

El diverso mundo motivacional de las madres

Co expresión de las motivaciones maternal y
sexual durante el estro posparto en la rata.

Marcela Ferreño Vázquez

Tutora: Dra Daniella Agrati

Lic. En Ciencias Biológicas;
Orientación: Fisiología y Nutrición

2010

Agradecimientos...

A mi familia, por apoyarme siempre y respetar mi camino y mis decisiones. A mamá por enseñarme a no aflojar nunca.

A José, por ser mi gran compañero, por caminar siempre a mi lado y por compartir su vida conmigo.

A Daniella, por recibirme con tanto cariño, por guiarme y compartir su conocimiento y su pasión por este trabajo.

Al gran equipo que me integró con tanta calidez y que me hizo ser parte, Annabel, María José y Natalia.

Al tribunal de mi tesis, quienes tuvieron comentarios más que halagadores para con mi trabajo y por sus aportes.

A Héctor y Alfonsina, por cuidar con tanta dedicación y preocupación de los animales.

A todos mis amigos, por hacerme el aguante siempre...

A la Comisión Sectorial de Investigación Científica, por financiar mi trabajo.

INDICE

RESUMEN	-----3
INTRODUCCIÓN	-----4
A la motivación	-----4
Al comportamiento maternal	-----4
A los cambios afectivos: agresión maternal	-----5
Al comportamiento sexual	-----6
A su co-expresión	-----7
HIPOTESIS	-----9
OBJETIVOS	-----9
MATERIALES Y MÉTODOS	-----10
RESULTADOS	-----13
DISCUSIÓN	-----17
REFERENCIAS	-----23

RESUMEN

La rata hembra presenta un estro pos-parto fértil; durante el cual, es capaz de percibir a un macho intruso, en la caja materna, como un estímulo atractivo y aversivo al mismo tiempo, expresando de forma simultánea comportamiento sexual y agresión maternal hacia el mismo. El comportamiento de la hembra hacia el macho indica que ambas motivaciones están co-activadas, sin embargo se desconoce si la expresión integrada de estas implica una regulación conjunta o independiente de las mismas. Por lo que un aumento de la motivación maternal podría afectar la expresión de la agresión maternal dependiente o independiente del comportamiento sexual durante el estro pos-parto. Con este fin, se utilizaron dos grupos de hembras primíparas en estro pos-parto: madres a las cuales se les retiraron las crías de la caja por un período de 10 min y se re-introdujeron simultáneamente a un macho sexualmente activo y madres a las cuales no se les manipuló la camada previo a la introducción del macho. Las hembras maternalmente estimuladas exhibieron respuestas sexuales, agresivas y maternales en un patrón comportamental entremezclado, expresando solicitud sexual y agresión maternal antes de concluir el acarreo de todas sus crías al nido. La estimulación del comportamiento maternal provocó también un aumento del número de respuestas ofensivas hacia el macho, en comparación con el grupo control, que se reflejó, a su vez, en un incremento del tiempo de sumisión del mismo. Este incremento de la agresión de las hembras maternalmente estimuladas, no afectó su comportamiento sexual, que no difirió del grupo no estimulado. Estos resultados muestran que durante el estro pos-parto: a) existe independencia en la regulación de las motivaciones sexual y maternal agresiva, a pesar de su co-activación y b) las hembras tienen la potencialidad de expresar múltiples motivaciones hacia las crías y el macho.

INTRODUCCIÓN

...A LA MOTIVACIÓN

Los vínculos afiliativos, entre padres e hijos o entre los miembros de una pareja, provocan cambios drásticos en la conducta y afectividad de los individuos que los establecen. Estos vínculos involucran procesos multisensoriales, visuales, olfativos, táctiles, auditivos, y complejas respuestas motoras, de búsqueda y proximidad, de cuidado y defensa (Ferreira et al., 2007).

Quizá la característica más importante de los vínculos afiliativos es su dependencia de la motivación, entendida como el conjunto de procesos que permiten a un organismo regular la disponibilidad, probabilidad o proximidad de un estímulo. Esta definición comprende tanto los estímulos internos como externos (Salamone, 1996) y se compone de aspectos direccionales (el animal se dirige hacia un estímulo o se aleja del mismo) y activacionales (el animal invierte energía y tiempo en un determinado estímulo). Estos procesos motivacionales cumplen tres funciones: una activadora, que aumenta el estado de alerta general y da energía al individuo para la acción; una función directiva, que guía la conducta del individuo hacia una meta específica y una organizadora, que permite combinar cada uno de los componentes de la conducta para formar una secuencia coherente, orientada a alcanzar una meta o evitar una situación no deseada (Salamone & Correa, 2002).

...AL COMPORTAMIENTO MATERNAL

El vínculo materno-filial que se establece entre una madre y sus crías se manifiesta mediante una serie de conductas de cuidado y se denomina comportamiento maternal (Figura 1). En la rata, las crías que antes del parto despiertan reacciones de rechazo, se vuelven muy atractivas para las madres luego del mismo. La transición del rechazo a la atracción de las crías es lo que habilita a las hembras a comportarse maternalmente, promoviendo comportamientos de búsqueda y aproximación de las crías (Rosenblatt, 1967). Este cambio drástico en la respuesta hacia las crías por parte de las madres, implica un cambio del valor afectivo de las mismas (Kinsley & Bridges 1990; Rosenblatt 1967, 1975), así como el desarrollo de una motivación selectiva para interactuar con ellas (Pereira & Ferreira, 2006).



Figura 1 Comportamiento maternal. Hembra en postura de amamantamiento (izquierda) y acarreando a una cría (derecha).

El comportamiento maternal es altamente motivado y las crías adquieren un fuerte valor de incentivo. Así, las madres prefieren un lugar previamente asociado con crías que un ambiente neutro (Fleming et al., 1994) y aprenden a apretar una palanca para obtener acceso a ellas (Lee et al., 2000). La motivación maternal es además modulada por el perfil hormonal y por la experiencia maternal previa (Orpen & Fleming, 1987; Pereira & Ferreira, 2006)

...A LOS CAMBIOS AFECTIVOS: AGRESIÓN MATERNAL

Las ratas hembras lactantes no solo desarrollan comportamiento maternal hacia las crías, sino que disminuyen sus niveles de ansiedad en pruebas de conflictos (Ferreira et al., 1989), en el laberinto elevado en forma de cruz (Pereira et al., 2006) y en el campo abierto (Fleming & Luebke, 1981). A su vez, exhiben menos temor hacia estímulos auditivos repentinos (Ferreira et al., 2002; Hård & Hansen., 1985) y muestran agresión hacia un intruso en la caja materna (Erskine et al., 1978, 1980). Estos cambios afectivos en las ratas lactantes, son modulados por las crías y el perfil hormonal propio del peri parto y la lactancia (Ferreira et al., 2002; Pereira & Ferreira, 2006), y contribuyen junto con el comportamiento maternal, a la defensa y protección de las crías.

