden incrementar su peso corporal hasta 310% comparados con los ratones control (Ingalls et al., 1950) (Figura 2).

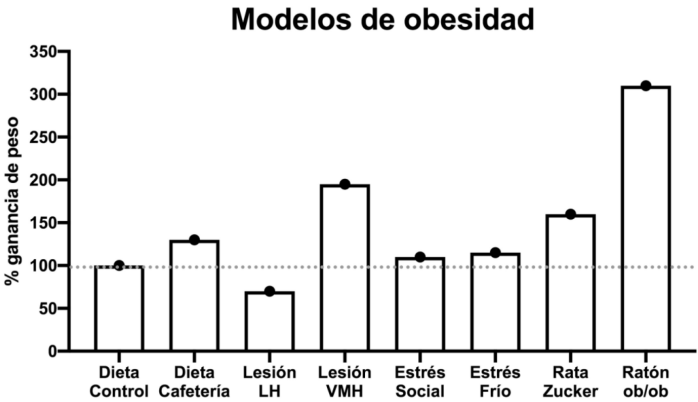


Figura 2. Existen diferentes modelos animales para inducir y estudiar obesidad. Con base en los datos de este capítulo se muestra la eficacia de cada modelo en el incremento de peso corporal comparado con animales sometidos a una dieta control. Los animales que consumen dieta de cafetería incrementan en poco tiempo hasta 30% de peso. Los animales con lesión del hipotálamo lateral (LH) reducen su consumo de alimento y el peso corporal al 70% por ser un centro generador de hambre. Los animales con lesión del hipotálamo ventromedial incrementan hasta un 195% por ser un centro generador de saciedad. El estrés facilita el incremento de peso cuando se les permite consumo de dietas hipercalóricas. Las mutaciones en la producción de leptina o sensibilidad de sus receptores son las más eficaces para generar obesidad.

Conclusiones

Los modelos de obesidad en animales han mostrado que es posible realizar análisis experimentales sobre los mecanismos que subyacen a la ganancia de peso en los animales y las consecuencias sobre la salud de los mismos. Los diferentes modelos proveen información complementaria, mas no absoluta. Los modelos más eficaces parecen ser aquellos que inclu-

yen alteraciones del sistema de leptina (i.e. rata Zucker, ratón ob/ob), seguidos de aquellos modelos con alteraciones del sistema cerebral de saciedad (i.e. VMH), aunque estos modelos son los menos parecidos a las condiciones comunes en las que ocurre la obesidad en la sociedad. Los modelos con dieta hipercalórica permiten trazar similitudes con la ingesta que se observa en los humanos y con niveles de obesidad moderados a altos.

REFERENCIAS

- Aizawa-Abe, M., Ogawa, Y., Masuzaki, H., Ebihara, K., Satoh, N., Iwai, H., . . . Nakao, K. (2000). Pathophysiological role of leptin in obesity-related hypertension. *J Clin Invest*, 105(9), 1243-1252. doi:10.1172/JCI8341
- Allott, E. H., Masko, E. M., & Freedland, S. J. (2013). Obesity and prostate cancer: weighing the evidence. *Eur Urol*, 63(5), 800-809. doi:10.1016/j.eururo.2012.11.013
- Amaya, A., & Miguel, M. (2008). Ratas Zucker como modelo experimental para el estudio de diferentes enfermedades. *Endocrinol Nutr.*, 55(5), 217-222.
- Argolo, D. F., Iyengar, N. M., & Hudis, C. A. (2015). Obesity and Cancer: Concepts and Challenges. *Indian J Surg Oncol*, 6(4), 390-398. doi:10.1007/s13193-015-0483-z
- Bjorntorp, P. (2001). Do stress reactions cause abdominal obesity and comorbidities? *Obes Rev*, 2(2), 73-86. doi:10.1046/j.1467-789x.2001.00027.x
- Buettner, R., Scholmerich, J., & Bollheimer, L. C. (2007). High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. *Obesity (Silver Spring)*, 15(4), 798-808. doi:10.1038/oby.2007.608
- Calzada-León, R., Altamirano-Bustamante, N., & Ruiz-Reyes, M. (2008). Neuroendocrine and gastrointestinal modulators of appetite and satiety. *Bol. Med. Hosp. Infant. Mex.*, 65(6).
- Chagra, S. L., Zavala, J. K., Hall, M. V., & Gosselink, K. L. (2011). Acute and repeated restraint differentially activate orexigenic pathways in the rat hypothalamus. *Regul Pept*, 167(1), 70-78. doi:10.1016/j.regpep.2010.11.006
- Depke, M., Fusch, G., Domanska, G., Geffers, R., Volker, U., Schuett, C., & Kiank, C. (2008). Hypermetabolic syndrome as a consequence of repeated psychological stress in mice. *Endocrinology*, 149(6), 2714-2723. doi:10.1210/en.2008-0038
- Du, F., Higginbotham, D. A., & White, B. D. (2000). Food intake, energy balance and serum leptin concentrations in rats fed low-protein diets. *J Nutr*, 130(3), 514-521. doi:10.1093/jn/130.3.514
- Fenton, P. F., & Dowling, M. T. (1953). Studies on obesity. I. Nutritional obesity in mice. *J Nutr*, 49(2), 319-331. doi:10.1093/jn/49.2.319
- Foster, M. T., Solomon, M. B., Huhman, K. L., & Bartness, T. J. (2006). Social defeat increases food intake, body mass, and adiposity in Syrian hamsters. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 290(5), R1284-1293. doi:10.1152/ajpregu.00437.2005
- Ghibaudi, L., Cook, J., Farley, C., van Heek, M., & Hwa, J. J. (2002). Fat intake affects adiposity, comorbidity factors, and energy metabolism of sprague-dawley rats. *Obes Res*, 10(9), 956-963. doi:10.1038/oby.2002.130
- González Hita, M., Ambrosio, K., & S., S. (2006). Regulación neuroendócrina del hambre, la saciedad y mantenimiento del balance energético. *Investigación en Salud*, 8(3), 191-200.
- Gumbs, M. C. R., Eggels, L., Kool, T., Unmehopa, U. A., van den Heuvel, J. K., Lamuadni, K., . . . la Fleur, S. E. (2020). Neuropeptide Y Signaling in the Lateral Hypothalamus Modulates Diet Component Selection and is Dysregulated in a Model of Diet-Induced Obesity. *Neuroscience*, 447, 28-40. doi:10.1016/j.neuroscience.2019.12.014
- Hall, J., & Guyton, A. (2011). Equilibrio energético; regulación prandial; obesidad y ayuno; vitaminas y minerales. In J. Hall (Ed.), *Tratado de fisiología médica* (12 ed., Vol. 1, pp. 1092): Elsevier Saunders.
- Harris, R. B. (1990). Role of set-point theory in regulation of body weight. *FASEB J*, 4(15), 3310-3318. doi:10.1096/fasebj.4.15.2253845
- Herberg, L. J. (1960). Hunger reduction produced by injecting glucose into the lateral ventricle of the rat. *Nature*, 187, 245-246. doi:10.1038/187245bo

- Higgins E, & M., G. (2019). Sección III Conductas; Apetito *Neurociencia en psiquiatría* (3 ed., Vol. 1). Philadelphia: Wolters Kluwer.
- Hoebel, B. G., & Teitelbaum, P. (1962). Hypothalamic control of feeding and self-stimulation. *Science*, 135(3501), 375-377. doi:10.1126/science.135.3501.375
- Ingalls, A. M., Dickie, M. M., & Snell, G. D. (1950). Obese, a new mutation in the house mouse. *J Hered*, 41(12), 317-318. doi:10.1093/oxfordjournals.jhered.a106073
- Keesey, R. E., Mitchel, J. S., & Kemnitz, J. W. (1979). Body weight and body composition of male rats following hypothalamic lesions. *Am J Physiol*, 237(1), R68-73. doi:10.1152/ajpregu.1979.237.1.R68
- Kuo, L. E., Kitlinska, J. B., Tilan, J. U., Li, L., Baker, S. B., Johnson, M. D., . . . Zukowska, Z. (2007). Neuropeptide Y acts directly in the periphery on fat tissue and mediates stress-induced obesity and metabolic syndrome. *Nat Med*, 13(7), 803-811. doi:10.1038/nm1611
- Lalanza, J. F., & Snoeren, E. M. S. (2021). The cafeteria diet: A standardized protocol and its effects on behavior. *Neurosci Biobehav Rev*, 122, 92-119. doi:10.1016/j.neubiorev.2020.11.003
- Lawton, C. L., Delargy, H. J., Brockman, J., Smith, F. C., & Blundell, J. E. (2000). The degree of saturation of fatty acids influences post-ingestive satiety. *Br J Nutr*, 83(5), 473-482.
- Leone, S., Ferrante, C., Recinella, L., Chiavaroli, A., Mollica, A., Tomboly, C., . . . Brunetti, L. (2018). Effects of RVD-hemopressin (alpha) on feeding and body weight after standard or cafeteria diet in rats. *Neuropeptides*, 72, 38-46. doi:10.1016/j.npep.2018.10.002
- Malbert, C. H. (2021). Vagally Mediated Gut-Brain Relationships in Appetite Control-Insights from Porcine Studies. *Nutrients*, 13(2). doi:10.3390/nu13020467
- Manuel, L., Zárate, A., & Hernández-Valencia, M. (2012). La leptina, hormona del adipocito, regula el apetito y el consumo de energía.
- Papel en la obesidad y dismetabolismo. *Acta Médica Grupo Ángeles*, 10(3), 154-157.
- Méndez-Sánchez, N. (2020). Antecedentes históricos de la obesidad. In J. Merediz (Ed.), *Obesidad: Conceptos clínicos y terapéuticos* (4 ed., Vol. 1, pp. 423). México: Mc Graw Hill.
- Morgane, P. J. (1961). Distinct "feeding" and "hunger motivating" systems in the lateral hypothalamus of the rat. *Science*, 133(3456), 887-888. doi:10.1126/science.133.3456.887
- Nakazato, M., Murakami, N., Date, Y., Kojima, M., Matsuo, H., Kangawa, K., & Matsukura, S. (2001). A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature*, 409(6817), 194-198. doi:10.1038/35051587
- Palma, J., & Iriarte, J. (2012). Regulación del apetito: bases neuroendocrinas e implicaciones clínicas *Med Clin (Barc)*, 139(2), 70-75.
- Patterson, Z. R., & Abizaid, A. (2013). Stress induced obesity: lessons from rodent models of stress. *Front Neurosci*, 7, 130. doi:10.3389/fnins.2013.00130
- Patterson, Z. R., Khazall, R., Mackay, H., Anisman, H., & Abizaid, A. (2013). Central ghrelin signaling mediates the metabolic response of C57BL/6 male mice to chronic social defeat stress. *Endocrinology*, 154(3), 1080-1091. doi:10.1210/en.2012-1834
- Piattini, F., Le Foll, C., Kisielow, J., Rosenwald, E., Nielsen, P., Lutz, T., . . . Kopf, M. (2019). A spontaneous leptin receptor point mutation causes obesity and differentially affects leptin signaling in hypothalamic nuclei resulting in metabolic dysfunctions distinct from db/db mice. *Mol Metab*, 25, 131-141. doi:10.1016/j.molmet.2019.04.010
- Rosado, E., Monteiro, J., Chaia, V., & do Lago, M. (2006). Efecto de la leptina en el tratamiento de la obesidad e influencia de la dieta en la secreción y acción de la hormona. *Nutr Hosp*, 21(6), 686-693.
- Storlien, L. H., Huang, X. F., Lin, S., Xin, X., Wang, H. Q., & Else, P. L. (2001). Dietary fat subtypes and obesity. *World Rev Nutr Diet*, 88, 148-154. doi:10.1159/000059778

- Tabassum, S., Misrani, A., & Yang, L. (2020). Exploiting Common Aspects of Obesity and Alzheimer's Disease. *Front Hum Neurosci*, 14, 602360. doi:10.3389/fnhum.2020.602360
- Tamashiro, K. L., Hegeman, M. A., & Sakai, R. R. (2006). Chronic social stress in a changing dietary environment. *Physiol Behav*, 89(4), 536-542. doi:10.1016/j.physbeh.2006.05.026
- Tamashiro, K. L., Nguyen, M. M., Ostrander, M. M., Gardner, S. R., Ma, L. Y., Woods, S. C., & Sakai, R. R. (2007). Social stress and recovery: implications for body weight and body composition. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 293(5), R1864-1874. doi:10.1152/ajpregu.00371.2007
- Toshinai, K., Mondal, M. S., Nakazato, M., Date, Y., Murakami, N., Kojima, M., . . . Matsukura, S. (2001). Upregulation of Ghrelin expression in the stomach upon fasting, insulin-induced hypoglycemia, and leptin administration. *Biochem Biophys Res Commun*, 281(5), 1220-1225. doi:10.1006/bbrc.2001.4518
- Urstadt, K. R., & Berridge, K. C. (2020). Optogenetic mapping of feeding and self-stimulation within the lateral hypothalamus of the rat. *PLoS One*, 15(1), e0224301. doi:10.1371/journal.pone.0224301
- van Swieten, M. M., Pandit, R., Adan, R. A., & van der Plasse, G. (2014). The neuroanatomical function of leptin in the hypothalamus. *J Chem Neuroanat*, 61-62, 207-220. doi:10.1016/j.jchemneu.2014.05.004
- Venniyoor, A. (2020). Corrigendum: PTEN: A Thrifty Gene That Causes Disease in Times of Plenty? *Front Nutr*, 7, 573536. doi:10.3389/fnut.2020.573536
- Wyrwicka, W., & Dobrzecka, C. (1960). Relationship between feeding and satiation centers of the hypothalamus. *Science*, 132(3430), 805-806. doi:10.1126/science.132.3430.805

Modelos animales de conducta compulsiva en drogadicción

Marta Miquel

Aitor Sanchez-Hernandez

Patricia Ibañez-Marin

Introducción

¿Qué es la adicción?

