



TESINA PARA OPTAR POR EL GRADO DE LICENCIADA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

El Haloperidol promueve el sueño de ondas lentas en el
postparto de la rata

Br. Florencia Peña

Orientadora Dra. Luciana Benedetto.

Laboratorio de Neurobiología del Sueño,

Facultad de Medicina, Udelar

Julio, 2018

Índice

Agradecimientos.....	3
Resumen.....	4
1. Introducción.....	5
1.1. Sueño y vigilia.....	5
1.2. Comportamiento maternal.....	5
1.3. Sueño y postparto.....	6
1.4. Sistema dopaminérgico como regulador del sueño y el comportamiento maternal.....	7
1.4.1. Sistema dopaminérgico y comportamiento maternal.....	7
1.4.2. Sistema dopaminérgico y sueño.....	7
2. Justificación e hipótesis de trabajo.....	8
3. Objetivos.....	8
3.1. Objetivo general.....	8
3.2. Objetivos específicos.....	8
4. Métodos.....	9
4.1. Animales y su mantenimiento.....	9
4.2. Cirugía estereotáxica.....	9
4.3. Fármacos.....	9
4.4. Diseño experimental.....	9
4.5. Registro y análisis polisomnográfico.....	10
4.6. Análisis del comportamiento maternal.....	10
4.7. Análisis estadístico.....	11
5. Resultados.....	12
5.1. Efectos del haloperidol en el sueño y la vigilia.....	12
5.1.1. Tiempo total de registro.....	12
5.1.2. Análisis hora por hora.....	13
5.2. Efectos del haloperidol en el comportamiento maternal.....	17
5.3. Correlación entre el sueño y el peso de las crías.....	18
6. Discusión.....	19
6.1. Efectos sobre el sueño y la vigilia.....	19
6.2. Efectos sobre el comportamiento maternal.....	20
6.3. Correlación entre sueño y la eyección láctea.....	21
7. Conclusiones.....	22
8. Perspectivas.....	22
Referencias.....	23

Agradecimientos

Mi primer agradecimiento es sin lugar a dudas a mi familia, la cual siempre me apoyó, brindándome el soporte económico y afectivo para que pudiera cumplir todos mis sueños. Les estoy infinitamente agradecida.

A mis amigos, los cuales vivieron conmigo cada parte de este proceso, acompañándome desde el inicio, apoyándome en cada paso. Sin ellos, nunca podría haber logrado todo esto.

También estoy profundamente agradecida con el equipo de trabajo con el cual me tocó compartir. Le debo de corazón un mega gracias a todo el Laboratorio del Sueño.

En especial me gustaría agradecer a mi tutora, Luciana, por ser un referente en la ciencia y en la vida misma. Nuestra profesión es especial, uno aprende, crece y madura en el trabajo, pero también como persona ¡¡Mil gracias!!

Por último, me gustaría dar gracias a esos animales que dan la vida sin elección para que podamos avanzar en la ciencia.

Resumen

El sueño y la lactancia son procesos esenciales para la supervivencia del individuo y de su descendencia. Mientras que una de las principales funciones del sueño es la restauración de energía, la lactancia es una de las etapas más costosas energéticamente. Aunque las estrategias para conciliar ambos comportamientos varían entre las distintas especies de mamíferos, la hembra debe permanecer en un estado de vigilia tranquila o reposo para amamantar adecuadamente. En algunas especies, como la rata, se ha descrito que la eyección de leche es un evento asociado únicamente al sueño de ondas lentas (SWS), por lo que, si la rata se encuentra privada de sueño, la eyección no ocurre.

El sistema dopaminérgico es uno de los sistemas neurales que controlan tanto el sueño como el comportamiento maternal, por lo que cambios en el mismo puede generar alteraciones sobre ambos comportamientos. La inhibición de los receptores D2 con fármacos como el Haloperidol (HAL), disminuye algunos comportamientos maternales mientras facilita la eyección de leche en ratas madres. A su vez, promueve el SWS en ratas macho. Este fármaco es ampliamente utilizado a nivel clínico para tratar diversos trastornos psiquiátricos, como la esquizofrenia, el cual se implementa sin distinción de género, y, aún más importante, sin diferenciar sobre mujeres lactantes.