Uno de los cambios afectivos más notorios es la agresión de las madres hacia individuos intrusos en la caja materna durante la lactancia, denominada agresión maternal (Figura 2). Ésta está íntimamente ligada al desarrollo del comportamiento maternal, y es dependiente de la presencia de las crías y del nido (Ferreira & Hansen, 1986; Mayer et al, 1987). Así, los estímulos olfativos y táctiles de las crías y del macho intruso (Ferreira & Hansen, 1986; Ferreira et al., 1987; Kolunie & Stern 1990) son determinantes para el despliegue de la agresión maternal.



Figura 2 Agresión maternal. Hembra mordiendo a un macho intruso en la caja materna.

La agresión maternal no sólo acompaña el curso temporal de las respuestas maternales (Mayer et al., 1987, Mayer & Roseblatt, 1984), sino que es dependiente de la motivación maternal. En este sentido, hembras ovariectomizadas sensibilizadas, que desarrollan comportamiento maternal por exposición continua a crías neonatas, exhiben agresión maternal frente a un macho intruso en el nido, aunque la misma es deficiente en comparación a la presentada por las hembras lactantes (Ferreira et al., 2002). Sin embargo, la presencia de crías demandantes, que poseen un valor de incentivo mayor que las crías no-demandantes, mejora la calidad de la agresión maternal de las ratas sensibilizadas (Pereira, 2005).

...AL COMPORTAMIENTO SEXUAL

El comportamiento sexual, que involucra la búsqueda y proximidad de una pareja sexual puede dividirse en comportamientos proceptivos y receptivos. La proceptividad de las hembras incluye una amplia gama de comportamientos de solicitud especie-específicos que atraen y facilitan la monta del macho (Erskine, 1989). Los comportamientos de solicitud sexual son motivados (Agmo, 1999) y altamente variables dependiendo de las condiciones de la prueba (Paredes & Vázquez, 1999). Cuando la interacción sexual se observa en un área pequeña y abierta, como ocurre en condiciones de laboratorio tradicionales, los comportamientos proceptivos más comunes exhibidos por la hembra son saltos, corridas rápidas y movimiento de orejas (Erskine, 1989). Otro componente importante de la conducta sexual femenina, que permite a la hembra controlar el ritmo de estimulación coital recibida, es el acercamiento y alejamiento del macho, el cual es más comúnmente observado cuando hembras sexualmente receptivas interactúan en ambientes semi-naturales, complejos y de mayor tamaño (McClintock & Anisko, 1982).

Por otra parte, en la mayoría de los roedores, la postura de lordosis es utilizada como índice de receptividad sexual de las hembras y se asocia a los aspectos consumatorios del comportamiento sexual (Erskine, 1989). Así, la lordosis es una

respuesta refleja que ocurre en respuesta a la monta del macho y se caracteriza por el arqueado del dorso y la exposición de la región vaginal al mismo (Figura 3).

Figura 3 Comportamiento sexual. Hembra sexualmente activa exhibiendo una postura de lordosis en respuesta a la monta del macho.



El comportamiento sexual, al igual que el maternal es altamente motivado para las hembras (Pfaus et al., 2001). Sin embargo, la cópula para éstas tiene tanto componentes apetitivos, como aversivos, dependiendo de las condiciones en las cuales se desarrolle (Paredes & Vázquez, 1999). Así, las hembras aprenden a apretar una palanca para tener acceso a un macho sexualmente activo, aunque la latencia para apretarla depende la intensidad de la estimulación sexual que reciben; siendo menor después de una monta que de una intromisión y después de una intromisión que de una eyaculación (Bermant & Westbrook, 1966). En este sentido, las hembras sexualmente activas muestran conductas de rechazo del macho, que aumentan conforme se incrementa la duración de la interacción sexual (Bermant & Westbrook, 1966). Sin embargo, en condiciones de cópula controlada, cuando la hembra puede controlar la cantidad y frecuencia de montas/intromisiones que recibe, ésta se vuelve reforzadora en prueba de condicionamiento de preferencia al lugar (CPL), a diferencia de la cópula en condiciones no controladas por la hembra donde no se produce preferencia en CPL (Paredes & Alonso, 1997).

...A LA CO-EXPRESIÓN DE LA MOTIVACIÓN MATERNAL Y SEXUAL

La rata presenta un estro pos-parto fértil, generalmente en la noche del parto. Durante este breve período, las hembras exhiben comportamientos de solicitud sexual y lordosis frente a un macho y actividades de cuidado de las crías (Agrati et al., 2008, Gilbert et al., 1980; 1984; Figura 4), indicando que tanto el macho como las crías adquieren simultáneamente valor de incentivo. A pesar de la potencialidad del estro pos-parto como modelo para explorar la co-existencia de múltiples motivaciones, este período ha sido escasamente estudiado.

En nuestro laboratorio demostramos que el valor de incentivo relativo del macho y de las crías para madres sexualmente activas varía de acuerdo al estadio y la experiencia reproductiva previa. Así, mientras que hembras ciclantes sensibilizadas en estro invariablemente prefieren al macho, las madres en estro pos-parto ignoran al macho y tienden a exhibir preferencia por las crías, la cual aumenta con una experiencia reproductiva previa (Agrati, 2009; Agrati et al., 2008). Independientemente de la preferencia por el macho o las crías, la ejecución de los comportamientos sexual y maternal de estas hembras en presencia de uno solo de los estímulos no difiere, indicando que el valor de incentivo de un estímulo afecta el del otro sólo cuando ambos están presentes (Agrati, 2009).

Curiosamente, el valor afectivo de un macho adulto para una hembra cambia a lo largo de su ciclo reproductivo, de atractivo en el proestro tardío, incitando en la hembra solicitud sexual (Agmo, 1999), a aversivo durante la lactancia, provocando respuestas de agresión por parte de la misma (Mayer et al, 1987). El comportamiento sexual y la agresión maternal pueden considerarse como comportamientos antagónicos fuertemente motivados (Ferris et al., 2008; Lee et al., 2000; Pfaus et al., 2001), que comparten circuitos neuronales de control común (Newman, 1999). Ha sido propuesto que la expresión óptima de un comportamiento motivado requiere la inhibición de motivaciones competitivas (Numan, 2006; Numan & Insel, 2003). Sin embargo, en nuestro laboratorio se determinó que durante el estro pos-parto las hembras exhiben respuestas sexuales, tanto de solicitud como de lordosis, y ataques hacia un macho intruso en la caja materna, en un patrón conductual entremezclado (Agrati, 2009).

Figura 4 Co-expresión de los comportamientos sexual y maternal durante el estro posparto. Hembra en postura de lordosis ante la monta del macho, mientras sostiene a una cría en su boca.