El consumo de sustancias psicoactivas para obtener efectos relajantes, euforizantes o cambios en la percepción ha acompañado a la humanidad desde sus orígenes (Escohotado, 1999). No obstante, la especie humana no es la única especie animal que usa las drogas para conseguir cambios en el estado mental. Los primates consumen frutos muy maduros con un contenido alcohólico similar a una cerveza y los gatos comen plantas que producen efectos alucinógenos o relajantes. Estos son solo dos ejemplos, pero la naturaleza está repleta de muchos más. La enseñanza más importante que podemos extraer de estos reportes es que los animales buscamos voluntariamente cambiar nuestro estado mental y obtener relajación, activación o cambios perceptivos de vez en cuando, y para eso consumimos drogas.

Las drogas son, sin embargo, sustancias farmacológicamente muy potentes modificando el funcionamiento del cerebro. Sus lugares de acción cerebral son parte de un circuito muy antiguo filogenéticamente, cuya función principal es mantenernos vivos. Para ello, tenemos que adquirir y almacenar información sobre dónde, cómo, cuándo y con quién obtener lo que necesitamos para sobrevivir. Podemos decir que cada vez que consumimos una droga, nuestro cerebro actúa como si estuviera trabajando para sobrevivir. De ahí, la eficacia de las drogas cambiando la conducta. En la medida en que repetimos el consumo, los cambios cerebrales se consolidan y se hacen más difíciles de modificar, y las conductas de obtención y consumo de la droga se vuelven mucho más probables y persistentes. De este

modo, las drogas logran manipular los mecanismos de memorización y aprendizaje con los que cuenta de forma natural nuestro cerebro y hacerlos aberrantes. En un 10% de los consumidores de una droga, estos patrones de conducta se cristalizan y se convierten en automáticos, perdiéndose la posibilidad de regulación e inhibición a pesar de las consecuencias negativas derivadas del consumo de la droga. La conducta se vuelve compulsiva y se desencadena automáticamente en los contextos sociales asociados con la obtención y el consumo. En la actualidad, para poder diagnosticar adicción se requiere el criterio de compulsividad. Es decir, la obtención y consumo de drogas se realiza a pesar de sus consecuencias negativas para la salud, la familia y las relaciones laborales y sociales. No se puede controlar ni la cantidad ni el contexto del consumo y aunque el individuo se proponga no consumir, no lo consigue y recae una y otra vez (DSM-V, 2021).

¿Cómo podemos evaluar conducta adictiva en animales de laboratorio?

Los modelos animales para el estudio de la drogadicción siguen siendo necesarios, a pesar de disponer de una tecnología de neuroimagen cada vez mas avanzada para investigar la adicción humana. El principal problema de la investigación humana en adicción es la dificultad de estudiar los orígenes y el desarrollo del trastorno adictivo. Para ello, se requeriría seguir a los individuos desde la infancia, desde antes de comenzar con el consumo de drogas, hasta la edad adulta y evaluar los cambios cerebrales y de conducta. Modelar en animales el inicio y desarrollo del trastorno adictivo, así como manipular los factores de vulnerabilidad son los objetivos primordiales de los modelos animales de drogadicción. Por suerte para la investigación en neurociencia de la adicción, el circuito que controla la conducta adictiva es, como se ha dicho, muy antiguo y está presente en todos los mamíferos. De este modo, podemos tener modelos de adicción razonablemente buenos si usamos especies animales como los roedores.

234

Para desarrollar un modelo animal de drogadicción en roedores hay una serie de cuestiones cruciales que debemos conocer (Ahmed, 2012). En primer lugar, no basta con tratar un animal con una sustancia adictiva para que se convierta en adicto. Si el animal no elige voluntariamente consumir la sustancia, no conseguiremos un modelo animal de adicción. En segundo lugar, incluso implementando procedimientos de consumo voluntario, si queremos observar una conducta parecida a la adicción humana, debemos demostrar que el animal busca y consume la droga compulsivamente. El criterio de compulsividad es el eje central en el diag-

nóstico de la adicción y debe incluirse en el modelo animal (Lüscher et al., 2020).

La compulsividad se manifiesta de diferentes formas e implica diversos cambios cognitivos y de conducta. Hay una serie de cambios observables y evaluables que indican la obtención y consumo compulsivo de la sustancia. El animal debe consumir un poco más de sustancia cada día (escalada en el consumo) y tiene que trabajar más duro y durante más tiempo para obtener la droga. Asimismo, deberíamos poder demostrar cierto grado de automatización e inflexibilidad de la conducta. La conducta de un adicto se desencadena de forma similar a cómo lo hace un hábito (Everitt and Robbins, 2005), de forma automática y sin control consciente por parte del individuo. Se activa cuando se perciben los estímulos del contexto en los que se obtiene y se consume la droga. Una forma de conocer hasta qué punto una conducta se ha vuelto habitual es evaluar si puede ser modificada alterando el resultado (la meta). Los hábitos son independientes del resultado, porque la representación mental de las relaciones entre los estímulos y la respuesta no requiere ninguna representación de la meta, dado que la conducta se activa directamente por los estímulos del contexto.

Volviendo a la adicción, el consumo recreativo de una sustancia, cuyo objetivo es obtener cambios en el estado mental y corporal, implica patrones de conducta flexibles y fácilmente regulables por el entorno y el propio individuo. Sin embargo, un adicto consume porque no puede dejar de hacerlo. La mejor manera de modelar este proceso en el laboratorio es degradar el valor de la meta (droga) o la relación de contingencia entre la conducta y el resultado (la obtención de la droga). La probabilidad de suprimir o al menos reducir las conductas de obtención y consumo de la sustancia disminuye significativamente cuando la conducta se ha convertido en habitual. Hay muchas maneras de reducir el valor de la droga, pero una de las más eficaces es asociar el consumo a un evento desagradable, de tal forma, que el animal tenga que elegir entre recibir castigo al consumir la droga o dejar de consumir. Los animales que han desarrollado compulsión consumen a pesar de las consecuencias negativas. Finalmente, aún tenemos que demostrar que la droga se prefiere a cualquier otra recompensa. Es decir, si al animal se le da a elegir entre algo dulce y la droga, deberá elegir consumir droga con más probabilidad que el alimento dulce. El porcentaje de animales que cumple todos los criterios es muy pequeño. Por ejemplo, si consideramos todas las ratas que consumen voluntariamente cocaína en un experimento, solo un 8% cumplirá todos estos criterios (Derroche-Gamonet, et al., 2004; Madsen y Ahmed, 2015).

Podemos estudiar estos procesos por separado, pero lo ideal sería evaluar varios de ellos en el mismo animal. En la literatura, ya existen algunos ejemplos de este tipo de modelos comprensivos de adicción. El modelo multisíntoma (Deroche-Gamonet, et al., 2004) fue propuesto en el año 2004 y ha seguido desarrollándose en los últimos años (Deroche-Gamonet y Piazza, 2013). Dicho modelo evalúa en ratas la persistencia de la conducta, el aumento de esfuerzo y tiempo dedicado al consumo de la droga, así como el consumo mantenido a pesar de las consecuencias negativas. Otros modelos utilizan el acceso prolongado al consumo de la sustancia y lo combinan con pruebas para corroborar que se ha desarrollado consumo automático y compulsión (Ahmed y Koob, 1998). También se pueden estudiar estos procesos por separado si el objetivo del estudio es investigar los cambios cerebrales que subyacen a cada proceso.

A continuación, presentaremos cómo se implementan en el laboratorio algunos de estos modelos, con el fin de ayudar a los futuros investigadores a diseñar experimentos para poner a prueba sus hipótesis sobre la conducta adictiva. Pero además, esta información permitirá al lector no vinculado a la ciencia experimental conocer cómo se trabaja en los laboratorios de neurociencia de la adicción.

¿Cómo conseguir que un animal de laboratorio se vuelva adicto?

La herramienta básica de un investigador en conducta adictiva se conoce como caja operante o caja de *Skinner* (puestos a poner un nombre a tu invento mejor que sea el tuyo) (Skinner, 1948). Estas cajas reciben el nombre de “operantes” porque se precisa que el animal haga una conducta voluntaria utilizando dispositivos con los que operar para conseguir la droga u otro tipo de reforzador, pudiendo requerir un cierto nivel de esfuerzo. Estas cajas están controladas por un equipo informático que podemos programar de varias formas para enseñar a las ratas a pulsar una palanca el número de veces que elijamos u operar con su hocico a cambio de la recompensa. Las recompensas son estímulos o eventos por los que merece la pena trabajar, porque permiten obtener los efectos fisiológicos y subjetivos deseados. Pero la mayoría de las recompensas no actúan como tales desde el principio, sino que hay que aprender a desearlas. Las drogas son un ejemplo excelente para entender cómo funciona una recompensa, son sustancias que nos gustan y nos producen algún tipo de emoción positiva, aunque debemos aprender a desear sus efectos. Al principio, sus efectos son sorprendentes. No obstante, como señaló la Ley del Efecto de Edward

Thorndike en 1911 y que Skinner reformuló como Ley de Refuerzo, cuantas más veces se repita la secuencia de conducta, contexto-respuesta operante-obtención de la recompensa, más se consolidará esta relación en la memoria y más probabilidad habrá de repetir la respuesta en el futuro. Lo interesante es que además de aprender sobre los resultados de nuestra conducta, se aprende a relacionar estos resultados con los contextos en los que se producen y de este modo, a predecir cuáles serán las consecuencias de la conducta en cada contexto. Este último mecanismo de aprendizaje fue propuesto por Ivan Pavlov en 1927 y por eso se llama aprendizaje Pavloviano. El proceso completo es conocido como aprendizaje reforzado, pero como hemos visto, a él contribuyen dos mecanismos diferentes, uno Pavloviano y otro operante.

El modelo de autoadministración de drogas

La mejor especie animal para desarrollar los experimentos de autoadministración es la rata, pero a las ratas no les gusta esnifar cocaína ni fumar ni tomar pastillas. Sin embargo, trabajarán y mucho por autoadministrarse las drogas vía intravenosa. La cocaína infundida directamente en el sistema venoso llega más rápido al cerebro y es la manera más óptima de controlar la dosis que el animal recibe. Con excepción del alcohol, la mayoría de las drogas en las cajas operantes se autoadministran por vía intravenosa a través de un catéter.

La cirugía de cateterización se lleva a cabo mediante un procedimiento análogo al que se hace habitualmente en hospitales. Bajo anestesia profunda, se implanta un catéter en la vena yugular derecha (se deja la vena yugular izquierda intacta), al cual podremos acceder libremente desde la espalda (es el mejor lugar para emplazar el catéter y que el animal puede moverse libremente) y que se conectará a un sistema automático de infusión. Las ratas tienen una resistencia envidiable a la cirugía, pero no son invulnerables, necesitan cuidados postoperatorios, como recibir antibiótico y analgésicos durante varios días. Después de una cirugía, por muy bien que haya ido, hay dolor y los puntos tiran.

Los experimentos de autoadministración necesitan de cierta preparación para familiarizar al animal con los procedimientos experimentales. ¿Por qué hacemos esto?; las ratas son neofóbicas, lo que significa que tienen miedo a las cosas nuevas. Estas etapas previas se conocen como manejo (*handling*) y habituación. Consisten en tocar a las ratas varios días logrando así que se acostumbren a la manipulación, a nuestro olor, a nuestra voz. Con esto conseguiremos que se sientan cómodas y tranquilas en

nuestra presencia. Un animal estresado no aprenderá de manera adecuada. El cuidado postoperatorio sirve como parte del *handling*. Pero no sólo tenemos que acostumbrar a las ratas a nosotros, también a las cajas y a las recompensas que van a recibir. Para habituarlas, basta con ponerlas durante un par de horas al día en las cajas operantes con la luz de la caja encendida, el ventilador, el ruido de las demás jaulas y todos los olores presentes.

Hay un dicho popular que dice “nadie nace sabiendo” y las ratas no son una excepción. Tenemos que conseguir que la palanca u otro artilugio para operar, que en principio no tiene ninguna relevancia para la rata, se vuelva importante. También es necesario enseñar a los animales a predecir qué señales contextuales van asociadas a la obtención de la droga y cuáles no. Para ello, las cajas operantes están provistas de luces, palancas y sonidos que se programan a través del software (Fig. 1).