En el presente trabajo nos propusimos determinar los efectos del HAL sobre el sueño en ratas lactantes y analizar si dichos efectos están correlacionados con la eyección láctea. Para cumplir con este objetivo, se utilizaron ratas madres implantadas para registros polisomnográficos el día 1 postparto (PPD1). En el PPD-7-8 se realizaron las sesiones experimentales donde se separaron las crías de su madre durante cuatro horas y se inyectó a la madre con una dosis de HAL (0.4 mg/kg i.p.) o vehículo una hora previo a colocar las crías nuevamente en la caja materna. Se registró el sueño y la vigilia y, en forma simultánea, se registró el comportamiento maternal. A su vez, se utilizó el peso de las crías como medida indirecta de la eyección láctea.

Observamos un incremento del SWS en hembras lactantes al igual que lo que fue evidenciado en ratas macho, junto con un aumento del sueño ligero y del transicional al REM, lo cual no había sido previamente descrito. A su vez, y, a diferencia a lo encontrado en machos, el número de episodios de W y sueño NREM fueron mayores frente al tratamiento con HAL. Por otro lado, observamos un aumento del peso de las crías, lo que sugiere un incremento en la eyección de leche. No evidenciamos ninguna correlación entre el aumento de peso de las crías y el aumento de sueño en condiciones basales o con HAL,

Concluimos que el HAL promueve el SWS en ratas hembras lactantes y parecería aumentar la ciclicidad del sueño. Por otro lado, los datos sugieren que no existiría una relación entre el tiempo SWS y la eyección láctea.

1. Introducción

Tanto el sueño como la maternidad son comportamientos fundamentales para la supervivencia del individuo y la especie. Durante la lactancia existen múltiples cambios fisiológicos en la madre, tanto centrales como periféricos, que la hacen única en su fisiología (Pereira & Morrell, 2009; Bridges, 2008). Debido a que en la mayoría de las especies existe una privación o fragmentación del sueño durante la lactancia, deben existir mecanismos que permitan llevar a cabo ambos procesos sin que exista un riesgo para la fisiología del animal (Lyamin et al., 2007; Hunter et al., 2009). Por otro lado, el sistema dopaminérgico, mediante sus amplias proyecciones y receptores a lo largo del sistema nervioso central, interacciona con muchas de las áreas reguladoras de la vigilia y el sueño, así como de comportamientos motivados como lo es el comportamiento maternal (Torterolo et al., 2016; Stern & Taylor, 1991). El haloperidol (HAL) es un fármaco antipsicótico ampliamente utilizado a nivel clínico para tratar diversos desórdenes neuropsiquiátricos, implementándose sin distinción de género, y, aún más importante, sin diferenciar si son mujeres en período de lactancia. Es un antagonista dopaminérgico competitivo y su principal sitio de acción son los receptores dopaminérgicos de tipo D2 (Sahu, 2001). Uno de los efectos secundarios del HAL son el incremento del sueño, que aún no han sido determinados en hembras lactantes, a pesar de ser utilizado durante este periodo (Odhejo et al., 2017). Surge, por tanto, la necesidad de estudiar los efectos del HAL en el sueño durante la lactancia.

1.1. Sueño y vigilia

Mientras que la vigilia (W) puede ser considerada un estado de interacción óptima con el ambiente que se acompaña de conciencia del medio externo y de ciertos estímulos generados internamente (Torterolo & Vanini, 2010), el sueño puede ser definido como un estado de inmovilidad rápidamente reversible y de capacidad de respuesta sensorial reducida (Siegel, 2008). El sueño puede ser dividido en dos grandes etapas: el sueño de movimientos rápidos oculares (REM por su sigla en inglés) y el sueño no-REM (NREM). El sueño NREM, a su vez, puede ser subdividido en sueño ligero (SL) y sueño profundo o sueño de ondas lentas (SWS; Kryger et al., 2011).

Desde el punto de vista electroencefalográfico, la W se caracteriza por presentar actividad cortical desincronizada, de baja amplitud y alta frecuencia, junto con la presencia de actividad muscular (Siegel, 1990). Por otro lado, el sueño NREM se determina por un patrón electroencefalográfico sincrónico, con alta amplitud y baja frecuencia, acompañado de un tono muscular reducido, la temperatura y la actividad respiratoria levemente disminuidas y una reducción en la utilización de energía y en la actividad de la mayoría de las áreas cerebrales (Siegel, 1990). Por otro lado, el sueño REM, se caracteriza por una actividad cortical desincronizada, ausencia de actividad muscular (atonía), movimientos oculares rápidos de forma periódica (Siegel, 1990) y falta de regulación en la respiración, en la termorregulación (Kryger et al., 2011) y en la función cardiovascular (Reiner, 1986).