La potencialidad de las hembras en estro pos-parto de expresar simultáneamente las motivaciones sexual y agresivo-maternal hacia un macho intruso, indica la co-activación de ambas motivaciones sin inhibición mutua; sin embargo se desconoce si esta expresión integrada de ambas motivaciones está controlada por procesos

neurales dependientes o independientes de las mismas. En este sentido, Cacioppo y colaboradores (1999), refiriéndose a las emociones, proponen que el proceso evaluativo que subyace al comportamiento, denominando así a las operaciones por las cuales los individuos discriminan estímulos peligrosos de aquellos que son atractivos, implica vías de procesamiento distintas, caracterizadas como positivas y negativas. Estas vías podrían activarse de manera dependiente o independiente de acuerdo al estímulo y las circunstancias, pudiendo un estímulo activar solo la vía positiva, solo la negativa o ambas vías. En esta última situación, un aumento de la positividad puede, por ejemplo, implicar una disminución de la negatividad, o alternatively, modificar la intensidad de la activación de la vía positiva puede no afectar el grado de activación de la vía negativa (Cacioppo et al., 1999). En este sentido, la co-expresión de solicitud sexual y agresión maternal durante el estro pos-parto, llevó a que me preguntara si modificar una de estas motivaciones afectaría o no la expresión de ambas. Así, un incremento de la motivación maternal podría aumentar la expresión de comportamientos ofensivos hacia el macho, sin necesariamente cambiar las respuestas sexuales hacia el mismo. A su vez, un aumento de la motivación maternal podría provocar la expresión conjunta de respuestas maternas hacia las crías y sexual/agresivas hacia el macho.

HIPÓTESIS

El aumento de la motivación maternal durante el estro pos-parto provoca un incremento de la agresión maternal hacia un macho intruso, sin afectar la solicitud sexual de las hembras hacia el mismo y la expresión simultánea de comportamiento maternal hacia las crías y sexual /agresivo hacia el macho.

OBJETIVO

Determinar el efecto del incremento de la motivación maternal, en la expresión del comportamiento maternal hacia las crías y del comportamiento sexual y la agresión maternal hacia un macho intruso de hembras en estro pos-parto.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales

Se utilizaron ratas hembras y machos de la cepa Wistar (*Rattus norvegicus*) de 3-5 meses de edad. Las ratas se alojaron en un cuarto con un ciclo de luz-oscuridad invertido 12/12 h y temperatura controlada (21 ± 1 °C), con acceso libre a agua y comida, en el Laboratorio de Experimentación Animal (LEA) de la Facultad de Ciencias.

Las hembras a preñar se alojaron con machos en la noche del proestro tardío y el día de la cópula se consideró como día 1 de gestación. El día 21 de gestación las ratas fueron alojadas de forma individual y a partir el día 23 se verificó la presencia de crías cada una hora. Una hora después de finalizado el parto, las camadas se igualaron a 8 crías (4 hembras y 4 machos) y once horas luego del inicio del mismo, las madres fueron trasladadas al cuarto experimental para un período de habituación de media hora previo al comienzo de la prueba. Todas las pruebas se realizaron 12 hs posparto para asegurar su máxima actividad sexual (Connor & Davis, 1980; observaciones propias). El Comité de Ética de la Facultad de Ciencias aprobó los protocolos realizados en este trabajo (número de protocolo CHEA 03-02-09).

Los machos que se utilizaron como estímulo sexual fueron entrenados con hembras ovariectomizadas a las cuales se les provocó el estro comportamental mediante tratamiento hormonal (benzoato de estradiol 8.0 ug/rata -24h y progesterona 2.0 mg/rata -5h, sc). Los machos seleccionados, fueron aquellos que presentaron latencias de eyaculación menores a 15 min por lo menos en las últimas cuatro sesiones de entrenamiento y no fueron utilizados por al menos cuatro días luego del último entrenamiento (Phillips-Farfán & Fernández-Guasti, 2007).

Prueba de macho intruso

Consiste en introducir un macho adulto sexualmente activo en la caja materna en la esquina opuesta al nido de la hembra y registrar durante 20 min las respuestas maternas, sexuales y agresivas de las hembras, así como las respuestas sexuales y de sumisión de los machos, como se detalla a continuación:

comportamiento maternal (Pereira & Ferreira, 2006): frecuencia de acarreos, arreglos (reacomodo de las crías a corta distancia), lamidos de las crías (corporal y anogenital) y construcción de nido, así como el tiempo de permanencia en el nido y la presencia/ausencia de amamantamiento. A su vez, en el grupo de estimulación maternal (*vide infra*) se registró la latencia al acarreo de la primera cría y a la reunión de toda la camada en el nido.

comportamiento sexual (Fernández-Guasti, et al., 1986; Pfaus et al., 1999; McClintock & Anisko, 1982): frecuencia de los comportamientos proceptivos de “hops & darts” (saltos cortos y rápidos ejecutados frente al macho) y solicitudes (la hembra enfrenta al macho y luego gira y se aleja corriendo en sentido contrario, incitando al macho a seguirla, generalmente terminando en un hop & dart) y de las respuestas receptivas de lordosis de las hembras, así como la latencia al primer comportamiento proceptivo y a la primera lordosis. A su vez, se registra la frecuencia de montas e intromisiones hasta la eyaculación y la latencia a la primera monta/intromisión y a la eyaculación de los machos.

agresión maternal (Ferreira et al., 2002; Mayer et al., 1990): frecuencia de posturas de ataque (la hembra enfrenta inmóvil al intruso, a veces vocalizando, con la cabeza cerca y orientada hacia el mismo), lances (se lanza brusca y rápidamente hacia el oponente pero no lo toca), ataques (se lanza repentinamente hacia el intruso, usualmente con la boca abierta, con contacto corporal), mordidas cuerpo/cabeza (generalmente seguidas por un movimiento rápido y repentino del intruso y vocalización audible del mismo), posturas laterales (se aproxima al intruso de costado usualmente empujándolo con la cadera) y patadas (en dirección del intruso con los miembros posteriores, frecuentemente asociadas a la postura lateral) realizadas por las hembras. Adicionalmente, determinamos la frecuencia y la duración total de las posturas de sumisión de los intrusos (apoyado sobre los miembros posteriores, con los miembros delanteros elevados), así como la latencia a la primera respuesta agresiva de la madre y la primera postura de sumisión del macho.

Para explorar la posible superposición y la relación temporal en la expresión de los comportamientos maternal, sexual y agresivo, cuantificamos en primer lugar la frecuencia de comportamientos simultáneos (ej. acarreo y ataque, acarreo y proceptiva/lordosis). A su vez, determinamos el número de transiciones

comportamentales, en menos de 5 segundos, entre los componentes motivacionales, iniciados por la hembra de los tres comportamientos (sexual: proceptivas y solicitudes; agresión: postura de ataque, ataque, lance, mordida, patada y postura lateral; y maternal: acarreo, lamido, re-arreglo y construcción de nido).

Las pruebas fueron registradas en video grabaciones y secuenciadas posteriormente utilizando el programa JWatcher (Blumstein & Daniel, 2007).