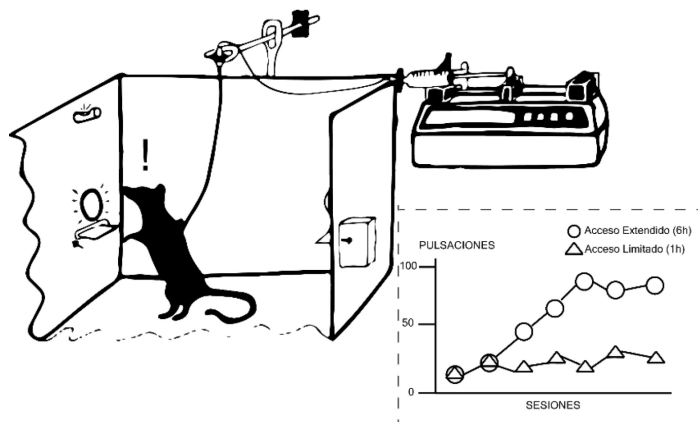


Figura 1. Caja operante para la autoadministración de drogas (Aitor Sanchez-Hernandez y Patricia Ibáñez-Marín)

El objetivo es crear un contexto discriminativo en el que el animal aprenda lo más rápido posible cómo obtener la droga. Veamos una programación básica que permite al animal aprender en aproximadamente dos semanas a consumir cocaína, con ensayos de 1 hora al día. El comienzo del ensayo se marca con el encendido de la luz ambiental de la caja y la aparición de las palancas. Esto marca la secuencia de acontecimientos que vendrá a continuación. Como los animales no conocen esta secuencia y sus consecuencias, hay que ayudarles un poco durante los 3 primeros días de entrenamiento, programando lo que se conoce como *magazine*, una serie de infusiones automáticas cada 15 minutos, salvo que pulse la palanca correcta, en cuyo caso la cuenta atrás se reiniciará. Si presiona la palanca co-

recta tendrán lugar una serie de eventos que permitirán a la rata aprender sobre las consecuencias de su conducta. Primero se retraerán las palancas y se apagará la luz ambiental de la caja. A continuación, se activará la bomba de infusión durante el tiempo establecido para infundir la dosis adecuada y coincidiendo con la infusión también se encenderá la luz situada encima de la palanca correcta. Si el animal presiona la otra palanca (incorrecta), no pasará nada. Con este entrenamiento básico, logramos que los animales asocien la palanca a “la sensación euforizante” y que vayan aprendiendo sobre los efectos de la cocaína.

A continuación, se trata de modelar el escalamiento en el consumo de cocaína. Para ello, las ratas deben tener un acceso prolongado y extendido a la cocaína. El paradigma estándar implica la comparación entre animales que consumen 1 hora al día (acceso limitado) con aquellos que tienen acceso al consumo de cocaína durante 6 horas diarias (acceso extendido). Este modelo fue creado por Sergi Ahmed y George Koob en 1998. El grupo de acceso limitado trata de imitar a esa parte de la población que cuando tienen acceso a una determinada droga adictiva (alcohol, cocaína, tabaco, etc.) hacen uso de ella sin caer en el consumo compulsivo y el abuso de ésta. El acceso extendido, por el contrario, intenta reproducir el consumo abusivo de la droga cuando hay un aumento de la disponibilidad. El abuso de una droga produce un consumo escalado, es decir, un aumento paulatino en la cantidad de droga consumida. El escalamiento es causado por la neuroplasticidad aberrante que modifica la homeostasis cerebral, la automatización de los patrones de consumo, pero también por el desarrollo de tolerancia a los efectos de la droga. Cuanto más prolongado sea este acceso, más cerca estaremos de modelar la adicción en el laboratorio. Por los estudios en plasticidad cerebral, sabemos que al menos se requieren 3 meses de consumo prolongado para inducir cambios cerebrales similares a la drogadicción humana (Kasanez et al., 2010). Ninguno de estos efectos se desarrolla en el grupo de acceso limitado a la droga.

La adicción es un trastorno crónico y, por tanto, reincidente. Es decir, la probabilidad de recaída es alta, incluso muchos años después de haber dejado el consumo. El factor fundamental para desencadenar las recaídas es la percepción o el recuerdo de los estímulos y contextos asociados al consumo de la sustancia (Shaham et al., 2002). Podemos modelar la cronicidad del trastorno, sometiendo al animal a diferentes periodos de abstinencia y exponiéndolo una vez más a las condiciones de consumo ya explicadas, pero esta vez la luz se activará para marcar la palanca correcta, pero la presión de la palanca correcta no liberará droga. Este procedimien-

to se conoce como recaída inducida por la señal condicionada. Para considerarlo una recaída, el número de presiones de palanca por unidad de tiempo debe ser similar a cuando se consumía la sustancia. La probabilidad de recaída es mayor en el grupo con acceso extendido si se compara con el de acceso limitado. Es obvio que si se vuelve a consumir la sustancia se recaerá en la mayoría de los casos. También podemos modelar en el laboratorio la recaída producida por un nuevo contacto con la droga (Shaham et al., 2002)

No obstante, el acceso extendido a la droga, solo nos permite disponer de un modelo de abuso de drogas. Aunque hay más probabilidad de que un abusador se convierta en adicto, hay abusadores que solo lo son temporalmente y que no desarrollan consumo compulsivo ni pierden el control de lo que consumen. Se requieren manipulaciones y pruebas adicionales para estar seguros de que estamos simulando la adicción en el laboratorio. Hay tres pruebas que son cruciales para saber si un animal cumpliría los criterios de adicción. En primer lugar, debemos probar que los animales son capaces de hacer cada vez más esfuerzo por consumir la sustancia. La manera más común de implementarlo en el laboratorio es con una sesión de índice progresivo, en la que durante una hora el índice de respuesta requerida para conseguir la infusión de droga se va multiplicando exponencialmente. Debemos esperar que una rata con acceso extendido a la droga trabaje más por conseguirla. En segundo lugar, debemos demostrar que el animal sigue consumiendo a pesar de las consecuencias negativas. La manera más común de hacerlo en el laboratorio es programar en las cajas de Skinner un *electroshock* en las patas a través del suelo electrificado que se activa de manera aleatoria cuando se aprieta la palanca correcta. De esta forma, a veces la droga también lleva una sorpresa desagradable e impredecible. Algunas de las ratas de acceso extendido siguen consumiendo a pesar de recibir el *electroshock*, mientras otras reducen el consumo. Finalmente, hay que probar que el animal prefiere la droga frente a otros reforzadores como la comida dulce. Para ello, en la caja operante, se programa una palanca que dé acceso a la sucrosa y otra a una infusión de cocaína. Solo un reducido grupo de animales cumple este criterio.

Si queremos modelar el alcoholismo en el laboratorio, no necesariamente hay que usar una caja operante, pero debemos seleccionar bien la cepa de ratas para trabajar. La mejor cepa es la *Long-Evans*. Ni las *Sprague-Dawley* ni las ratas *Wistar* muestran un consumo consistente de alcohol de manera voluntaria. Los modelos de consumo de alcohol pueden implementarse de forma más sencilla, con un acceso muy prolongado (varios

meses) e intermitente al alcohol, en un paradigma de libre elección entre una botella de alcohol y una de agua (Wolffgramm y Heyne, 1991; Spoelder et al., 2015). Los animales pueden consumir en sus cajas de residencia. La disponibilidad del alcohol suele ser de 24 horas al día, en días alternos. De alguna manera, este protocolo simula la ingesta en atracón (*binge administration*), que promueve el tipo de plasticidad cerebral aberrante comentada en la introducción del capítulo (Corbit et al., 2012). Para probar compulsividad en el consumo de alcohol, podemos hacer varias cosas. Se puede degradar el valor del alcohol, por ejemplo, salándolo. Pero lo que mejor funciona es usar cloruro de litio asociado al alcohol para inducir malestar. Si los animales han desarrollado un consumo de alcohol persistente, semejante al de los individuos alcohólicos, el malestar producido por el cloruro de litio no debería afectar la dosis de alcohol consumida.

Algunas pruebas control para saber qué efectos ha producido la autoadministración de drogas

Es interesante saber qué efectos colaterales ha producido la autoadministración de drogas y si estos efectos correlacionan con los niveles de consumo de la sustancia. Esta información nos ayudará a evaluar y entender las diferencias individuales en el consumo de la droga, así como a establecer qué otras consecuencias pueden tener desarrollar una conducta adictiva. La batería de pruebas puede incluir la evaluación de los niveles de ansiedad, mediante el laberinto elevado y la prueba de luz/oscuridad, así como la valoración de la memoria implícita (memoria de reconocimiento) y explícita (laberinto de Morris). También podemos incluir medidas más gruesas de actividad como el campo abierto. La batería completa debe ser administrada antes de comenzar con la autoadministración y al menos, al final del proceso. No obstante, una evaluación intermedia nos daría mucha información de cómo evolucionan estos parámetros con el consumo.

¿Las drogas pueden hacer que cambiemos la forma en la que nos relacionamos con la comida?

Cuando realizamos una acción aprendida para conseguir una meta, el cerebro se encuentra ante un dilema: activar una conducta flexible y planificada que es más lenta y costosa, pero fácil de inhibir o poner en marcha una conducta automática, rápida y eficaz, pero rígida e inflexible, conocida como hábito (Balleine y Dickinson, 1998). Ambos tipos de conducta tienen ventajas e inconvenientes y son más apropiados para contextos y condiciones ambientales diferentes. Por ejemplo, conseguir nuestros pro-

pósitos requiere de una conducta flexible y planificada que pueda ser modulada por los resultados de la conducta. En cambio, las situaciones de peligro y estrés demandan una conducta rápida y eficaz, a costa de perder posibilidad de modulación y flexibilidad. Igualmente, las situaciones muy predecibles y familiares hacen más probable la activación de una conducta automática y habitual. Las asociaciones aprendidas y almacenadas por el cerebro son diferentes en cada caso. En el caso del aprendizaje regulado por la meta, hemos aprendido a asociar nuestras respuestas a sus resultados, sean de éxito o de fracaso (Respuesta-Resultado), y así, modificando el resultado y su valor, podemos cambiar la respuesta. Por esto decimos que es una conducta modulada por el resultado. Sin embargo, en el hábito, la respuesta se desencadena automáticamente cuando se perciben los estímulos contextuales (Estímulo-Respuesta). Esta representación no incorpora el resultado y por eso la respuesta no se afecta, aunque cambiemos su valor. En cualquier caso, ambas representaciones asociativas quedan almacenadas en nuestro cerebro y compiten por activarse en cada acción. Cómo el cerebro selecciona entre uno u otro sigue siendo un misterio, pero su conocimiento será fundamental para entender cómo tomamos decisiones. Lo realmente relevante aquí es que una experiencia prolongada con drogas adictivas sesga la selección de respuesta hacia el modo automático y habitual, reduciendo la flexibilidad y la posibilidad de modulación.

De esta forma, más allá de los modelos de consumo compulsivo de drogas, podemos modelar cómo la conducta se automatiza y se convierte en hábito; y cómo la automatización puede afectar a la selección de otras recompensas como la comida. En definitiva, el objetivo de estos experimentos es simular cómo las drogas de abuso, al producir plasticidad aberrante en el sistema estriado-cortico-límbico-cerebelar, pueden sesgar la selección de la acción hacia el hábito; y cambiar la forma en la que se toman decisiones de consumir o no consumir y de relacionarse con otro tipo de reforzadores naturales como la comida.

Veamos ahora cómo modelar estos procesos en el laboratorio. Para ello, se enseña a los animales a trabajar para obtener dos tipos de recompensas: bolitas de sacarosa con sabor a chocolate (*pellets* de chocolate) y una solución líquida de agua y sacarosa al 5%; lo que sería como trabajar para recibir caramelos o un refresco. ¿Por qué estas dos recompensas? La respuesta es muy sencilla, simplemente porque a las ratas (como a nosotros) también les gusta el azúcar y como todo el mundo dice: “A nadie le amarga un dulce”. La droga puede administrarse o consumirse volunta-

riamente en distintos momentos del aprendizaje operante, pero como hipótesis general esperamos que los animales tratados con droga automaticen la conducta más eficazmente y de este modo, desarrollen con más facilidad el hábito de consumo. Más abajo, explicaremos cómo evaluar si una conducta se ha vuelto habitual y automática.

En estos experimentos, también es necesario el manejo y la habituación del animal como vimos antes. Tras los dos días de manejo, empezamos a restringirles moderadamente la cantidad de comida que tienen disponible en sus jaulas, ya que normalmente comen *ad libitum*; lo que quiere decir que tienen acceso ilimitado a la comida. En este caso, necesitamos asegurar que tengan un poco de hambre, así que les ponemos un poco menos de lo habitual. Los estudios han demostrado que las ratas suelen comer como máximo entre unos 20-25 g de alimento al día, así que nosotros hablamos de una restricción moderada porque los dos primeros días de restricción les damos 20 g por animal y después ya les dejamos unos 18 g hasta el final del experimento. A continuación, les habituamos a las recompensas que van a recibir cada vez que pulsen la palanca (durante media hora en sus jaulas dos días consecutivos), es decir, a la solución de azúcar y a los *pellets* para evitar la neofobia durante el entrenamiento.