1.2. Comportamiento maternal

El comportamiento maternal se entiende como aquellas respuestas y comportamientos llevados a cabo por la madre que aumentan la probabilidad de que su descendencia llegue a la adultez (Numan, 1988). La expresión y el mantenimiento del comportamiento maternal requiere de múltiples procesos psicológicos y fisiológicos trabajando de forma sinérgica (Li, 2015). Durante el período postparto, la incidencia de desórdenes psiquiátricos es más alta que en otros momentos de la vida de la mujer (Babu et al., 2015; Odhejo et al., 2017), lo que podría llevar a un comportamiento maternal menos efectivo.

A pesar de las diferencias que existen en el comportamiento materno entre distintas especies de mamíferos, el amamantamiento o *nursing* es el comportamiento que, no solo nos define como mamíferos, sino que también es el comportamiento materno más conservado evolutivamente (Stern, 1989). Además de proveer nutrición y asegurar el crecimiento de las crías, este comportamiento también les brinda soporte afectivo (Harlow, 1967; Bell et al., 1974). La ausencia del contacto con la madre genera cambios fisiológicos y psicológicos en el desarrollo de las crías, a pesar de tener todas las necesidades fisiológicas cubiertas (Chatterjee et al., 2007; Faturi et al., 2010).

En la rata, el amamantamiento comienza con la estimulación por parte de las crías luego de que la madre se ubica sobre ellas, permitiéndoles comenzar a succionar. Esto genera una mayor quietud de la madre y que, frente a mayor estimulación, adopte posturas de amamantamiento como la denominada *quifosis*, una de las posturas más típicas. Finalmente, con mayor estimulación, se producen las eyecciones lácteas (Stern, 1996). Es posible cuantificar el volumen de eyección láctea de forma directa mediante bombas de presión intramamaria (Voloschin & Tramezzani, 1979; Lincoln et al., 1980) o de forma indirecta mediante el aumento de peso de las crías (Stern & Taylor, 1991).

1.3. Sueño y postparto

El periodo postparto en la rata es de aproximadamente tres semanas, etapa durante la cual las características del comportamiento materno se sincronizan con el desarrollo de las crías, pudiéndose subdividir como postparto temprano, postparto medio y postparto tardío (Cabbia, 2017). Particularmente, el postparto temprano es una etapa donde la mayoría de los comportamientos son iniciados por la madre (Cabbia, 2017), por lo que, durante este período, el cuidado materno es requerido por las crías de la rata a lo largo de todo el día (Ader & Grotta, 1970). Esto podría implicar en la madre una reorganización en las características del ciclo sueño-vigilia, así como de los circuitos que lo subyacen. Los trabajos sobre el sueño durante el postparto de la rata son escasos y no concluyentes, ya que hay evidencias que sugieren que la madre no estaría privada de sueño (Voloschin & Tramezzani, 1979) mientras que otras afirmarían que sí lo está (Sivadas et al., 2016). Por otro lado, se ha determinado que existe una mayor fragmentación del sueño en comparación con etapas fuera del período de lactancia (Sivadas et al., 2016).

La hembra duerme la mayor parte del tiempo que amamanta, específicamente en sueño NREM (Benedetto et al., 2017b). Existe una necesidad de preservar el SWS, a fin de generar una correcta lactancia, ya que distintos grupos de investigación han descrito que la eyección láctea en ratas únicamente ocurre en presencia de SWS, es decir, no ocurre si la hembra está en vigilia o sueño REM, a pesar de estar presente el estímulo de las crías (Lincoln et al., 1980; Voloschin & Tramezzani, 1979; Sutherland et al., 1987). A su vez, una privación de sueño, mediante *gentle handling*, se ha descrito que inhibe la eyección láctea (Voloschin & Tramezzani, 1979). Por lo que, como será descrito con mayor detalle, surge el cuestionamiento de si los efectos de algunos fármacos sobre el sueño tienen alguna relación con los cambios que generan sobre el amamantamiento de las crías y la eyección láctea.