Protocolo experimental

Con el fin de determinar el efecto de un aumento de la motivación maternal en el comportamiento hacia las crías y hacia un macho intruso de hembras en estro pos-parto, analizamos el comportamiento de dos grupos de hembras primíparas en estro pos-parto en la prueba de macho intruso:

a. Estimulación Maternal, EM (n= 10). Madres a las cuales se les retiran las crías de la caja por un período de 10 min y se re-introducen dispersas en la esquina enfrentada al nido, simultáneamente a la introducción de un macho sexualmente activo en la esquina diagonal opuesta. Se utilizó una separación madre-crías de 10 min para aumentar la motivación maternal sobre la base de que esta manipulación promueve la expresión de los componentes motivacionales activos del comportamiento maternal (Pereira & Ferreira, 2006; Stern & Keer, 1999).

b. Control (n= 9). Madres a las cuales no se les manipula la camada previo a la introducción del macho sexualmente en la esquina opuesta al nido. Diez minutos antes del comienzo de la prueba, se levanta y baja la tapa de la caja de prueba, con el fin de provocar la una perturbación similar a la que ocurre en el grupo EM al quitar las crías. Se utiliza este grupo control, con el objetivo de promover la co-expresión del sexual-agresivo (Agrati, 2009), sin promover la expresión de los componentes activos del comportamiento maternal.

Análisis estadístico

Los datos son expresados como medianas (rango semi-intercuartiles, RSIQ) y se analizaron mediante pruebas no-paramétricas (Siegel & Castellan, 1988). El nivel de significancia escogido para las comparaciones estadísticas fue $p < 0.05$.

RESULTADOS

Comportamiento de la hembra

La estimulación del comportamiento maternal, no afectó la co-expresión del comportamiento sexual y la agresión maternal en las hembras. Además, las actividades de cuidado directo de las crías se co-expresaron con las respuestas sexuales y agresivas hacia el macho (Figura 5).

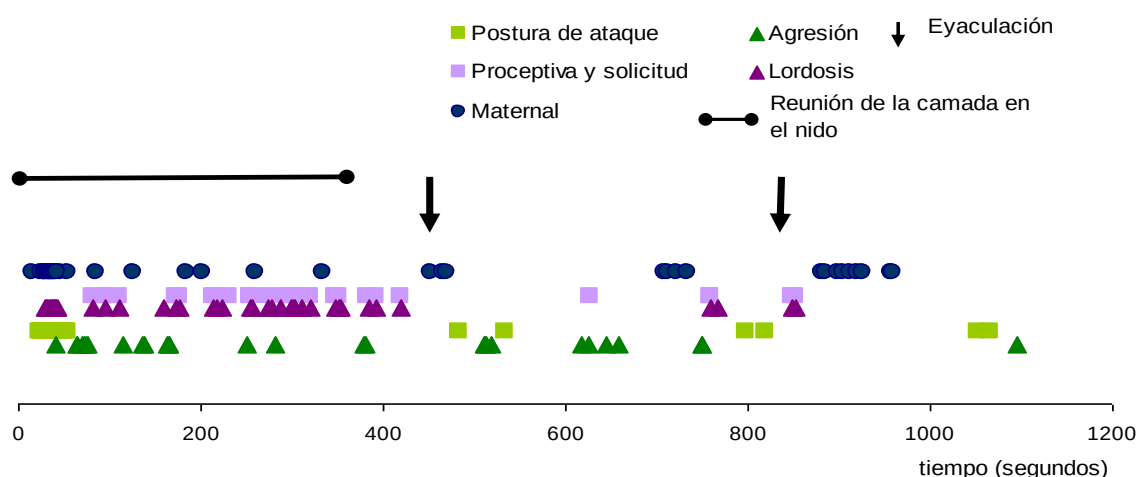


Figura 5 Co-expresión de los comportamientos maternal (azul), agresivo (verde), y sexual (violeta) a lo largo de la prueba (1200 segundos) de una hembra representativa de madres en estro pos-parto enfrentadas a un macho intruso en la caja materna, luego de estimular el comportamiento maternal. Con la flecha se indica la eyaculación y con la barra horizontal el tiempo que demora la hembra en reunir todas sus crías en el nido.

Así, las hembras estimuladas maternalmente comienzan la expresión de despliegues sexuales y agresivos hacia el macho, antes de culminar el acarreo de todas sus crías al nido (Tabla 1; latencia reunión de la camada en nido vs conducta proceptiva $T=8,0$ $p<0,05$; y vs. agresión $T=0,0$ $p<0,05$) y estas latencias no difirieron de las exhibidas por el grupo control (Tabla 1; proceptivas: $U=39,0$ $p=NS$ y agresivas: $U=40,0$ $p=NS$).

Tabla 1 Latencia a la expresión de los comportamientos maternal, sexual y agresivo y de hembras y del comportamiento sexual y la sumisión de los machos

latencias (seg)	♀			♂		
	proceptiva	agresión	reunión de la camada	monta	eyaculación	sumisión
estimulación maternal	147,3 (68,2)	64,2 (33,1)	409,1 (252,8)†	176,8 (71,0)	434,0 (39,0)	124,1 (33,8)
control	234,2 (100,8)	54,6 (35,2)	-----	209,4 (129,2)	754,4 (117,9)	92,0 (123,0)

Datos expresados en segundos como medianas (RSIQ); †p<0,05 vs proceptiva y agresión; prueba pareada de Wilcoxon.

Por otra parte, las hembras EM, incrementaron las respuestas ofensivas hacia el macho intruso en comparación con el grupo control (suma de componentes agresivos: EM vs control: 25,5 (5,3) vs 18,0 (5,0); U=15,0 p<0,05). En particular, las hembras EM exhibieron un marcado aumento de los componentes ofensivos de la agresión: posturas laterales en relación al control (Figura 6; U= 18,5; P<0,05).

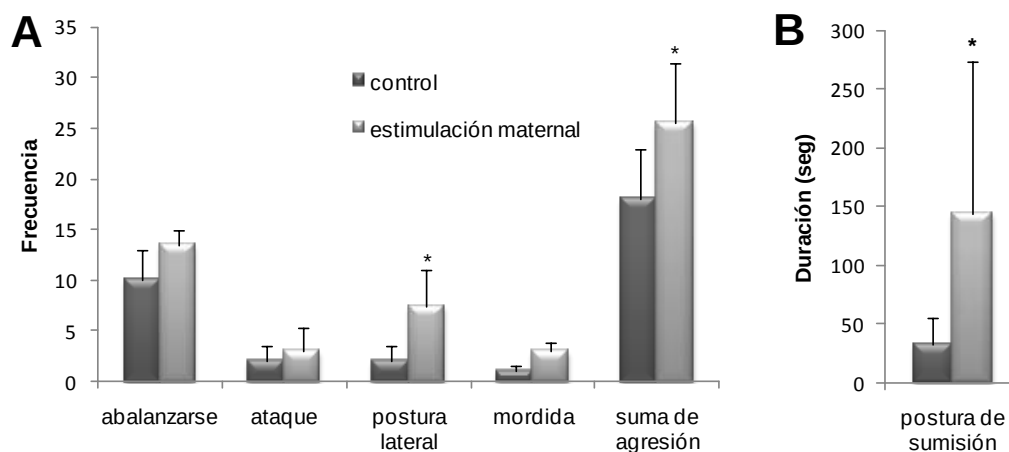


Figura 6 Frecuencia de conductas agresivas (lances, ataque, postura lateral, mordida) realizadas por las hembras (panel A) y duración de la postura de sumisión de los machos (panel B) durante la prueba sin (barras gris oscuro) y con (barras gris claro) estimulación maternal. Datos expresados como medianas (RSIQ). *p<0,05, Prueba U de Mann Whitney

Este claro aumento en la agresión maternal, no interfirió sin embargo con la motivación sexual ya que no se vieron afectadas ni las solicitudes sexuales ante los machos (EM vs control: 2,5 (1,4) vs 10,0 (2,0), U=22,0, p=NS), ni las conductas proceptivas (Figura 7A; proceptivas EM vs control U=37,0 p=NS) de las hembras con estimulación maternal en comparación a las no estimuladas.