El objetivo principal del entrenamiento en estos experimentos es crear una memoria instrumental fuerte y consolidada que automatice los patrones de consumo de los dos reforzadores (Lerner, 2020). Luego, nuestro objetivo será demostrar que la conducta de consumo se ha automatizado de tal forma que la devaluación de las recompensas no disminuye su consumo.

Empezamos con una sesión de *magazine* para que los animales aprendan dónde van a recibir los *pellets* y dónde la solución dulce. Durante dicha sesión, las ratas no tienen que hacer nada para obtener las recompensas, sino que automáticamente, cada cierto tiempo, las recibirán. Al día siguiente, entrenamos a los animales a presionar la palanca con un programa de razón fija de 1, es decir, deben pulsar una vez la palanca para recibir una recompensa (un *pellet* o 0,1 ml de la solución de sacarosa). En los primeros días del entrenamiento, se les pone una gota de la solución de azúcar en el bebedero y en la palanca, mientras que cuando se les entrena para recibir los *pellets*, se les pone uno en el comedero y otro en la palanca, para que aprendan la asociación más rápido. Una vez han aprendido esta asociación, se les impone un poco más de esfuerzo con un programa de razón aleatoria 5, es decir, los animales tienen que presionar la palanca un número de veces comprendido entre 1 y 5, pero el número es aleatorio cada

vez. Finalmente, se les complica más la obtención de las recompensas con un programa de razón aleatoria de 10, en el que deben accionar la palanca entre 1-10 veces para recibir una recompensa. Este programa produce elevadas tasas de respuesta. A lo largo de este entrenamiento, en una sesión diaria se entrena la conducta con los *pellets* y en otra distinta, con la solución dulce.

Una alternativa a los programas de razón aleatoria es la razón de intervalo. Los animales pulsán la palanca una vez, pero reciben la recompensa de manera aleatoria en un intervalo de tiempo que varía aleatoriamente. De este modo, si la razón de intervalo programada es 10, significa que después de una pulsación de palanca recibirá la recompensa entre 1 y 10 segundos. En estos programas de entrenamiento, lo usual es terminar con una razón de intervalo de 30 segundos. Dicha razón de intervalo genera un aprendizaje rápido y una respuesta consistente.

¿Cómo probar que un aprendizaje instrumental se ha convertido en un hábito?

Sabemos que los hábitos son conductas automáticas que se desencadenan cuando los estímulos contextuales son percibidos. Es decir, los circuitos cerebrales que activan los hábitos no codifican el resultado de la conducta ni su valor (E-R), solo desencadenan la respuesta una vez que el estímulo es procesado. Son los circuitos sensorimotores (Yin and Knowlton, 2006). De ahí que la mejor forma de probar si una conducta es habitual es desafiar el resultado; es decir, devaluarlo y ver qué pasa. La sensibilidad a la devaluación consiste en devaluar (cambiar la valencia) de esa recompensa, ya sea asociándolo a un castigo, malestar, saciedad u omisión, para observar si la conducta de las ratas cambia tras este procedimiento (Adams y Dickinson, 1981).

En nuestro caso, para evaluar la sensibilidad a la devaluación hemos escogido un procedimiento de saciedad. Por ello, al día siguiente de la finalización del tratamiento, hacemos la primera prueba para evaluar la sensibilidad a la devaluación y tras un día de reentrenamiento en las cajas, se hace la segunda prueba. Estas pruebas consisten en dejar a los animales en sus cajas durante una hora con 15g de *pellets* o 80ml de la solución de sacarosa, contrabalanceando el orden de devaluación de las recompensas. Las pruebas de devaluación se hacen bajo extinción, es decir, justo después de saciar a los animales se les expone en las cajas operantes a las dos palancas que estarán disponibles durante 10 minutos, pero las pulsaciones no tendrán consecuencias programadas (no recompensa). Si la selec-

ción de la acción se hace sin tener en cuenta el resultado (automatización de la respuesta), los animales deberían pulsar un número similar de veces tanto la palanca del reforzador devaluado por saciedad como la de aquella asociada al que mantiene su valor intacto (Fig. 2).

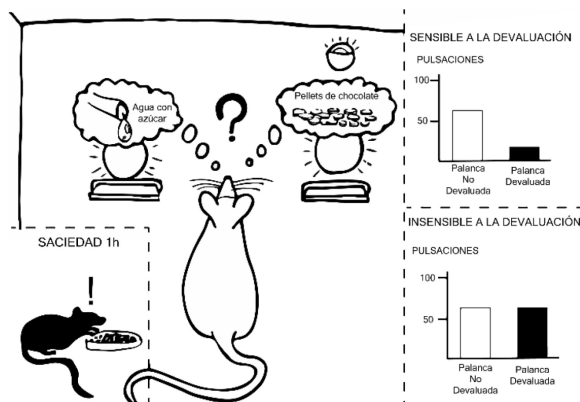


Figura 2. Test de sensibilidad a la devaluación por saciedad de la recompensa (Aitor Sanchez-Hernandez y Patricia Ibáñez-Marín)

Esto nos indica que se ha desarrollado insensibilidad a la devaluación. Con poco entrenamiento y en ausencia de drogas, los animales suelen ser sensibles a la devaluación, porque pensándolo detenidamente, ¿si a nosotros nos dieran una cantidad considerable de dulces o unos litros de algún refresco, trabajaríamos para recibir lo mismo o por la otra recompensa? Lo normal es observar diferencias individuales en la sensibilidad a la devaluación, aunque como ahora veremos, algunas manipulaciones pueden sesgar la selección de respuesta hacia el hábito. Tras la segunda prueba de devaluación, podemos obtener el tejido cerebral para analizar distintos correlatos de la sensibilidad *versus* insensibilidad a la devaluación.

Efecto de las drogas adictivas en la sensibilidad a la devaluación del reforzador

Un consumo prolongado de drogas fortalece las asociaciones E-R (Everitt y Robbins, 2005) es decir, fortalece la memoria sensorimotora que desencadenará automáticamente la respuesta. Lo relevante es que estas asociaciones se convertirán en cruciales para provocar la recaída en el consumo. Ante la percepción de los contextos asociados con el consumo, la búsqueda de la droga se activará de forma automática, y dicha conducta será difícilmente controlable. Por tanto, debemos esperar que las drogas generen in-

sensibilidad a la devaluación del reforzador y así lo han demostrado algunos trabajos previos (Corbit et al., 2012; LeBlanc et al., 2013ab).

Para analizar el efecto de la droga podemos optar por exponer a los animales a un consumo voluntario o podemos administrarla de manera forzosa durante un periodo prolongado. Dado que las conductas de obtención y consumo de drogas comparten con los reforzadores naturales de los mismos circuitos, sería de esperar que fuera más probable observar un fortalecimiento de las asociaciones E-R y, por tanto, insensibilidad a la devaluación con protocolos de autoadministración o consumo voluntario.

Conclusión

El consumo de sustancias con potencial adictivo es un fenómeno ubicuo en la sociedad humana y en muchas especies animales, pero la mayoría de los consumidores usan estas drogas con fines recreativos. Solo un porcentaje pequeño de consumidores evoluciona hacia un patrón de conducta adictivo. Sabemos que no es difícil hacer que a un animal de laboratorio le gusten las drogas, pero convertirlo en adicto no es tarea fácil. Se requiere no solo un consumo prolongado de la sustancia, sino también cumplir una serie de criterios. Estos experimentos son largos, complejos y costosos, pero desafortunadamente no hay alternativa al uso de animal vivo en los estudios de la adicción. En primer lugar, porque la investigación en pacientes adictos no nos permitiría trazar el origen y desarrollo del trastorno, haciendo mucho más difícil el estudio de los marcadores de vulnerabilidad. En segundo lugar, porque la complejidad de los procesos implicados, tanto a nivel neurofisiológico como de conducta, impide el uso de modelos más simples, como líneas celulares. A lo mejor en un futuro, la inteligencia artificial nos permite tener modelos robóticos que muestren un esbozo de la complejidad conductual que vemos en una rata adicta.

Agradecimientos

Los autores agradecen la financiación recibida por PGC2018-095980-B-I00/MCI/AEI/FEDER, UE; BES-2016-076353 (ASH) MCI/AEI/FEDER, UE; ACIF/2019/109 (PIM)

REFERENCIAS

- Adams, C. D., & Dickinson, A. (1981). Instrumental Responding following Reinforcer Devaluation. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology Section B*, 33(2b), 109–121.
<https://doi.org/10.1080/14640748108400816>
- Ahmed, S. H. & Koob G. (1998). Transition from Moderate to Excessive Drug Intake: Change in Hedonic Set Point. *Science*, 282(5387), 298–300.
<https://doi.org/10.1126/science.282.5387.298>
- American Psychiatric Association. (2021) Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales, DSM-5. Editorial Panamericana, 5ª edición (Madrid).
- Balleine, B. W., & Dickinson, A. (1998). Goal-directed instrumental action: contingency and incentive learning and their cortical substrates. *Neuropharmacology*, 37(4–5), 407–419.
[https://doi.org/10.1016/S0028-3908\(98\)00033-1](https://doi.org/10.1016/S0028-3908(98)00033-1)
- Ahmed, S. H. (2012). The science of making drug-addicted animals. *Neuroscience*, 211, 107–125.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.08.014>
- Corbit, L. H., Nie, H., & Janak, P. H. (2012). Habitual Alcohol Seeking: Time Course and the Contribution of Subregions of the Dorsal Striatum. *Biological Psychiatry*, 72(5), 389–395.
<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2012.02.024>
- Deroche-Gamonet V, Belin D, Piazza PV. Evidence for addiction-like behavior in the rat. *Science*. 2004 Aug 13;305(5686):1014–7. doi: 10.1126/science.1099020.
- Deroche-Gamonet, V. (2004). Evidence for Addiction-like Behavior in the Rat. *Science*, 305(5686), 1014–1017.
<https://doi.org/10.1126/science.1099020>
- Everitt, B. J., & Robbins, T. W. (2005). Neural systems of reinforcement for drug addiction: from actions to habits to compulsion. *Nature Neuroscience*, 8(11), 1481–1489. <https://doi.org/10.1038/nn1579>
- Escohotado A, (1999) Historia General de las Drogas. Editorial: S.L.U. Espasa Libros (Barcelona).
- Kasanez, F., Deroche-Gamonet, V., Berson, N., Balado, E., Lafourcade, M., Manzoni, O., & Piazza, P. V. (2010). Transition to Addiction Is Associated with a Persistent Impairment in Synaptic Plasticity. *Science*, 328(5986), 1709–1712.
<https://doi.org/10.1126/science.1187801>
- LeBlanc, K. H., Maidment, N. T., & Ostlund, S. B. (2013a). Impact of repeated intravenous cocaine administration on incentive motivation depends on mode of drug delivery. *Addiction Biology*, 19(6), 965–971. <https://doi.org/10.1111/adb.12063>
- LeBlanc, K. H., Maidment, N. T., & Ostlund, S. B. (2013b). Repeated Cocaine Exposure Facilitates the Expression of Incentive Motivation and Induces Habitual Control in Rats. *PLoS ONE*, 8(4), e61355.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061355>
- Lerner, T. N. (2020). Interfacing behavioral and neural circuit models for habit formation. *Journal of Neuroscience Research*, 98(6), 1031–1045.
<https://doi.org/10.1002/jnr.24581>
- Lüscher, C., Robbins, T. W., & Everitt, B. J. (2020). The transition to compulsion in addiction. *Nature Reviews Neuroscience*, 21(5), 247–263.
<https://doi.org/10.1038/s41583-020-0289-z>
- Madsen, H. B., & Ahmed, S. H. (2014). Drug versus sweet reward: greater attraction to and preference for sweet versus drug cues. *Addiction Biology*, 20(3), 433–444. <https://doi.org/10.1111/adb.12134>
- Pavlov IP (1929) Los reflejos condicionados. Madrid: Ediciones Morata.
- Shaham, Y., Shalev, U., Lu, L., de Wit, H., & Stewart, J. (2002). The reinstatement model of drug relapse: history, methodology and major findings. *Psychopharmacology*, 168(1–2), 3–20.
<https://doi.org/10.1007/s00213-002-1224-x>

- Skinner, B. F. (1948). "Superstition" in the pigeon. *Journal of Experimental Psychology*, 38(2), 168–172.
<https://doi.org/10.1037/h0055873>
- Spoelder, M., Hesselings, P., Baars, A. M., Lozeman-van 't Klooster, J. G., Rotte, M. D., Vanderschuren, L. J. M. J., & Lesscher, H. M. B. (2015). Individual Variation in Alcohol Intake Predicts Reinforcement, Motivation, and Compulsive Alcohol Use in Rats. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 39(12), 2427–2437.
<https://doi.org/10.1111/acer.12891>
- Thorndike, E. (1968). *Human Learning*. Nueva York: The Century Co.
- Wolffgramm, J., & Heyne, A. (1991). Social behavior, dominance, and social deprivation of rats determine drug choice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 38(2), 389–399.
[https://doi.org/10.1016/0091-3057\(91\)90297-f](https://doi.org/10.1016/0091-3057(91)90297-f)
- Yin, H. H., & Knowlton, B. J. (2006). The role of the basal ganglia in habit formation. *Nature Reviews Neuroscience*, 7(6), 464–476.
<https://doi.org/10.1038/nrn1919>

Modelos animales para el estudio de la conducta sexual masculina

*Elisa Ventura Aquino
Raúl G. Paredes*

Introducción

La conducta sexual de la rata macho es quizá la más estudiada en el área científica. El enfoque de los trabajos por mucho tiempo estuvo circunscrito al entendimiento de esta conducta y a su regulación; tomando en cuenta las particularidades de cada especie. Lo anterior permitió conocer, por ejemplo, los mecanismos moleculares de la actividad de las hormonas sexuales, así como los mediadores durante la erección y eyaculación (Le Moëne & Ågmo, 2019). Fue a principio de la década de los 90's, cuando un evento cambió la perspectiva de una parte de la investigación sobre la conducta sexual en roedores.