1.4. Sistema dopaminérgico como regulador del sueño y el comportamiento maternal

Los circuitos dopaminérgicos juegan un rol fundamental en los comportamientos motivados (Kelley et al., 2005) como el comportamiento maternal (Numan & Stolzenberg, 2009). A su vez, son críticos en la regulación del ciclo sueño-vigilia (Monti & Monti, 2007).

Como breve reseña anatómica, las neuronas dopaminérgicas están mayoritariamente ubicadas en el área retrorubral, en la sustancia nigra y el área tegmental ventral (VTA), formando las cuatro vías principales, mesolímbica, mesocortical, nigroestriatal y tuberoinfundibular. La dopamina (DA) activa receptores metabotrópicos acoplados a proteínas G, de los cuales existen dos grandes familias: D1 y D2. Los receptores de tipo D1, incluyen los D1 y los D5, son excitatorios y se encuentran exclusivamente de forma postsináptica; mientras que los de tipo D2 incluyen los D2-D4, son inhibitorios y se encuentran tanto de forma pre como postsináptica (Monti et al., 2016). Debido a los objetivos de este trabajo, es necesario señalar que los receptores de tipo D2 se encuentran en áreas tanto centrales como periféricas, relacionadas tanto con el comportamiento maternal como con el sueño y la vigilia, como el núcleo accumbens y el área preóptica del hipotálamo (Champagne et al., 2004; Monti & Jantos, 2008; Pedersen et al., 1994), así como también con los ejes endócrinos que regulan la síntesis y eyección de leche (Ishida et al., 2013).

1.4.1. Sistema dopaminérgico y comportamiento maternal

Como se comentó previamente, la DA es un neurotransmisor asociado con la motivación en el comportamiento maternal (Numan & Stolzenberg, 2009). El área preóptica media (mPOA), así como sus conexiones con el sistema mesocorticolímbico, son esenciales para el desarrollo de aspectos motivacionales del comportamiento maternal en la rata (Stolzenberg & Numan, 2011). En este sentido, está bien establecido que la DA estimula las respuestas de cuidados maternos activas (Champagne et al., 2004), mientras que su inhibición resulta en una disminución de las mismas (Numan et al., 2005). Específicamente, la inhibición de los receptores D2 mediante antagonistas, como el HAL, disminuye los comportamientos activos (como el acarreo y el lamido de las crías), mientras que aumenta el tiempo de amamantamiento y la eyección láctea (Stern & Taylor, 1991; Giordano et al., 1990).

1.4.2. Sistema dopaminérgico y sueño

Los circuitos dopaminérgicos tienen un rol importante también en la regulación del sueño y la vigilia, formando parte del sistema reticular activador ascendente (Torterolo et al., 2016). Se ha evidenciado que existe una interacción recíproca entre las neuronas dopaminérgicas del VTA y otras áreas críticas para la generación del sueño REM y la W, como el locus coeruleus y el núcleo dorsal del rafe, entre otros (Torterolo et al., 2016). Las neuronas dopaminérgicas del VTA no cambian su tasa de disparo a través del ciclo sueño-vigilia, pero sí cambian su patrón temporal, existiendo durante la W un aumento de los trenes de potenciales, provocando un aumento de la liberación de DA (Torterolo et al., 2016).

La administración sistémica de un antagonista D2 en ratas macho adultas produce efectos bifásicos. A dosis bajas de HAL (0,020-0,040 mg/kg i.p.) se observa una disminución en el tiempo en SWS, mientras que frente a dosis mayores (0,080 – 0,160 mg/kg i.p.) se observa el efecto opuesto, (Monti et al., 1988).

2. Justificación e hipótesis de trabajo

El haloperidol (HAL) es un fármaco antipsicótico ampliamente utilizado a nivel clínico para tratar diversos desórdenes neuropsiquiátricos. Uno de los efectos secundarios del HAL es su efecto somnogénico. A pesar de los cambios anátomo-funcionales del cerebro de la madre durante el período de lactancia, este fármaco es utilizado sin distinción de género, y, aún más importante, sin diferenciar si son mujeres en período de lactancia. Sin embargo, aún no han sido determinados sus efectos en hembras lactantes. Por lo tanto, una de las incógnitas que surge es si los fármacos que incrementan el sueño NREM en animales no-lactantes tienen los mismos efectos en hembras en período de lactancia. Surge, por tanto, la necesidad de estudiar los efectos del HAL en el sueño durante este periodo.