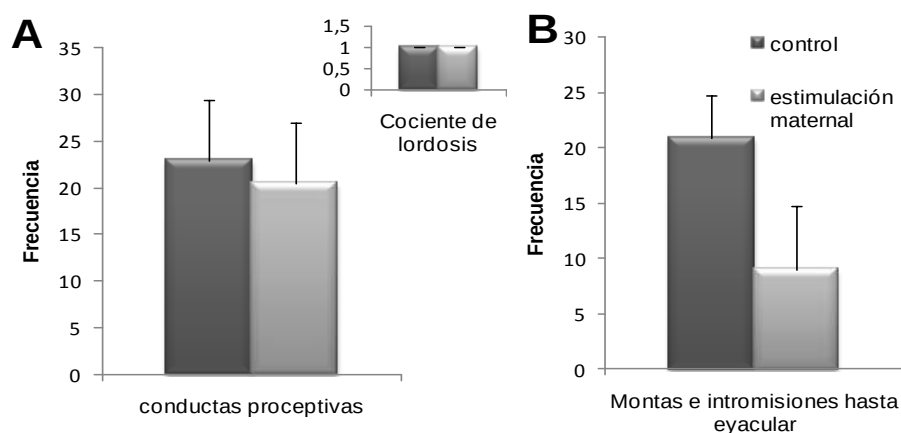


Figura 7 Frecuencia de conductas proceptivas realizadas por las hembras en estro pos-parto (panel A) y montas e intromisiones hasta eyacular de los machos (panel B) durante la prueba sin (barras gris oscuro) y con estimulación maternal (barras gris claro). El inserto muestra el cociente de lordosis para ambos grupos de hembras. Datos expresados como medianas (RSIQ). $p=NS$ en todas las comparaciones, Prueba U de Mann Whitney.

Acompañando el aumento de la agresión maternal, las transiciones entre componentes agresivos se vieron significativamente incrementadas en el grupo EM con respecto al control ($U=16,0$, $P<0,05$), sin modificar las transiciones dentro de las respuestas sexuales y maternas o entre los tres comportamientos (Tabla 2). En ambos grupos, las transiciones menos frecuentes fueron las maternal-sexuales, sugiriendo una menor relación temporal en la expresión de ambos comportamientos. Por otra parte, no se observó superposición u ocurrencia simultánea de comportamientos diferentes.

Tabla 2 Transiciones comportamentales entre componentes agresivos, sexuales y maternas

	a/a	s/s	m/m	sa/as	sm/ms	ma/am
estimulación maternal	14,5 (6,4)*†	4,0 (0,9)‡	3,5 (3,9)‡	5,0 (2,5)‡	0,0 (0,0)‡	2,0 (2,5)‡
control	5,0 (4,5)†	6,0 (4,0)†	3,0 (2,5)†	4,0 (2,0)†	0,0 (0,0)	1,0 (2,5)†

Abreviaciones: a=agresión; s=sexual; m=maternal. Datos expresados como medianas (RSIQ).

* $p<0.05$ vs grupo control prueba U de Mann Whitney y † $p<0.05$ vs sm/ms y ‡ $p<0.05$ vs a/a, prueba pareada de Wilcoxon

En cuanto a la conducta maternal, las hembras maternalmente estimuladas acarrearón a las crías, completando la reunión de toda la camada en el nido (Tabla 1). A pesar de este aumento de la conducta de acarreo, no se encontraron diferencias en otras actividades de cuidado activo de las crías entre las madres EM y el grupo control (Figura 8), ni en el tiempo de permanencia en el nido (EM vs control: 351,7 (198,0) vs 399,3 (184,2), $U=39,0$, $p=NS$). No se observó amamantamiento en ninguno de los grupos.

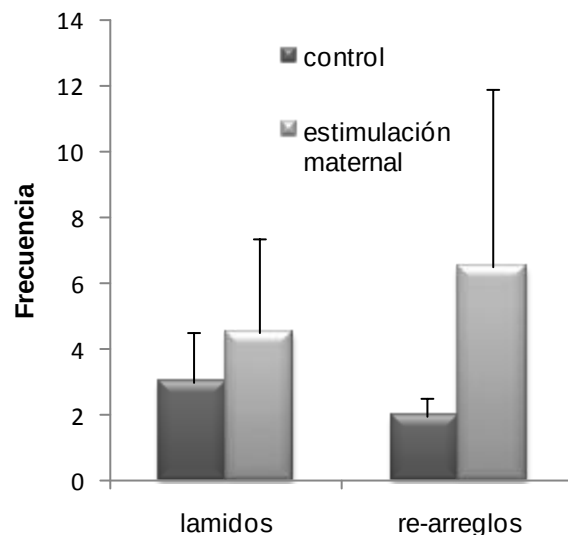


Figura 8 Frecuencia de, lamidos y re-arreglos realizados por las madres en las cuales no se promovió el comportamiento maternal (barra gris oscuro) y madres maternalmente estimuladas (barras gris claro). Datos expresados como medianas (RSIQ).

Comportamiento del macho

El macho desplegó comportamientos sexuales y de sumisión, en respuesta a las solicitudes sexuales y agresión de las hembras, respectivamente. Como respuesta al incremento de la agresión por parte de las hembras en las cuales la motivación maternal se vio incrementada, los machos exhibieron un tiempo significativamente mayor en postura de sumisión en relación a los machos del grupo control (Figura 6B, $U=18,0$ $p<0,05$).

Por otra parte, ni el número de machos que eyacularon (eyaculadores/no eyaculadores del grupo control 7/9 vs EM 7/10, $p=NS$ prueba exacta de Fisher), ni el número de montas e intromisiones necesarias para alcanzar la eyaculación (montas e intromisiones hasta eyacular EM: 14,0 (7,5) vs control: 19,0 (5,3), $U=18,0$ $p=NS$) difirieron entre ambos grupos. De igual forma, tampoco difirieron las latencias de monta y eyaculación entre los machos enfrentados a hembras EM y control (Tabla 1).