Los inhibidores de la enzima llamada fosfodiesterasa 5 (IPDE-5), entre ellos el sildenafil, favorecen la síntesis de óxido nítrico (ON) endotelial con la consecuente vasodilatación, por lo que se investigaba la utilidad de los IPDE-5 para el manejo de la angina de pecho en estudios clínicos. Uno de los efectos secundarios más recurrentes fue la presencia de erecciones no deseadas entre los participantes. Casi a la par, se descubrió que el ON estaba involucrado en la respuesta eréctil, esclareciendo el mecanismo de dicho efecto secundario. Los resultados sobre el uso de los IPDE-5 para la angina de pecho no fueron satisfactorios y la investigación se redirigió para su aplicación en el manejo de la disfunción eréctil (DE) (Ban, 2006). Posteriormente, se encontró que el ON se sintetiza también por las células endoteliales y las terminaciones del nervio cavernoso del pene durante la estimulación sexual (Lin, Lin, & Lue, 2005). Así fue como en 1998, se liberó al mercado el sildenafil (Viagra), que representa una de las serendipias de mayor éxito mercantil en la época reciente, lo que también visibilizó la necesidad e importancia de mejorar y/o restaurar la salud sexual en las per-

sonas, abriendo paso a la investigación de nuevas moléculas y al desarrollo de modelos animales para el estudio de la conducta sexual humana. Sin embargo, el desarrollo de nuevos fármacos para el manejo de las disfunciones sexuales humanas a partir de modelos animales ha sido poco alentador desde entonces. En el presente capítulo, se describirán los modelos más empleados, y se harán precisiones respecto a sus alcances y limitaciones.

La conducta sexual de la rata macho vs la conducta sexual masculina

La rata macho

La conducta sexual de la rata macho usualmente se estudia en una arena de un compartimiento en donde se coloca al sujeto con una hembra sexualmente receptiva y en la que se permite la cópula *ad libitum* por un tiempo variable (de minutos a horas). Bajo estas condiciones, el macho es quien establece el ritmo de la cópula al tener acceso libre a la hembra, denominándose *cópula regulada por el macho* (CRM) y mostrará un patrón estereotipado el cual se ha descrito consistentemente en otros trabajos (E. Hull & Dominguez, 2012; E. M. Hull & Dominguez, 2007). En resumen, al ponerse en contacto un macho con una hembra sexualmente receptiva, ambos inician una exploración principalmente olfatoria. De hecho, en la rata este tipo de estímulos son necesarios y suficientes para el reconocimiento de una pareja sexual, lo cual es de suma importancia para evitar situaciones que pongan en peligro la integridad de la rata si se acerca a otra que no está en condiciones óptimas para la cópula (Chu, Snoeren, & Ågmo, 2017; Le Moëne & Ågmo, 2018). Posteriormente, el macho despliega una serie de montas e intromisiones intercaladas antes de eyacular, y pasará a un periodo de inactividad para retomar la cópula unos minutos después. Usualmente se registra el número de montas, intromisiones y eyaculaciones; así como el tiempo que transcurre desde que se ponen en contacto a ambos animales y el macho presenta la primera monta (latencia de monta) e intromisión (latencias de intromisión), y desde la primera intromisión hasta la eyaculación (latencia de eyaculación, LE). Después de alrededor de 5 eyaculaciones sucesivas, el macho dejará de mostrar montas, llegando así un periodo de inactividad llamado saciedad sexual. Bajo estas condiciones, la cópula inducirá cambios neuroendócrinos que facilitan el desarrollo de un estado de afecto positivo mediado, al menos en parte, por el sistema opioide endógeno, así como cambios neuroplásticos principalmente en el bulbo olfatorio. Otra consecuencia inminente es la reproduc-

ción, determinante para la supervivencia de las especies (Martínez & Paredes, 2001; Paredes, 2009; Peretto & Paredes, 2014).

Bajo otras condiciones de laboratorio, se muestran patrones de cópula diferentes. Por ejemplo, cuando el macho no tiene acceso libre a la hembra y es ésta quien determina el ritmo y patrón de los contactos sexuales, lo que asemeja mejor lo ocurrido en la vida silvestre (Martínez & Paredes, 2001). Además, la conducta sexual puede estudiarse en condiciones seminaturales mediante una arena de grandes dimensiones y niveles, en donde se coloca a 4 hembras y 3 machos durante varios días, durante los cuales se permiten interacciones más allá de las sexuales (Chu, Guarraci, & Ågmo, 2015). Cabe mencionar que, los modelos que describiremos a continuación, cuando se observa directamente la cópula en machos, se han realizado bajo la condición de CRM.

El humano

Como todo mamífero, la cópula en el humano es fundamental para la preservación de la especie, por ende, se espera que haya elementos anatómicos y fisiológicos en común, principalmente en las respuestas de erección y eyaculación (Alwaal, Breyer, & Lue, 2015; Coolen, Allard, Truitt, & McKenna, 2004; Otani, 2019; Waldinger & Olivier, 2005). No obstante, a diferencia de los múltiples trabajos en relación a la cópula en ratas, los referentes de observaciones directas durante la cópula en humanos están limitados casi exclusivamente a los trabajos icónicos de William Masters y Virginia Johnson (Masters & Johnson, 1966) mismos que, a la fecha no han sido replicados o refutados por ningún otro grupo de investigación (Levin, 2008), de tal manera que su generalización es inadecuada. No obstante, estudios basados en auto-reportes han demostrado que, a diferencia del patrón estereotipado de la rata macho, existe una gran variabilidad en la conducta sexual humana, aún en el mismo individuo en condiciones relativamente similares (Schick et al., 2016).

Las diferencias entre la conducta sexual en la rata y humano se han discutido a detalle en otros trabajos (Ågmo, 2014; Ågmo, Turi, Ellingsen, & Kaspersen, 2004; Le Moëne & Ågmo, 2018, 2019). Entre las diferencias más destacadas tenemos a la capacidad humana para crear representaciones mentales de índole erótico que pueden ser suficientes para desencadenar y/o mantener la respuesta sexual; ya sea en compañía o en solitario (Ågmo, 2014; Ågmo et al., 2004; Le Moëne & Ågmo, 2018, 2019). Con relación al tipo de estimulación sexual considerada como placentera, se incluye, mas no se limita al pene. De hecho, Masters y Johnson describieron orgasmos in-

ducidos por la estimulación prostática, pero a la fecha se desconoce sus mecanismos y vías de integración (Levin, 2018). Por otro lado, se asumía que las motivaciones humanas para la actividad sexual eran principalmente recreativas (Georgiadis, Kringelbach, & Pfaus, 2012; Pfaus et al., 2012). No obstante, Cindy Meston y colaboradores (2007) enlistaron más de doscientos motivos por los cuales las personas tienen actividad sexual, incluyendo aspectos relativos al estatus social, al utilitarismo, al amor y compromiso, a la recreación, a la expresión, a la espiritualidad, al autoestima, a deseos de venganza, entre otros (Meston & Buss, 2007; Meston, Kilimnik, Freihart, & Buss, 2020). Estas motivaciones reflejan a su vez, factores psicológicos, sociales, culturales, incluyendo los roles y estereotipos de género; mismos que se han vinculado directamente con la aparición, mantenimiento y resolución de algunas disfunciones sexuales, como se verá más adelante.

La conducta sexual de la rata como un modelo animal de las disfunciones sexuales

El conocimiento a partir de estudios en animales, de la anatomía y neurobiología sobre los mediadores que modulan la respuesta de erección y eyaculación, ha mostrado ciertas analogías interespecie, confirmadas por los efectos de algunos fármacos sobre estas respuestas. Por ejemplo, la facilitación de la erección por los IPDE-5, así como los efectos retardantes de la eyaculación por algunos inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS). Lo anterior cumple con el criterio de validez predictiva (la capacidad de un modelo para reproducir los efectos que determinadas sustancias tienen sobre la condición humana que se pretende modelar). No obstante, la validez aparente (similitud fenomenológica entre el modelo y la condición humana) es baja para la mayoría de los modelos actuales, a la hora de aplicar esos conocimientos a la sexualidad humana, por lo que las extrapolaciones deberán hacerse con cautela.

252

Durante la conducta sexual masculina, se puede diferenciar elementos apetitivos y consumatorios. Los primeros requieren de ciertos elementos hormonales, como la testosterona, misma que actúa en áreas cerebrales relevantes para la motivación sexual, por ejemplo, el área preóptica medial (APM). La testosterona en esta región cerebral incrementa la representación del incentivo sexual que desencadena respuestas somáticas y viscerales para activar conductas de acercamiento hacia el incentivo, reflejando el grado de motivación sexual. Una vez que los sujetos se encuentran, se inicia con las conductas consumatorias, representadas

principalmente por las, montas, intromisiones y la eyaculación. (Ågmo et al., 2004; Pfaus, 1996). Para fines del presente capítulo, nos referiremos a los modelos más representativos de las fases apetitiva (que evalúan principalmente la motivación sexual) y consumatoria (erección y eyaculación).

Modelos animales para el estudio de la motivación sexual

El Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales en su quinta edición (DSM -V), define al deseo sexual hipoactivo como la deficiencia persistente (al menos 6 meses) de pensamientos eróticos, fantasías y deseo por tener actividad sexual, que cause estrés significativo. Esta definición involucra aspectos subjetivos y cognitivos difíciles de medir cuantitativamente, aunado a que la externalización de dicha motivación varía en una misma persona en situaciones diferentes, modulada por el entorno temporal y el contexto sociocultural. Lo que hace al deseo sexual (considerado análogo a la motivación sexual en roedores), el componente de la respuesta sexual más retador para su estudio. Esta complejidad se ve reflejada en los estudios en humanos que evalúan el deseo sexual. Dicha valoración se realiza a través de métodos muy diversos, lo que dificulta un consenso para su evaluación y por ende, dificulta el desarrollo de modelos animales de motivación sexual (Nimbi, Tripodi, Rossi, Navarro-Cremades, & Simonelli, 2020).

No obstante, existe evidencia consistente de que algunos de los factores biológicos que regulan la motivación sexual son compartidos entre diversas especies. Por ejemplo, los niveles de testosterona se relacionan positivamente con la motivación sexual; mientras que los de prolactina se correlacionan negativamente (Ågmo et al., 2004; Cordes, Stevenson, Driessen, Eisinger, & Ritters, 2015; Jones, Ismail, King, & Pfaus, 2012; Nimbi et al., 2020). Este conocimiento se ha aplicado para el manejo del deseo sexual hipoactivo secundario a niveles bajos de testosterona, en donde la suplementación hormonal, mejora el deseo sexual. Por otro lado, el uso de fármacos que bloquean la actividad de la testosterona se utiliza para disminuir la motivación sexual en agresores sexuales o en ciertas parafilias, en especial las socialmente más reprobables. Se han obtenido buenos resultados en términos de la inhibición de la conducta sexual, pero se han generado muchos debates en términos de derechos humanos y de las responsabilidades del agresor (Gilbert & Focquaert, 2015; Scott & Holmberg, 2003).

En la rata macho, la motivación sexual puede cuantificarse de diversas formas (Ventura-Aquino & Paredes, 2017), una de ellas es midiendo las

conductas de acercamiento, en una prueba de motivación sexual incentiva (MSI). La MSI se evalúa en una arena oval de 100 x 50 cm, con un par de compartimientos a los lados donde se colocan los diversos incentivos a comparar, usualmente una hembra sexualmente receptiva y un macho con experiencia sexual. Un incentivo sexual se puede definir como aquel sujeto que desencadenará, en otro individuo, las conductas de acercamiento o precopulatorias hacia él. En la prueba de MSI, el sujeto de observación se coloca en el centro y se evalúa el tiempo de estancia cerca de un incentivo u otro, así como el número de visitas que hace a los mismos; las cuales reflejan la motivación sexual hacia cada uno de los incentivos presentados. Utilizando esta prueba podemos discernir entre la motivación sexual de la social, y además es sensible a condiciones que normalmente disminuyen la motivación sexual. Por ejemplo, en un macho castrado, en uno que acaba de copular o al evaluar los efectos de un fármaco inhibidor de la conducta sexual (Ågmo, 2014; Ågmo et al., 2004).