A su vez, se ha descrito que el SWS es esencial para la eyección láctea en ratas madre, por lo que incrementos del mismo podrían afectar la eyección, cuestionándonos si los efectos somnogénicos producidos por el HAL están correlacionados con la eyección láctea.

Por lo tanto, nuestra hipótesis de trabajo es que el HAL promueve el SWS en las ratas lactantes. Existe una correlación positiva entre el SWS y la eyección láctea, que se hace más evidente al incrementar el SWS farmacológicamente.

3. Objetivos

3.1. Objetivo general

Determinar los efectos del HAL sobre el ciclo sueño-vigilia en la primera semana postparto de ratas lactantes, buscando evidenciar si existe una correlación entre el SWS y la eyección láctea al incrementar el SWS farmacológicamente.

3.2. Objetivos específicos

- a. Determinar el efecto del HAL sobre la frecuencia y duración de las distintas etapas del sueño en ratas lactantes.
- b. Replicar los efectos de la administración de HAL en: la reunión de toda la camada, el tiempo de amamantamiento y la eyección láctea de ratas lactantes.
- c. Determinar si existe una correlación entre el SWS y la eyección láctea.

4. Métodos

4.1. Animales y su mantenimiento

Para este estudio se utilizaron 8 ratas hembras de la cepa Wistar (250–320 g) primíparas junto a sus crías. Todos los procedimientos se llevaron a cabo en estricta concordancia con la “Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio” (National Academy of Science, 2011) y el protocolo fue aprobado por la Comisión Honoraria de Experimentación Animal (CHEA) (Nº 070153-000097-17).

Los animales se alojaron en una habitación con temperatura controlada ($22 \pm 1^\circ\text{C}$) bajo un ciclo de luz/oscuridad de 12 hs (encendido de luces a las 6.00 am), con acceso a la comida y agua *ad libitum*. Dos días previos al parto, las hembras se colocaron en cajas transparentes individuales (caja maternal; 40 cm x 30 cm x 20 cm). En el día 1 postparto (PPD1, parto = día 0), se igualaron a ochocrías por madre (cuatro hembras y cuatro machos). El dispositivo en el cual se llevó a cabo la serie experimental es una caja compuesta por unajaula de Faraday y material que aíslaacústicamente. Dentro de la caja de registre se coloca la caja materna, en la cual el animal puede moverse libremente.

4.2. Cirugía estereotáxica

En la mañana del PPD1, las hembras fueron anestesiadas con una mezcla de ketamina/xilacina/acepromacina (80/2.8/2.0 mg/kg i.p.). Luego se las colocó en el aparato estereotáxico y se expuso la calota. Posteriormente, se realizaron las medidas de Bregma y se calcularon las coordenadas correspondientes para los sitios blancos (Paxinos & Watson, 2005). Estas hembras fueron implantadas para registro de electroencefalograma (EEG) con cuatro electrodos, los cuales son cuatro tornillos colocados en el cráneo (Frontal: AP= +3, L= +2; Parietal anterior: AP=-4, L=+3; Parietal posterior: AP=-7, L= +3; Cerebelo: AP=-11, L=0). Además, se colocaron dos tornillos como anclaje y se implantaron dos electrodos en los músculos de la nuca para registro de electromiograma (EMG). Todos los electrodos fueron soldados a un conector, que fue fijado al cráneo mediante acrílico dental. Luego de la cirugía, a las ratas se les administró antibióticos (penicilina 50000 UI i.p.), analgésicos (ketoprofeno 1 mg/kg s.c.) y suero fisiológico (3 ml s.c.).

4.3. Fármacos

Haloperidol 5 mg/ml (Fármaco Uruguayo). Una vez abierta la ampolla, ésta fue alicuotada y mantenida a 4°C .

4.4. Diseño experimental

La serie experimental se realizó durante el postparto temprano debido a que es la etapa donde la mayoría de los comportamientos son iniciados por la madre (Cabbia, 2017). Luego de cinco días de recuperación de la cirugía, los experimentos fueron realizados entre PPD7-8, donde se realizó la inyección de HAL o vehículo (agua destilada) i.p. en días independientes en forma contrabalanceada en un mismo animal.