DISCUSIÓN

El presente trabajo muestra que las hembras en el contexto del estro pos-parto son capaces de co-expresar, en un patrón entremezclado, respuestas comportamentales fuertemente motivadas hacia diferentes individuos, como el macho y las crías. Así, las hembras cortejaron y atacaron al macho antes de reunir toda la camada en el nido, alternando los comportamientos motivados dirigidos a las crías, principalmente el acarreo, con los comportamientos sexuales y agresivos dirigidos hacia el macho. Estos resultados contrastan con los de Gilbert y colaboradores (1980), que han documentado que el tiempo que la madre permanece en el nido con las crías disminuye durante la serie copulatoria y que los cuidados maternos ocurren exclusivamente durante los intervalos pos-eyaculatorios; sugiriendo que la serie eyaculatoria funciona como una unidad comportamental con respecto al despliegue del comportamiento maternal. A su vez, en experimentos posteriores (1984), los autores reportan que la serie eyaculatoria no se ve afectada luego de estimular el comportamiento maternal por destrucción del nido, concluyendo que durante el estro posparto los comportamientos maternal y sexual no pueden ser expresados simultáneamente. Es posible que el arribo a estas conclusiones, que difieren de las obtenidas en nuestro laboratorio, se deba a las diferencias en las condiciones en las cuales se desarrollaron ambos experimentos. Así, Gilbert y colaboradores trabajaron en ambientes amplios y complejos (campo abierto con pasajes), donde la hembra se trasladaba lejos del nido para tener contacto con el macho y durante este alejamiento se desarrollaban las series de cópulas previas a la eyaculación, sin agresión maternal. Por otra parte, en este trabajo la interacción ocurre dentro de la caja materna, en donde la hembra se ve enfrentada a las crías y al macho en la cercanía del nido. Bajo estas condiciones ambientales que permiten el acceso igualitario a ambos estímulos, la hembra alterna entre comportamientos. En este sentido, el comportamiento de la hembra en estro pos-parto hacia el macho y las crías en la caja materna nos permite apreciar al comportamiento de la hembra como plástico y no conformado por unidades comportamentales que deben de ser completadas para poder iniciar otra (Afonso et al, 2007). Resulta interesante, cómo la hembra estando bajo un mismo perfil hormonal y frente a los mismos estímulos, se comporta diferente según el contexto ambiental en el que se encuentre. Así, durante el estro pos-parto, tiene la potencialidad de cortejar, copular y atacar al macho y cuidar de las crías cuando estas están presentes (presentes resultados); corteja y copula con el macho sin atacarlo cuando está lejos

del nido (Gilbert et al, 1980; 1984); o ignora al macho e incluso elige a las crías en una prueba de preferencia (Agrati et al, 2008; Agrati, 2009).

La estimulación del comportamiento maternal provoca un aumento de las respuestas ofensivas de las madres hacia los intrusos como lo son las posturas laterales (Lucion & Almeida, 1996), tanto en su frecuencia como en las transiciones rápidas entre las mismas, sin afectar la expresión de la mayoría de los componentes activos del comportamiento maternal, indicando que el aumento de la motivación maternal se refleja principalmente en un incremento de la agresión maternal. En este contexto, en el que se introduce un macho en la caja materna, el aumento de la agresión podría deberse, a su vez, al estrés causado por la introducción del intruso simultáneamente a las crías. Sin embargo ante la introducción del macho, la hembra no permanece inmóvil en el nido, sino que sale dirigiéndose hacia el macho y atacándolo. Por otra parte, el componente agresivo que aumenta es la postura lateral, clásicamente descrita como un componente característico ofensivo de la agresión maternal (Lucion & Almeida, 1996). En este sentido, la agresión maternal ha sido caracterizada como un tipo de agresión exhibida por las madres, que comprende tanto componentes ofensivos como defensivos (Lucion & Almeida, 1996). En esta situación, se podría interpretar también, que la agresión exhibida puede deberse a una defensa frente a la monta del macho; sin embargo la hembra lo ataca antes de que el macho la busque sexualmente y estos ataques ocurren antes o después de las solicitudes sexuales de la hembra, así como de las montas. La fuerte dependencia de la agresión maternal con la presencia de las crías (Mayer & Roseblatt, 1987), sumado a las características antes descritas del tipo de agresión observada, me da indicios de que la agresión observada es principalmente maternal.

De acuerdo con mi resultado, Pereira (2006) propuso que existe una fuerte participación de la motivación maternal en la expresión de la agresión de las madres ante machos intrusos. En este trabajo se demuestra que hembras vírgenes ovariectomizadas, sin tratamiento hormonal, expuestas continuamente a crías (procedimiento llamado sensibilización), presentan déficits en la agresión maternal respecto a la exhibida por las hembras lactantes. De igual forma, hembras lactantes tratadas con haloperidol, (antagonista del sistema dopaminérgico, implicado en procesos motivacionales y que inhibe los componentes activos del comportamiento maternal, Stern & Keer, 1999) también exhiben baja agresión en relación a madres tratadas con solución salina. De forma interesante, ambos tipos de madres aumentan

su agresión maternal a niveles similares a hembras lactantes control en presencia de crías demandantes (Pereira, 2006). Estas crías, que permanecen separadas de sus madres por 12 hs, poseen un valor de incentivo maternal mayor que las crías no-demandantes (Pereira & Ferreira, 2006). Esta reversión del déficit en la agresión hacia un macho intruso por la presencia de crías demandantes, en conjunto con mis resultados, indican que la agresión maternal depende fuertemente de la motivación maternal, siendo modulada por la misma.

Por otra parte, en contraste con el aumento de la agresión ofensiva hacia el macho intruso, la estimulación maternal no alteró la intensidad de las respuestas sexuales hacia el mismo, indicando que la motivación sexual no se ve afectada por el aumento de la motivación maternal. Este resultado sugiere que durante el estro pos-parto, a pesar de estar co-activadas, las motivaciones sexual y agresiva-maternal poseen regulación independiente.

El valor sexual-agresivo que posee el macho para la hembra, incentivando en ella la expresión de comportamientos considerados antagónicos, como los son la solicitud sexual y la agresión maternal, expone la naturaleza compleja y dinámica de la regulación de estas motivaciones. En este sentido, dos vías neurobiológicas han sido implicadas en el procesamiento de las emociones y motivaciones, una positiva y otra negativa (Cacioppo et al, 1999; Norris et al, 2010). Aunque se postula que la principal función del sistema afectivo es discriminar los estímulos “malos” de los “buenos” o los “apetitivos” de los “aversivos”, este sistema no tiene necesariamente una configuración bipolar, es decir, un aumento de la negatividad de un estímulo no implica una disminución de su positividad y viceversa (Norris et al, 2010). Por el contrario, la complejidad y la flexibilidad de las respuestas que se observan, sugieren que la estructura que subyace al sistema afectivo es plástica y capaz de procesar matices. Así, Norris y colaboradores (2010) proponen que ambas vías pueden co-activarse y que la co-activación se puede lograr de diferentes maneras, entre ellas, por la oscilación rápida entre la positividad y negatividad, ocasionando un estado emocional ambivalente que resulta de la experiencia simultánea de emociones positivas y negativas. Alternativamente, la ambivalencia se puede producir ante situaciones emocionales complejas, donde un mismo estímulo despierta en el individuo afectividad positiva y negativa al mismo tiempo. En esta situación, la respuesta más adaptativa no sería de carácter bipolar (aversivo/atractivo), sino una respuesta mas flexible frente al

mismo. Mi trabajo, al mostrar la habilidad de las madres de expresar simultáneamente dos motivaciones opuestas, pone en evidencia la co-activación de ambos procesos y sugiere que el sistema neural que subyace ambas motivaciones, procesa esta información de manera independiente, permitiéndole al individuo mayor plasticidad en sus respuestas comportamentales.