De manera espontánea, alrededor del 5% de la población de ratas macho no muestra preferencia alguna por un incentivo sexual en la prueba de MSI, además de que no despliegan la conducta sexual a pesar de presentarles hembras sexualmente receptivas en repetidas ocasiones. A estos machos se les denomina *no copuladores* (NC) y se han reportado en otras especies en una proporción similar, sugiriendo que esta subpoblación forma parte de la variabilidad biológica (Portillo & Paredes, 2019). A la fecha no se ha encontrado ningún factor hormonal o alguna deficiencia sensorial que explique la inactividad de los machos NC. Además de que muestran respuestas de erección y eyaculación normales (Portillo & Paredes, 2003, 2004). Por otro lado, se ha encontrado una menor expresión de la enzima aromatasas en el APM en los NC. La administración de estradiol o testosterona directamente en esta área cerebral induce la cópula en los machos NC sugiriendo que diferencias hormonales a nivel cerebral pueden explicar las diferencias en motivación sexual (Antonio-Cabrera & Paredes, 2014; Portillo, Castillo, Retana-Márquez, Roselli, & Paredes, 2007).

En el humano, una proporción similar (5%) de personas se identifican como asexuales, es decir, que no sienten atracción o interés sexual por nadie a lo largo de toda la vida (Bogaert, 2015). La asexualidad, se considera el análogo en el humano de los NC. Actualmente, la asexualidad se considera una variante más de las orientaciones sexuales que ha recibido poca atención por parte de la comunidad científica, quizá debido a que su utilidad como modelo animal de alguna disfunción sexual sería nula (Bogaert, 2004, 2012, 2015).

Modelos animales para el estudio de la respuesta eréctil

La DE se define como la incapacidad persistente para lograr y/o mantener la erección lo suficiente para permitir la actividad sexual de forma satisfactoria (Bell, Hadi, Khanal, & Paudyal, 2020). Las causas de la DE incluye factores biológicos y psicosocioculturales, los cuales frecuentemente interrelacionan entre sí a lo largo de su evolución. Por lo anterior, las medidas farmacológicas y/o quirúrgicas enfocadas a mejorar la respuesta eréctil en conjunto con psicoterapia, tienen mejores resultados en comparación al manejo monomodal (Burnett et al., 2018).

Actualmente se dispone de numerosas estrategias para estudiar la respuesta eréctil en ratas, debido principalmente a las similitudes morfológicas y funcionales entre ambas especies, lo que podría ser de gran utilidad para el estudio de la fisiopatología de la DE de origen biológico, y potencialmente para el desarrollo de estrategias terapéuticas.

Evaluación de la respuesta eréctil en modelos animales

La administración sistémica de ciertos fármacos, como la apomorfina, favorecen la erección del pene, lo que permite evaluar la integridad de los mediadores y vías que regulan la erección. Esta vía es particularmente útil cuando se requiere evaluar otros parámetros conductuales durante una prueba de cópula; ya que además de ser mínimamente invasiva, tiene alta replicabilidad (Gordon, James, & Alasdair, 2006). Otra forma de medir la respuesta eréctil es por medio del registro de la presión intracavernosa (PIC) ante algún tipo de estimulación, que puede ser eléctrica sobre el nervio cavernoso, rama del plexo pélvico, responsable de la inervación del pene; o farmacológica durante el tamizaje de nuevas moléculas. Usualmente durante esta prueba, la rata se encuentra bajo anestesia aunque la PIC puede monitorearse por medio de telemetría en ratas despiertas (Chung, De Young, & Brock, 2011; Gordon et al., 2006). El registro de la PIC permite evaluar cuantitativamente la erección, así como los cambios en el flujo sanguíneo cavernoso. Estos parámetros son muy importantes cuando se estudia la fisiología eréctil, así como la fisiopatología de DE orgánica (Chung et al., 2011). No obstante, entre sus limitaciones están el empleo de instrumental y equipo especializados. Además de que su replicabilidad es baja debido a que la estimulación eléctrica también afecta a los tejidos circundantes, y a los efectos de la anestesia sobre la PIC (Hox, Mann-Gow, Lund, & Zvara, 2018).

Modelo de DE neurogénica

La manipulación de los órganos pélvicos durante la resección radical de la próstata puede producir tracción del nervio cavernoso con inflamación local, apoptosis y neuropraxia secundaria, haciendo de la DE post-prostatectomía una complicación común. Para reproducir esta lesión en ratas macho, usualmente se disecciona y se pinza bilateralmente dichos nervios con una pinza hemostática durante 30-60 segundos en una o más ocasiones (Choe et al., 2019; Ma et al., 2020). Mediante esta técnica es posible evaluar el efecto de diferentes estrategias novedosas ya sea para evitar o reparar el daño nervioso, usualmente utilizando estimulación eléctrica y registro de la PIC. Choe y colaboradores (2019) desarrollaron un hidrogel con nanofibras que liberaban de forma continua la proteína *Sonic hedgehog* y lo colocaron directamente sobre el músculo liso del pene tras la lesión del nervio cavernoso, encontrando menores índices de apoptosis y mayor preservación del músculo liso en el grupo tratado, en comparación al control.

Modelos de DE secundarias a otras condiciones médicas

La inyección i.p. de estreptozotocina en ratas, induce la muerte de las células beta con la consecuente falla en la producción de insulina e hiperglucemia secundaria, lo que conlleva a formación de radicales libres, disminución en la síntesis de ON, entre otros mecanismos que producen daño neurovascular; y que precipita la DE. Utilizando este modelo se ha reportado que la función eréctil mejora al controlar las condiciones que producen la hiperglucemia. Por ejemplo, al evitar o retrasar el daño tisular, empleando extractos de ciertas plantas medicinales que evitan el estrés oxidativo; e incluso se ha probado la inyección intracavernosa (IICV) de células madre derivadas del tejido muscular y adiposo en asociación con nanopartículas. Mediante estas técnicas se han reportado resultados prometedores en la recuperación tisular, evaluado por histología. También se ha descrito una mejora en la función eréctil, medido por la PIC (Kovanecz et al., 2016; Yu et al., 2019; Zhou et al., 2017), lo que podría desarrollar estrategias que retrasen o eviten la DE secundaria a enfermedades metabólicas con producción elevada de radicales libres.

Con relación a este tipo de terapias aplicadas en humanos, en un estudio se probó la IICV de células madre derivadas del cordón umbilical, en 6 varones con DE secundaria a diabetes mellitus (DM). Al inicio del estudio ninguno de los participantes mostraba erecciones matutinas, considerando el indicador estándar de la integridad de la respuesta eréctil. A los 3 meses, 5 de 6 participantes mostraron la reaparición de estas erecciones. Sin

embargo, no tenían la rigidez suficiente para permitir el coito, por lo que se agregó un IPDE-5 (sildenafil). A los 11 meses de seguimiento, 2 participantes optaron por la colocación de prótesis de pene, 3 mostraron erecciones que no permitían la penetración incluso con la adición del IPDE-5; y uno había mostrado erecciones lo suficientemente rígidas como para permitir el coito con la adición de IPDE-5 (Bahk, Jung, Han, Min, & Lee, 2010).

El ejemplo anterior muestra la complejidad de aspectos involucrados en torno al desarrollo y mantenimiento de las disfunciones sexuales más allá del aspecto orgánico o biológico. Ya que, a pesar de la recuperación de la respuesta eréctil inicial (mostrado en las erecciones matutinas), ésta por sí sola no fue suficiente para la reanudación de la actividad sexual en ninguno de los casos. De hecho, las terapias regenerativas incluyendo la IICV de plasma rico en plaquetas, de tejidos derivados de membranas amnióticas, o células madre mesenquimatosas ya sea sola o en combinación con la aplicación extracorpórea de ondas de choque de baja intensidad, han demostrado tener poca o nula efectividad en ensayos clínicos, a pesar de sus reportes prometedores en modelos animales (Campbell, Milenkovic, Usta, Albersen, & Bivalacqua, 2020).

Otra condición que puede producir DE secundaria es la fractura de los cuerpos cavernosos, usualmente por el trauma directo y que se considera una emergencia médica. Dependiendo de la severidad, el manejo temprano busca preservar la integridad de la túnica y prevenir la fibrosis y la formación de nódulos que pueden causar deformidades del pene y con ello, dificultades durante la erección (Ateyah et al., 2008). Para modelar esta lesión en ratas, se realiza una incisión proximal en el dorso del pene con una lanceta. Utilizando este modelo, en un estudio se investigaron diferentes adhesivos biocompatibles sobre la cicatrización; evaluado por histopatología. Se midió el grado de fibrosis, la inflamación, el sangrado y el estado de curación del tejido a las 3 semanas tras la lesión. Los adhesivos N-butil 2 cianoacrilato y Gluban 2, mostraron menor presencia de fibrosis y mejores índices de curación tisular, en comparación al grupo que se dejó cicatrizar por sí solo (Turgay et al., 2008). También se ha evaluado el uso de fármacos como la pentoxifilina, simvastatina, tamoxifeno y losartán; solos y en combinación, lo que mejora la irrigación tisular, encontrándose resultados prometedores en la prevención de la fibrosis (Eslahi, Shirazi, Khoshnood, Noorafshan, & Karbalay-Doust, 2020). Debido a que otras condiciones como el envejecimiento, la DM, la DE por lesión nerviosa e hipertensión arterial se asocian a la fibrosis de los cuerpos cavernosos, el estudio y desarrollo de agentes que la eviten o la reviertan, podría ser de gran

utilidad en el manejo de casos de DE secundaria a fibrosis (Cho, Song, & Paick, 2018).

Modelos animales para el estudio de la eyaculación

En la actualidad, cada vez es mayor el consenso sobre que la eyaculación y el orgasmo, aunque suelen ir a la par, son eventos claramente diferentes, especialmente ante diversas situaciones, ya sea por medio del aprendizaje y uso de técnicas para el control eyaculatorio, o mediante el efecto de ciertos fármacos (Alwaal et al., 2015; Kobayashi et al., 2009; Wibowo & Wassersug, 2016).

Las disfunciones relativas a la eyaculación pueden agruparse en a) imposibilidad para la eyaculación; b) eyaculación dolorosa; c) eyaculación anhedónica y d) las referentes al tiempo de eyaculación (Otani, 2019). Estas últimas corresponden a la eyaculación precoz (EP) y la eyaculación retardada. Debido a que éstas han sido las que han recibido la atención en modelos animales, nos limitaremos a ellas en este capítulo.

La EP es considerada la disfunción sexual masculina más frecuente en menores de 30 años e incluye cuatro criterios para su diagnóstico: 1) Una latencia de eyaculación (LE) menor a 1 minuto en la mayoría de las experiencias, 2) con una duración de los signos y síntomas de al menos 6 meses, 3) presencia de estrés inter e intrapersonal significativo y 4) que no se explique por ninguna otra condición médica (American Psychiatric Association, 2013). Clínicamente, la EP se clasifica en primaria cuando está presente desde las primeras experiencias sexuales, y secundaria cuando aparece después. Debido a que las vías neuroanatómicas y los mediadores involucrados en la respuesta eyaculatoria en la rata se conocen a detalle y se comparten entre diversas especies de mamíferos, el estudio en modelos animales puede ser de gran utilidad, especialmente para la EP primaria (Alwaal et al., 2015; Chan et al., 2008).

Eyaculadores espontáneamente rápidos y lentos

Dentro de una población de ratas macho, existe variabilidad natural en las latencias de eyaculación que sigue una distribución normal, en donde ambos extremos representan el grupo de machos con LE más cortas y largas, respectivamente. En una prueba de cópula de 30 minutos, los eyaculadores rápidos presentan un número bajo de montas e intromisiones, con más eyaculaciones (4-5), en comparación a los eyaculadores lentos (0-1). Este patrón individual en la LE se mantiene estable en pruebas subsecuentes, lo que sugiere que la LE podría relacionarse a la cantidad de estimula-

ción requerida para llegar al umbral necesario para la eyaculación, aunado a diferencias sensoriales (Olivier et al., 2006).

Al respecto, se evaluó en ratas la capacidad olfatoria en un grupo de eyaculadores lentos, comparados con eyaculadores promedio, a través de dos pruebas que se repitieron semanalmente en tres ocasiones: 1) preferencia olfatoria entre dos incentivos (macho y hembra sexualmente receptiva; 2) medición del tiempo que tardaban en encontrar un estímulo enterrado en una cama de virutas de madera; ya sea, un *pellet* de comida o un pequeño saco lleno de virutas impregnadas de orina de hembras sexualmente receptivas. Los eyaculadores lentos mostraron una menor preferencia olfatoria por la hembra, así como una latencia mayor para encontrar los dos tipos de estímulos enterrados en comparación a machos con LE promedio. Lo anterior indica que, para el caso de los eyaculadores lentos, esta condición podría relacionarse a diferencias en la capacidad olfatoria (Shimomi & Kondo, 2020). En otro trabajo, se reportó que, los eyaculadores lentos muestran incrementos en la expresión del gen para el receptor a estrógenos alfa en el bulbo olfatorio; aunado al incremento del gen para el receptor a andrógenos y aromatasa en el APM, en comparación a machos con LE promedio. En conjunto, los resultados anteriores indican que, las diferencias en la LE y en la capacidad olfativa mostrada en los eyaculadores lentos, podrían tener bases neurobiológicas (Antaramian, Gonzalez-Gallardo, Garcia-Ugalde, Portillo, & Paredes, 2015).