Como se muestra en la Figura 1, en cada sesión experimental se separaron las crías de su madre a las 9:00 am por cuatro horas. Durante la separación, las crías fueron colocadas bajo una lámpara que emite calor en una caja con el mismo material utilizado en la caja materna para formar el nido. Las crías son separadas de su madre por cuatro horas con el fin de: incrementar la motivación de la madre por las crías, incrementar el hambre en las crías y aumentar la cantidad de leche almacenada en las mamas de la madre (Pereira & Ferreira, 2006). Luego de tres horas de separación, y una hora antes de colocar las crías nuevamente

en la caja materna, se inyectó a la madre con HAL (0.4 mg/ kg i.p.) o vehículo (i.p.). Luego de transcurridas las cuatro horas de separación, las crías fueron colocadas en la caja materna, en el área opuesta al nido y, paralelamente, se inició el registro polisomnográfico y de video por cuatro horas. Las crías fueron pesadas inmediatamente antes de iniciar el registro y al finalizar las sesiones experimentales. Al finalizar los experimentos, se sacrificó a la hembra y a las crías mediante sobredosis de anestésicos.

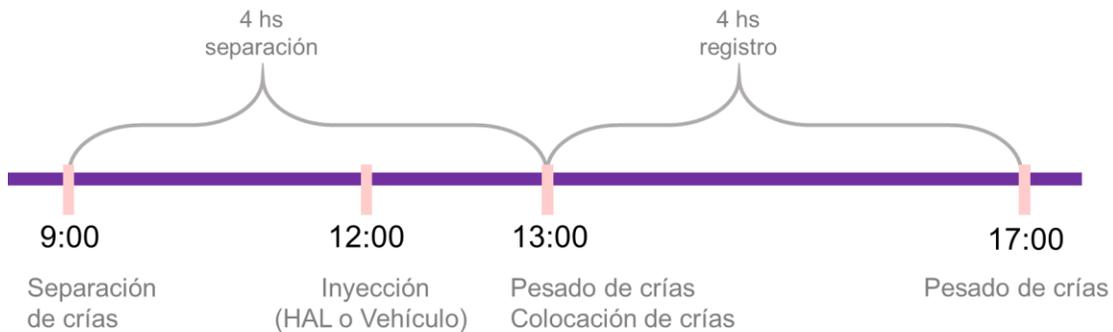


Figura 1. Esquema del protocolo experimental

4.5. Registro y análisis polisomnográfico

La señal fue amplificada (x1000), filtrada (filtro pasa alto 0.1 Hz, filtro pasa bajo 500 Hz y suprime banda a50 Hz), muestreada (1020 Hz, 16 bits) y adquirida en una PC utilizando el software Spike 2 (Cambridge Electronic Design). Además del sistema de registro polisomnográfico, el dispositivo contó con dos cámaras web para el registro comportamental.

Los estados de W y sueño se determinaron en épocas de 5 segundos como: W, SL, SWS, estado transicional al REM (IS) y REM en forma estándar (Benedetto et al., 2013; Benedetto et al., 2017a). Se analizó el tiempo total y cada hora individualmente, en cada estado y en el sueño NREM (LS + SWS) y sueño total (TST, NREM + IS). También se calculó la duración y el número de episodios de cada estado durante las cuatro horas. A su vez, se analizaron las latencias al sueño NREM y REM desde que se colocan las crías en la caja materna.

4.6. Análisis del comportamiento maternal

A partir de los videos registrados, se analizó el comportamiento maternal a partir de que se colocaron las crías en la caja materna por cuatro horas.

Una vez colocadas las crías en la caja materna, de forma dispersa y contraria al nido, y se registra el tiempo demora la madre en acarrear a toda la camada al nido (latencia a la reunión de toda la camada: RTC). Si este tiempo es mayor a cinco minutos, el investigador coloca a las crías debajo de la hembra lactante y se asume que la latencia fue de 300 segundos (Giordano et al., 1990). También se calculó la latencia al inicio del amamantamiento, el tiempo total y en cada hora que permanece amamantando (*nursing*); el número y duración de los episodios de amamantamiento.

Asimismo, como medida indirecta de la eyección láctea (Stern & Keer, 1999), se utilizó el aumento del peso de las crías, a fin de evitar métodos invasivos en la madre que pudieran generar estrés y alterar el sueño, como por ejemplo la medición de presión intramamaria (Lincoln et al., 1980). El peso de las crías se expresó como el porcentaje de ganancia de peso total de la camada: $(\text{Peso final (g)} - \text{Peso inicial (g)}) \times 100 / \text{Peso inicial (g)}$.