La teoría de procesamiento emocional/motivacional de Cacioppo y colaboradores (1999) conjunto con estos resultados refutan la teoría de que la expresión de un comportamiento motivado requiere la inhibición de motivaciones competitivas. Numan e Insel (2003) proponen la existencia de sistemas específicos para distintas motivaciones y sistemas motivacionales inespecíficos; cuando los sistemas inespecíficos están activos, aumenta la respuesta del individuo hacia un determinado rango de estímulos externos. Así, la respuesta activa y voluntaria de un individuo en un momento particular, estaría regulada por la interacción entre un sistema específico de motivación, como el maternal o el sexual, y sistemas inespecíficos. A su vez, el desarrollo de una motivación específica implicaría, de acuerdo a este modelo, la inhibición de motivaciones competitivas, ya que si ambas estuvieran activadas a la vez habría interferencia (Anselmo, 2007; Afonso et al., 2008; Numan & Insel, 2003). En base a esta teoría, Numan (2006) postula un circuito neuronal que vincula la expresión de la motivación maternal a la inhibición de sistemas motivacionales antagónicos y a la activación de sistemas motivacionales generales; siendo ciertas regiones hipotalámicas diferenciables responsables de los diferentes comportamientos motivados. De este modo, la activación del área pre óptica media anterior (APOMa), influiría específicamente en áreas de procesamiento sensorial, aumentando el valor de los estímulos de las crías relacionados a la motivación maternal (Numan; 2006). Sin embargo, de forma interesante estudios recientes muestran que APOMa es fundamental también en la motivación sexual de la hembra (Kato & Sakuma, 2000; Guarraci et al, 2004), por lo tanto las motivaciones maternal y sexual no solo compartirían circuitos motivacionales generales, como las proyecciones del Área Tegmental Ventral al Núcleo Accumbens, sino también áreas previamente catalogadas como específicas.

La considerable superposición que existe en los circuitos neurales hipotalámicos y límbicos que regulan estos comportamientos, dificulta entender cómo un mismo circuito promueve la expresión de distintas conductas. En este sentido, Newman

(1999) propone que la expresión de distintos comportamientos sociales, depende de la activación de las mismas áreas, pero en una configuración global específica y diferente para cada comportamiento. De forma alternativa, subregiones dentro de una misma área pueden participar de forma diferencial distintos comportamientos, como se sugiere para la regulación del comportamiento sexual y agresivo de ratas machos (Veening et al, 2005). Sería interesante determinar la activación de áreas implicadas en el control de ambas motivaciones durante la co-expresión de los comportamientos sexual y agresivo durante el estro pos-parto para comenzar a dilucidar esta interrogante. Finalmente, la alternancia entre componentes sexuales y agresivos-maternales y la selección de un determinado patrón conductual en un momento temporal específico, puede estar relacionada a la actividad de áreas de integración sensorio motora y selección de un determinado patrón conductual, como la corteza pre frontal que puede direccionar procesos atencionales (Dalley et al, 2004).

En resumen, este trabajo demuestra que las hembras en estro pos-parto tienen la potencialidad de expresar múltiples motivaciones hacia diferentes individuos, como las crías y el macho y que, si bien están co-activadas, la regulación de las mismas es independiente. La asunción de independencia en los procesos neuronales que subyacen estas motivaciones explica la respuesta de la hembra ante ambos estímulos, que lejos de ser una respuesta bizarra, constituye una salida comportamental adaptativa, sorprendentemente diversa y plástica. Este interesante repertorio conductual que muestran las madres durante este período particular, constituye un sustrato más que atractivo a estudiar, ya que permite explorar la naturaleza compleja y dinámica del comportamiento animal y de esta manera contribuir a desentrañar sus bases biológicas.

Este trabajo se realizó en el marco de un proyecto de iniciación a la investigación financiado por CISC titulado: ***Co-expresión de dos motivaciones -sexual y maternal- durante el estro posparto en la rata***, del cual soy responsable. A su vez, los datos obtenidos en esta pasantía forman parte de un manuscrito en preparación para su eventual publicación: ***Love and hate: the ambivalence of sexually active mother rats towards male intruders*** de autores Daniella Agrati, Alonso Fernández-Guasti, Marcela Ferreño y Annabel Ferreira.

REFERENCIAS

- Afonso VM, Grella SL, Chatterjee D, Fleming AS (2008). Previous maternal experience affects accumbal dopaminergic responses to pup-stimuli. *Brain Research* 1198: 115-123
- Afonso VM, Margarette S, Vedran L, Fleming AS (2007). Medial prefrontal cortex lesions in the female rat affect sexual and maternal behavior and their sequential organization. *Behav Neurosci* 121(3): 515-26.
- Agmo A (1999). Sexual motivation-an inquiry into events determining the occurrence of sexual behavior. *Behav Brain Res* 105(1):129-50.
- Agrati D. (2009). Cambios en la respuesta a estímulos aversivos y atractivos durante la maternidad en la rata. Tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas, opción Neurociencias, PEDECIBA-Biología, UdelAR.
- Agrati D, Fernández-Guasti A, Ferreira A (2008). The reproductive stage and experience of sexually receptive mothers alter their preference for pups or males. *Behav Neurosci* 122:998-1004.
- Bermant G, Westbrook WH (1966). Peripheral factors in the regulation of sexual contact by female rats. *Journal of Comparative Physiology and Psychology* 61: 244-250.
- Blumstein DT, Daniel JC (2007). Quantifying behavior the JWatcher way. *JH Editorial*.
- Cacioppo JT, Gardner WL, Berntson GG (1999). The affect system has parallel and integrative processing components. *Form follows function*. 76: 839-855.
- Connor JR, Davis HN (1980). Postpartum estrus in Norway rats. I. Behavior. *Biology of Reproduction* 23: 994-999
- Dalley JW, Cardinal RN, Robbins TW (2004). Prefrontal executive and cognitive functions in rodents: neural and neurochemical substrates. *Neuros and Biobehav*. 28: 771-784
- Erskine MS, Barfield RJ, Goldman BD (1978). Intraspecific fighting during late pregnancy and lactation in rats and effects of litter removal. *Behav Biol* 23: 206-213.
- Erskine MS, Barfield RJ, Goldman BD (1980). Postpartum aggression in rats: II. Dependence on maternal sensitivity to young and effects of experience with pregnancy and parturition. *J Comp Physiol Physiol* 94: 495-505.
- Erskine M, Kornberg E, Cherry J (1989). Paced copulation in rats: effects of intromission frequency and duration on luteal activation and estrus length. *Physiol Behav* 45: 33-39.
- Fernández-Guasti A, Larsson K, Beyer C (1986). GABAergic control of masculine sexual behavior. *Pharmacol Biochem Behav* 24: 1065-1070
- Ferreira A, Hoffman KL, Fernández-Guasti A (2007) La desregulación de circuitos neurales que regulan la motivación puede conducir al desarrollo del trastorno obsesivo compulsivo. *Manual Moderno* (ed). *Neurobiología del hedonismo*; 237-260.
- Ferreira A, Dahlöf LS, Hansen S (1987). Olfactory mechanisms in the control of maternal aggression, appetite, and fearfulness: effects of lesions to olfactory receptors, mediodorsal thalamic nucleus, and insular prefrontal cortex. *Behav Neurosci* 101: 709-717.
- Ferreira A, Hansen S, Nielsen M, Archer T, Minor BG (1989). Behavior of mother rats in conflict tests sensitive to antianxiety agents. *Behav Neurosci* 103: 193-201.
- Ferreira A, Pereira M, Agrati D, Uriarte N, Fernández-Guasti A (2002). Role of maternal behavior on aggression, fear and anxiety. *Physiol Behav* 77: 197-204.
- Ferris CF, Stolberg T, Kulkarni P, Murugavel M, Blanchard R, Blanchard DC, Febo M, Brevard M, Simon NG (2008). Imaging the neural circuitry and chemical control of aggressive motivation. *BMC Neurosci* 3:9-111.
- Fleming AS, Korsmit M, Deller M (1994). Rat pups are potent reinforcers to the maternal animal: effect of experience, parity, hormones, and dopamine function. *Psychobiology* 22: 44-53.