Por otro lado, se ha encontrado que, después de 30 minutos de cópula *ad libitum*, los eyaculadores rápidos presentan una mayor inmunorreactividad a la proteína Fos, como un indicador de activación neuronal, en áreas relevantes para la cópula como el APM y la amígdala; así como la coexpresión de Fos y Oxitocina en el núcleo supraóptico del tálamo, en comparación a los eyaculadores lentos y promedio. Debido a que esta expresión se correlaciona positivamente con el número de eyaculaciones, no es posible descartar que el incremento en la inmunorreactividad de Fos, sea secundaria a la actividad eyaculatoria (Pattij et al., 2005).

Los estudios referentes a los efectos de diferentes fármacos sobre la LE, empleando a eyaculadores lentos y rápidos han reportado que la serotonina (5-HT), es un neurotransmisor importante en la modulación de la LE (Pattij & Waldinger, 2005; Waldinger & Olivier, 2005). Existen más de quince diferentes receptores a 5-HT descritos hasta ahora, de los cuales tres se han vinculado con la LE, ya sea pre (5-HT_{1A} y 5-HT_{1B}) y/o postsinápticos (5-HT_{1B} y 5-HT_{2C}). En los eyaculadores rápidos, la activación de los 5-HT_{1B} y 5-HT_{2C} prolonga la LE, mientras que en eyaculadores lentos, la ac-

tivación de los 5-HT_{1A}, la acorta (Hyun, 2014; Pattij & Waldinger, 2005). Lo que sugiere que el efecto de la 5-HT sobre la LE depende del tipo y localización de receptor involucrado, lo que a su vez estará determinado por la dosis, tiempo y vía de administración, así como la afinidad del fármaco a cada subtipo de receptor. Estas variables podrían explicar los resultados inconsistentes tanto en ratas, como en humanos, de los efectos de los ISRS que, al aumentar el tiempo de estancia de la 5-HT en el espacio sináptico, incrementa la actividad de este neurotransmisor (Balci et al., 2019; Le Moëne & Ågmo, 2019; Olivier et al., 2006).

A partir de los resultados en ratas sobre la variabilidad en la LE se generó mayor interés en conocer si esto sucedía en el humano, como posible explicación en los casos de EP primaria, (Waldinger et al., 2005). Sin embargo, no existían antecedentes más allá de los reportes de Masters y Johnson que permitieran una aproximación a la población general. Para ello se realizó un estudio en el que participaron 500 parejas heterosexuales de 5 países, quienes, por auto-reporte, midieron la LE intravaginal utilizando un cronómetro. Se registró la actividad sexual durante 4 semanas, obteniéndose una media de 5.4 minutos en la LE, la cual correlacionó negativamente con la edad (Waldinger et al., 2005). No obstante, la distribución de los valores mostró una asimetría positiva, no Gaussiana como en ratas. Al considerar el extremo del percentil 2.5 como punto de corte, se obtuvo una LE de 1-2 minutos, lo que se aproxima al criterio diagnóstico de EP. Por otro lado, se encontraron que diversos factores influyeron en la distribución de las LE. Por ejemplo, el tiempo en la relación de pareja, el contexto y la frecuencia de la actividad sexual, edad de los participantes, país de residencia, entre otros (Waldinger et al., 2005). En otro estudio bajo condiciones de laboratorio, 28 varones clínicamente sanos, en posición supina y con los ojos vendados; recibieron estimulación manual por una misma mujer. La prueba se repitió 4 ocasiones en intervalos de una semana y se midió la LE a la estimulación. Tomando en consideración las 116 mediciones totales, los datos mostraban una distribución normal, con una media y desviación estándar de 156 ± 80.7 segundos. Los resultados anteriores sugieren que las LE en los humanos muestran una variabilidad en donde cierta proporción mostrará LE cortas, de los cuales, quienes cumplan con otros criterios marcados en el DSM-V, serán diagnosticados con EP. Asimismo, los autores remarcen la importancia de tomar en consideración las diferencias metodológicas (tipo de estimulación, forma de recolección de datos, etc.) y otros factores (edad, entorno sociocultural, tipo y dinámica de pareja, etc), a la hora del análisis, interpretación y alcances de los re-

sultados (Bhat & Shastry, 2017; Kameya, Deguchi, & Yokota, 1997; Vanden Broucke et al., 2007; Waldinger et al., 2005). Cabe destacar que las LE en humanos reportadas son similares a las LE de otros primates como el bonobo, el chimpancé y el macaco, quienes muestran LE menores a un minuto (Dixon, 2012).

Por otro lado, se ha identificado una mayor sensibilidad peneana a estímulos táctiles en sujetos con EP que correlaciona con la LE, por tanto, la estimulación requerida para la eyaculación sería menor, en comparación a hombres sin este diagnóstico. Sin embargo, esta correlación no se encuentra en varones sin EP (Vanden Broucke et al., 2007).

La dapoxetina es un ISRS que ha mostrado mayor eficacia y mejor perfil de seguridad, por lo que se considera de primera línea en el manejo de EP en varios países. Un estudio reciente mostró que, en un grupo de 182 pacientes con EP, la tasa de discontinuación de la dapoxetina fue del 79.1% a los 6 meses. Entre las razones del abandono se mencionó, en primer lugar, el costo; seguido de la inconformidad de saber que la EP no era curable, y a la necesidad de utilizarla en cada encuentro sexual (Park et al., 2017). En otro trabajo, Waldinger y cols. (2008) mostraron que el tratamiento con ISRS ya fuera agudo o crónico para la EP incrementaba hasta 3 veces la media geométrica de la LE inicial. Este efecto se consideró como clínicamente irrelevante por los participantes y sus parejas. A partir de este resultado, los autores recomiendan expresar los efectos de los fármacos sobre la LE como incrementos/decrementos en número de veces, en lugar de comparaciones entre las medias, para evitar sobreestimación de los efectos que pudiera causar expectativas poco realistas del efecto de los fármacos como monoterapia para la EP (Chan et al., 2008).

Conclusiones

El estudio de la conducta sexual en ratas macho ha permitido conocer a detalle los mecanismos que regulan las respuestas de erección y eyaculación, con buena homología interespecie. Este conocimiento por sí mismo ha contribuido de manera importante al conocimiento científico y pudiera aplicarse para el entendimiento de algunos mecanismos que subyacen a disfunciones sexuales, principalmente aquellas primarias y de origen biológico u orgánico. No obstante, los estudios en humanos han demostrado que la conducta sexual en nuestra especie es sumamente diversa y poco predecible, así como nuestra capacidad, quizá única, de generar representaciones mentales de los estímulos sexuales, que pueden ser suficientes para desplegar la respuesta sexual. Si a esto agregamos el entorno socio-

cultural y psicosocial, podemos entender la dificultad de extrapolar los resultados obtenidos en modelos animales al humano. De hecho, lo anterior podría explicar la casi nula utilidad de las estrategias desarrolladas a partir de modelos animales sobre la sexualidad humana. Es evidente que, a diferencia de lo sucedido en ratas, el conocimiento de las bases neurobiológicas de la sexualidad humana, sus variantes y sus disfunciones, está en sus etapas iniciales.

Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo de UNAM-DGAPA-PAPIIT proyectos IN206521 y IA204321.

REFERENCIAS

- Ågmo, A. (2014). Animal models of female sexual dysfunction: Basic considerations on drugs, arousal, motivation and behavior. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 121, 3–15.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pbb.2013.10.003>
- Ågmo, A., Turi, A. L., Ellingsen, E., & Kaspersen, H. (2004). Preclinical models of sexual desire: conceptual and behavioral analyses. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 78(3), 379–404.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pbb.2004.04.013>
- Alwaal, A., Breyer, B. N., & Lue, T. F. (2015). Normal male sexual function: emphasis on orgasm and ejaculation. *Fertility and Sterility*, 104(5), 1051–1060.
<https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.08.033>
- American Psychiatric Association. (2013). American Psychiatric Association: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders Fifth Edition. In Arlington.
- Antaramian, A., Gonzalez-Gallardo, A., Garcia-Ugalde, C., Portillo, W., & Paredes, R. G. (2015). Steroid receptors and aromatase gene expression in different brain areas of Copulating and sexually sluggish male rats. *The Journal of Sexual Medicine*, 12(12), 2267–2275.
<https://doi.org/10.1111/jsm.13073>
- Antonio-Cabrera, E., & Paredes, R. G. (2014). Testosterone or oestradiol implants in the medial preoptic area induce mating in noncopulating male rats. *Journal of Neuroendocrinology*, 26(7), 448–458.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jne.12164>
- Ateyah, A., Mostafa, T., Nasser, T. A., Shaer, O., Hadi, A. A., & Al-Gabbar, M. A. (2008). Penile fracture: surgical repair and late effects on erectile function. *The Journal of Sexual Medicine*, 5(6), 1496–1502.
<https://doi.org/10.1111/j.1743-6109.2007.00769.x>
- Bahk, J., Jung, J. H., Han, H., Min, S., & Lee, Y. (2010). Treatment of diabetic impotence with umbilical cord blood stem cell intracavernosal transplant: Preliminary report of 7 cases. *Experimental and Clinical Transplantation: Official Journal of the Middle East Society for Organ Transplantation*, 8, 150–160.
- Balci, M., Atan, A., Senel, C., Guzel, O., Aslan, Y., Lokman, U., ... Bilgin, O. (2019). Comparison of the treatment efficacies of paroxetine, fluoxetine and dapoxetine in low socioeconomic status patients with lifelong premature ejaculation. *Central European Journal of Urology*, 72(2), 185–190.
<https://doi.org/10.5173/cej.2019.1855>
- Ban, T. A. (2006). The role of serendipity in drug discovery. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 8(3), 335–344.
<https://doi.org/10.31887/DCNS.2006.8.3/tban>
- Bell, C., Hadi, M. A., Khanal, S., & Paudyal, V. (2020). Are more men seeking help for erectile dysfunction? A time trend analysis. *BJGP Open*, bjgpopen20X101145.
<https://doi.org/10.3399/bjgpopen20X101145>
- Bhat, G. S., & Shastry, A. (2017). Use of a stopwatch to measure ejaculatory latency may not be accurate among Indian patients. *Indian Journal of Urology: IJU: Journal of the Urological Society of India*, 33(4), 300–303.
https://doi.org/10.4103/iju.IJU_56_17
- Bogaert, A. F. (2004). Asexuality: Prevalence and associated factors in a national probability sample. *The Journal of Sex Research*, 41(3), 279–287.
<https://doi.org/10.1080/00224490409552235>
- Bogaert, A. F. (2012). *Understanding Asexuality* (Vol. 1).
<https://doi.org/10.14321/qed.1.3.0175>
- Bogaert, A. F. (2015). Asexuality: what it is and why it matters. *The Journal of Sex Research*, 52(4), 362–379.
<https://doi.org/10.1080/00224499.2015.1015713>

- Burnett, A. L., Nehra, A., Breau, R. H., Culkin, D. J., Faraday, M. M., Hakim, L. S., ... Shindel, A. W. (2018). Erectile dysfunction: AUA guideline. *The Journal of Urology*, 200(3), 633–641. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.juro.2018.05.004>
- Campbell, J. D., Milenkovic, U., Usta, M. F., Albersen, M., & Bivalacqua, T. J. (2020). The good, bad, and the ugly of regenerative therapies for erectile dysfunction. *Translational Andrology and Urology*, 9(Suppl 2), S252–S261. <https://doi.org/10.21037/tau.2019.10.06>
- Chan, J. S. W., Olivier, B., de Jong, T. R., Snoeren, E. M. S., Kooijman, E., van Hasselt, F. N., ... Oosting, R. S. (2008). Translational research into sexual disorders: Pharmacology and genomics. *European Journal of Pharmacology*, 585(2), 426–435. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2008.02.098>
- Cho, M. C., Song, W. H., & Paick, J.-S. (2018). Suppression of cavernosal fibrosis in a rat model. *Sexual Medicine Reviews*, 6(4), 572–582. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.sxmr.2018.02.007>
- Choe, S., Kalmanek, E., Bond, C., Harrington, D. A., Stupp, S. I., McVary, K. T., & Podlasek, C. A. (2019). Optimization of Sonic Hedgehog delivery to the penis from self-assembling nanofiber hydrogels to Preserve penile morphology after cavernous nerve injury. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 20, 102033. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.nano.2019.102033>
- Chu, X., Guarraci, F. A., & Ågmo, A. (2015). Sociosexual behaviors and reproductive success of rats (*Rattus norvegicus*) in a seminatural environment. *Physiology & Behavior*, 151, 46–54. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.07.005>
- Chu, X., Snoeren, E., & Ågmo, A. (2017). Functions of vocalization in sociosexual behaviors in rats (*Rattus norvegicus*) in a seminatural environment. *Journal of Comparative Psychology*, Vol. 131, pp. 10–18. <https://doi.org/10.1037/com0000051>
- Chung, E., De Young, L., & Brock, G. B. (2011). Investigative models in erectile dysfunction: a state-of-the-art review of current animal models. *The Journal of Sexual Medicine*, 8(12), 3291–3305. Retrieved from <http://10.04.87/j.1743-6109.2011.02505.x>
- Coolen, L. M., Allard, J., Truitt, W. A., & McKenna, K. E. (2004). Central regulation of ejaculation. *Physiology and Behavior*. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2004.08.023>
- Cordes, M. A., Stevenson, S. A., Driessen, T. M., Eisinger, B. E., & Riters, L. V. (2015). Sexually-motivated song is predicted by androgen-and opioid-related gene expression in the medial preoptic nucleus of male European starlings (*Sturnus vulgaris*). *Behavioural Brain Research*, 278, 12–20. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.09.029>
- Dixson, Alan F. 'Hormones and sexual behaviour in the adult male.' *Primate Sexuality: Comparative Studies of the Prosimians, Monkeys, Apes, and Humans*, 2nd edn (Oxford, 2012; pubd online May. 2015). Oxford Scholarship Online.
- Eslahi, A., Shirazi, M., Khoshnood, O., Noorafshan, A., & Karbalay-Doust, S. (2020). Comparison of the effects of pentoxifylline, simvastatin, tamoxifen, and losartan on cavernous bodies after penile fracture in rats: a stereological study. *International Journal of Impotence Research*, 32(3), 338–344. <https://doi.org/10.1038/s41443-019-0175-2>
- Georgiadis, J. R., Kringelbach, M. L., & Pfaus, J. G. (2012). Sex for fun: a synthesis of human and animal neurobiology. *Nature Reviews Urology*, 9(9), 486–498. <https://doi.org/10.1038/nrurol.2012.151>

- Gilbert, F., & Focquaert, F. (2015). Rethinking responsibility in offenders with acquired paedophilia: Punishment or treatment? *International Journal of Law and Psychiatry*, 38, 51–60.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijl.2015.01.007>
- Gordon, M., James, C., & Alasdair, N. (2006). Animal models in urological disease and sexual dysfunction. *British Journal of Pharmacology*, 147 Suppl, S62–S79.
<https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706630>
- Hox, M., Mann-Gow, T., Lund, L., & Zvara, P. (2018). Cavernous nerve stimulation and recording of intracavernous pressure in a rat. *JoVE*, (134), e56807.
<https://doi.org/doi:10.3791/56807>
- Hull, E., & Dominguez, J. (2012). Sexual behavior. *Handbook of Psychology*, 331–364.
- Hull, E. M., & Dominguez, J. M. (2007). Sexual behavior in male rodents. *Hormones and Behavior*, 52(1), 45–55.
<https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2007.03.030>
- Hyun, J. S. (2014). AB54. Pathophysiology of premature ejaculation and serotonin. *Translational Andrology and Urology*, 3(Suppl 1), AB54.
<https://doi.org/10.3978/j.issn.2223-4683.2014.s054>
- Jones, S. L., Ismail, N., King, L., & Pfaus, J. G. (2012). The effects of chronic administration of testosterone propionate with or without estradiol on the sexual behavior and plasma steroid levels of aged female rats. *Endocrinology*, 153(12), 5928–5939.
<https://doi.org/10.1210/en.2012-1578>
- Kameya, Y., Deguchi, A., & Yokota, Y. (1997). Analysis of measured values of ejaculation time in healthy males. *Journal of Sex & Marital Therapy*, 23(1), 25–28.
<https://doi.org/10.1080/00926239708404414>
- Kobayashi, K., Masumori, N., Kato, R., Hisasue, S., Furuya, R., & Tsukamoto, T. (2009). Orgasm is preserved regardless of ejaculatory dysfunction with selective alpha1A-blocker administration. *International Journal of Impotence Research*, 21(5), 306–310.
<https://doi.org/10.1038/ijir.2009.27>
- Kovanecz, I., Vernet, D., Masouminia, M., Gelfand, R., Loni, L., Aboagye, J., ... Gonzalez-Cadavid, N. F. (2016). Implanted muscle-derived stem cells ameliorate erectile dysfunction in a rat model of type 2 diabetes, but their repair capacity is impaired by their prior exposure to the diabetic milieu. *The Journal of Sexual Medicine*, 13(5), 786–797.
<https://doi.org/10.1016/j.jsxm.2016.02.168>
- Le Moëne, O., & Ågmo, A. (2018). The neuroendocrinology of sexual attraction. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 51, 46–67.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2017.12.006>
- Le Moëne, O., & Ågmo, A. (2019). Modeling human sexual motivation in rodents: some caveats. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 13, 187.
<https://doi.org/10.3389/fnbeh.2019.00187>
- Levin, R. (2008). Critically revisiting aspects of the human sexual response cycle of Masters and Johnson: correcting errors and suggesting modifications. *Sexual & Relationship Therapy*, 23(4), 393–399. Retrieved from
<https://doi.org/10.1080/14681990802488816>
- Levin, R. (2018). Prostate-induced orgasms: A concise review illustrated with a highly relevant case study. *Clinical Anatomy*, 31(1), 81–85.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1002/ca.23006>
- Lin, C., Lin, G., & Lue, T. F. (2005). Cyclic nucleotide signaling in cavernous smooth muscle. *The Journal of Sexual Medicine*, 2(4), 478–491.
<https://doi.org/10.1111/j.1743-6109.2005.00080.x>
- Ma, K., Zhao, F., Ye, M., Zhou, K., Huang, W.-J., Zhao, J., ... Lv, B. (2020). Neuroprotective effect of Hongjing I granules on erectile dysfunction in a rat model of bilateral cavernous nerve injury. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 130, 110405.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110405>

- Martinez, I., & Paredes, R. G. (2001). Only self-paced mating is rewarding in rats of both sexes. *Hormones and Behavior*, 40(4), 510–517.
<https://doi.org/10.1006/hbeh.2001.1712>
- Masters, W. H., & Johnson, V. E. (1966). *Human sexual response*. Boston: Little, Brown.
- Meston, C. M., & Buss, D. M. (2007). Why humans have sex. *Archives of Sexual Behavior*, 36(4), 477–507.
<https://doi.org/10.1007/s10508-007-9175-2>
- Meston, C. M., Kilimnik, C. D., Freihart, B. K., & Buss, D. M. (2020). Why humans have sex: development and psychometric assessment of a short-form version of the YSEX? instrument. *Journal of Sex & Marital Therapy*, 46(2), 141–159.
<https://doi.org/10.1080/0092623X.2019.1654581>
- Nimbi, F. M., Tripodi, F., Rossi, R., Navarro-Cremades, F., & Simonelli, C. (2020). Male sexual desire: an overview of biological, psychological, sexual, relational, and cultural factors influencing desire. *Sexual Medicine Reviews*, 8(1), 59–91.
<https://doi.org/10.1016/j.sxmr.2018.12.002>
- Olivier, B., Chan, J. S. W., Pattij, T., de Jong, T. R., Oosting, R. S., Veening, J. G., & Waldinger, M. D. (2006). Psychopharmacology of male rat sexual behavior: modeling human sexual dysfunctions? *International Journal of Impotence Research*, 18(1), S14–S23.
<https://doi.org/10.1038/sj.ijir.3901330>
- Otani, T. (2019). Clinical review of ejaculatory dysfunction. *Reproductive Medicine and Biology*, 18(4), 331–343.
<https://doi.org/10.1002/rmb2.12289>
- Paredes, R. G. (2009). Evaluating the neurobiology of sexual reward. *ILAR Journal*, 50(1), 15–27.
- Park, H. J., Park, N. C., Kim, T. N., Baek, S. R., Lee, K. M., & Choe, S. (2017). Discontinuation of dapoxetine treatment in patients with premature ejaculation: a 2-year prospective observational study. *Sexual Medicine*, 5(2), e99–e105.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.esxm.2017.02.003>
- Pattij, T., De Jong, T. R., Uitterdijk, A., Waldinger, M. D., Veening, J. G., Cools, A. R., ... Olivier, B. (2005). Individual differences in male rat ejaculatory behaviour: searching for models to study ejaculation disorders. *European Journal of Neuroscience*, 22(3), 724–734.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2005.04252.x>
- Pattij, T., & Waldinger, B. O. and M. D. (2005). Animal models of ejaculatory behavior. *Current Pharmaceutical Design*, Vol. 11, pp. 4069–4077.
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.2174/138161205774913363>
- Peretto, P., & Paredes, R. (2014). Social cues, adult neurogenesis, and reproductive behavior. In C. Mucignat-Caretta (Ed.), *Neurobiology of Chemical Communication* (pp. 367–387).
<https://doi.org/10.1201/b16511-14>
- Pfaus, J. G. (1996). Homologies of animal and human sexual behaviors. *Hormones and Behavior*, 30(3), 187–200.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1006/hbeh.1996.0024>
- Pfaus, J. G., Kippin, T. E., Coria-Avila, G. A., Gelez, H., Afonso, V. M., Ismail, N., & Parada, M. (2012). Who, what, where, when (and maybe even why)? How the experience of sexual reward connects sexual desire, preference, and performance. *Archives of Sexual Behavior*, 41(1), 31–62.
<https://doi.org/10.1007/s10508-012-9935-5>
- Portillo, W., Castillo, C. G., Retana-Márquez, S., Roselli, C. E., & Paredes, R. G. (2007). Neuronal activity of aromatase enzyme in non-copulating male rats. *Journal of Neuroendocrinology*, 19(2), 139–141.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2006.01513.x>
- Portillo, W., & Paredes, R. G. (2003). Sexual and olfactory preference in noncopulating male rats. *Physiology & Behavior*, 80(1), 155–162.
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0031-9384\(03\)00231-2](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0031-9384(03)00231-2)

- Portillo, W., & Paredes, R. G. (2004). Sexual incentive motivation, olfactory preference, and activation of the vomeronasal projection pathway by sexually relevant cues in non-copulating and naive male rats. *Hormones and Behavior*, 46(3), 330–340.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2004.03.001>
- Portillo, W., & Paredes, R. G. (2019). Motivational drive in non-copulating and socially monogamous mammals. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 13.
<https://doi.org/10.3389/fnbeh.2019.00238>
- Schick, V. R., Baldwin, A., Bay-Cheng, L. Y., Dodge, B., Van Der Pol, B., & Fortenberry, J. D. (2016). “First, I... then, we...”: exploring the sequence of sexual acts and safety strategies reported during a sexual encounter using a modified timeline followback method. *Sexually Transmitted Infections*, 92(4), 272–275.
<https://doi.org/10.1136/sextrans-2015-052207>
- Scott, C. L., & Holmberg, T. (2003). Castration of sex offenders: prisoners; rights versus public safety. *Journal of the American Academy of Psychiatry and the Law Online*, 31(4), 502 LP – 509. Retrieved from <http://jaapl.org/content/31/4/502.abstract>
- Shimomi, Y., & Kondo, Y. (2020). Blunt olfaction in sexually sluggish male rats. *Experimental Animals*, 69(4), 441–447.
<https://doi.org/10.1538/expanim.19-0161>
- Turgay, A., Ali, A., Özden, C., Barýp, N., Elif, Ö., Cankon, G., & Hüseyin, Ü. (2008). Effect of cyanoacrylic glue on penile fracture: an experimental study. *Journal of Urology*, 180(2), 749–752.
<https://doi.org/10.1016/j.juro.2008.03.181>
- Vanden Broucke, H., Everaert, K., Peersman, W., Claes, H., Vanderschueren, D., & Van Kampen, M. (2007). Ejaculation latency times and their relationship to penile sensitivity in men with normal sexual function. *Journal of Urology*, 177(1), 237–240.
<https://doi.org/10.1016/j.juro.2006.08.071>
- Ventura-Aquino, E., & Paredes, R. G. (2017). Animal models in sexual medicine: the need and importance of studying sexual motivation. *Sexual Medicine Reviews*, 5(1), 5–19.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.sxmr.2016.07.003>
- Waldinger, M. D., & Olivier, B. (2005). Animal models of premature and retarded ejaculation. *World Journal of Urology*, 23(2), 115–118.
<https://doi.org/10.1007/s00345-004-0493-x>
- Waldinger, M. D., Quinn, P., Dilleen, M., Mundayat, R., Schweitzer, D. H., & Boolell, M. (2005). A multinational population survey of intravaginal ejaculation latency time. *The Journal of Sexual Medicine*, 2(4), 492–497.
<https://doi.org/10.1111/j.1743-6109.2005.00070.x>
- Wibowo, E., & Wassersug, R. J. (2016). Multiple orgasms in men—what we know so far. *Sexual Medicine Reviews*, 4(2), 136–148.
<https://doi.org/10.1016/j.sxmr.2015.12.004>
- Yu, X. D., Wang, J. S., Zuo, G., Wang, X., Ge, F., Wu, S., ... Zhang, Y. (2019). Traditional Chinese medicine on treating diabetic mellitus erectile dysfunction: Protocol for a systematic review and meta-analysis. *Medicine*, 98(13), e14928–e14928.
<https://doi.org/10.1097/MD.00000000000014928>
- Zhou, F., Hui, Y., Xin, H., Xu, Y.-D., Lei, H.-E., Yang, B.-C., ... Xin, Z.-C. (2017). Therapeutic effects of adipose-derived stem cells-based microtissues on erectile dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. *Asian Journal of Andrology*, 19(1), 91–97.
<https://doi.org/10.4103/1008-682X.182817>

Modelos animales:
los animales que enseñan,
se imprimió en Xalapa, Ver., México.
El tiraje fue de 300 ejemplares.
Imprimió CÓDICE / TALLER EDITORIAL.
Julio de 2021.