- Fleming AS, Luebke C (1981). Timidity prevents the nulliparous female from being a good mother. *Physiol Behav* 27: 863–868.
- Gilbert AN, Pelchat R, Adler NT (1980). Postpartum copulatory and maternal behaviour in Norway rats under seminatural conditions. *Animal Behav* 28: 989-995.
- Gilbert AN, Pelchat RJ, Adler NT (1984). Sexual and maternal behavior at the postpartum estrus: the role of the experience in time-sharing. *Animal Behav* 32:1045-1053.
- Guarraci FA, Megroz AB, Clark AS (2004). Paced mating behavior in the female rat following lesions of three regions responsive to vaginocervical stimulations. *Brain Research* 999: 40-52.
- Hård E, Hansen S (1985). Reduced fear behavior in the lactating rat. *Physiol Behav* 33: 641–643.
- Kato A, Sakuma Y (2000). Neuronal activity in female rat preoptic area associated with sexually motivated behavior. *Brain Research*. 862: 90-102
- Kinsley CH, Bridges RS (1990). Morphine treatment and reproductive condition alter olfactory preferences for pup and adult odors in female rats. *Dev Psychobiol* 23: 331-347.
- Kolonie JM, Stern JM (1990). Maternal aggression: disruption by perioral anesthesia in lactating Long-Evans rats (*Rattus norvegicus*). *Comp Psychol* 104: 352-360.
- Lee A, Clancy S, Fleming AS (2000). Mother rats bar-press for pups: effects of lesions of the mpoa and limbic sites on maternal behavior and operant responding for pup-reinforcement. *Behav Brain Res* 108(2):215-231.
- Mayer AD, Ahdieh HB, Rosenblatt J (1990). Effects of prolonged estrogen-progesterone treatment and hypophysectomy on the stimulation of short-latency maternal behavior and aggression in female rats. *Horm Behav* 24: 152-173.
- Mayer AD, Rosenblatt J (1987). Hormonal factors influence the onset of maternal aggression in laboratory rats. *Horm Behav* 21: 253-267.
- Mayer AD, Rosenblatt J (1984). Prepartum changes in maternal responsiveness and nest defense in *Rattus norvegicus*. *J Comp Psychol* 98: 177-188.
- McClintock M, Anisko, J (1982). Group mating among norway rats i. sex differences in the pattern and neuroendocrine consequences of copulation. *Animal behav* 30: 398-409.
- Numan M (2006). Hypothalamic Neural Circuits Regulating Maternal Responsiveness Toward Infants. *Behav Cogn Neurosci*. 5(4):163-90
- Numan M, Insel TR (2003). Motivational models of the onset and maintenance of maternal behavior and maternal aggression. In: G. Ball, J. Balthazart, J. Hopkins, R. Nelson (Eds), *The neurobiology of parental behavior*. Springer-Verlag, New York, pp. 69-106.
- Norris CJ, Gollan J, Berntson GG, Cacioppo JT (2010). The current status of Research on the structure of evaluative space. *Biological psychology*. 84: 422-436
- Orpen BG, Fleming AS (1987). Experience with pups sustains maternal responding in postpartum rats. *Physiology & Behavior* 40: 47-54
- Paredes RG, Alonso A (1997). Sexual behavior regulated (paced) by the female induces conditioned place preference. *Behav Neurosci* 111:123–128.
- Paredes RG, Vazquez B (1999). What o female rats like about sex? Paced mating. *Behavioural Brain Research*. 105: 117-127.
- Pereira M, (2006). Participación de la motivación maternal en el comportamiento de la rata durante la lactancia. Tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas, PEDECIBA, Área Biología, Subárea Fisiología.
- Pereira M, Ferreira A (2006). Demanding pups improve maternal behavioral impairments in sensitized and haloperidol-treated lactating female rats. *Behav Brain Res* 175(1):139-148.
- Pereira M, Seip K, Morrell J (2008). Maternal Motivation and Its Neural Substrate Across the Postpartum Period. *Neurobiology of the Parental Brain*, pp 39-59.

- Pereira M, Uriarte N, Agrati D, Zuluaga MJ, Ferreira A (2005). Motivational aspects of maternal anxiolysis in lactating rats. *Psychopharmacol* 180(2): 241-8.
- Pfaus J, Kippin T, Centeno S (2001). Conditioning and Sexual Behavior: A Review. *Hormon Behav* 40: 291–321.
- Phillips-Farfán BV, Fernández-Guasti A. (2007). Fos expression related to sexual satiety in the male rat forebrain. *Physiol Behav.* 15; 91(5):609-19.
- Rosenblatt JS (1967). Nonhormonal basis of maternal behavior in the rat. *Science* 156: 1512–1514.
- Rosenblatt JS (1975). Prepartum and postpartum regulation of maternal behaviour in the rat. *CIBA Found Symp* 33: 17–32.
- Salamone, J.D. (1991). The behavioral neurochemistry of motivation: methodological and conceptual issues in studies of the dynamic activity of nucleus accumbens dopamine. *Journal of Neuroscience Methods*, 64: 137-149.
- Salamone, J.D. y Correa, M. (2002). Motivational views of reinforcement: implications for understanding the behavioral functions of nucleus accumbens dopamine. *Behav Brain Res*, 137: 3-25.
- Siegel S, Castellan NJ (1988). *Nonparametric statistics for the behavioural sciences*. 2 ed, New York: McGraw-Hill
- Stern J, Keer S (1999). Maternal motivation of lactating rats is disrupted by low dosages of haloperidol. *Behavioural Brain Research* 99:231-239
- Veening JG, Coolen LM, De Jong TR, Joosten HW, Boer SF, Koolhaas JM, Oliver B (2005). Do similar neural systems subserve aggressive and sexual behaviour in male rats? Insights from c-Fos and pharmacological studies. *526: 226-239*