Este protocolo se basa en protocolos utilizados en nuestro laboratorio (Benedetto et al., 2017a) y en experimentos realizados por (Stern & Keer, 1999).

4.7. Análisis estadístico

Se evaluó si los datos seguían una distribución normal (Test de Kolmogorov-Smirnov). Si los datos seguían una distribución normal, se realizó un Test de Student de medidas pareadas. Se expresaron los datos como medias \pm error. Para evaluar las correlaciones se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson.

5. Resultados

5.1. Efectos del haloperidol en el sueño y la vigilia

5.1.1 Tiempo total de registro

En la Figura 2 y Tabla 1 se pueden observar los efectos de la administración de HAL (0,4 mg/kg i.p.) y vehículo sobre los parámetros de sueño y W durante las cuatro horas de registro.

El tiempo total de W fue significativamente menor luego de la administración del HAL en comparación con el control (Figura 2 y Tabla 1). En particular, luego de la inyección de HAL se observó un aumento en el número de episodios de W junto con una disminución de la duración de cada episodio (Tabla 1). Luego de la administración de HAL, aumentó significativamente el tiempo total de LS y de SWS en comparación con el vehículo, junto con un incremento del número de episodios de ambos estados (Tabla 1). La latencia al sueño NREM disminuyó de forma significativa frente a la inyección de HAL con respecto al control (ver Tabla 1).

En relación al IS, se observó un aumento significativo del tiempo total y del número de episodios luego de la administración de HAL en comparación con el grupo control (Figura 2 y Tabla 1). Por último, no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los parámetros estudiados del sueño REM (Tabla 1).

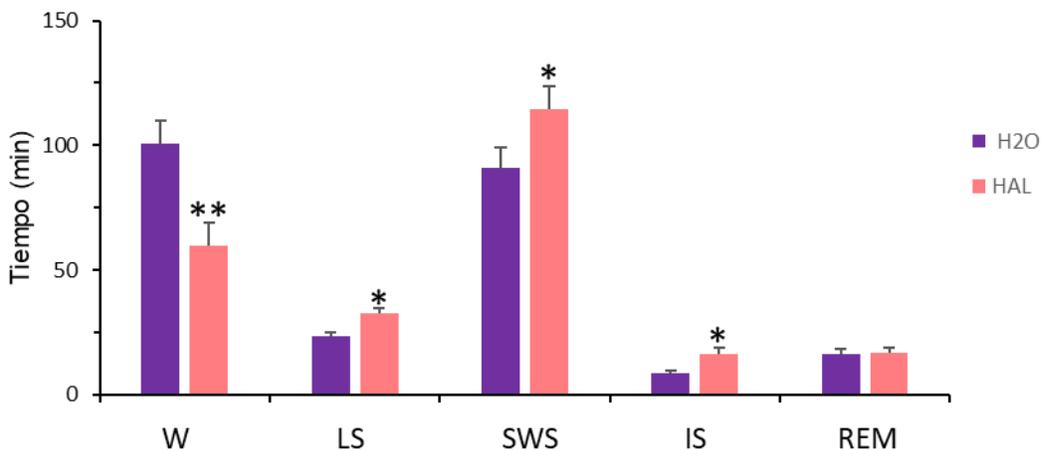


Figura 2. Tiempo total de sueño y vigilia en las cuatro horas de registro. Las gráficas muestran el tiempo total en vigilia (W), sueño ligero (LS), sueño lento (SWS), transicional al Rem (IS) y REM en las cuatro horas de registro luego de la administración de haloperidol (HAL) y agua destilada. La diferencia entre los grupos fue determinada utilizando un t-student de muestras pareadas. Los asteriscos indican las diferencias significativas en comparación con el control (N=8; * p < 0,05; ** p < 0,01).

Tabla 1. Efectos de la inyección de haloperidol (HAL) en los parámetros de sueño y vigilia en el tiempo total de registro

	H2O	HAL	T-Student	
			t	P
Vigilia (W)				
Duración total (mins)	100.74 ± 9.22	59.95 ± 8.93	5.520	0.001
Número de episodios	130.25 ± 4.91	168.38 ± 11.31	2.908	0.023
Duración de cada episodio (mins)	0.78 ± 0.07	0.35 ± 0.04	9.044	0.000
Sueño ligero (LS)				
Duración total (mins)	23.30 ± 1.76	32.56 ± 2.10	3.455	0.011
Número de episodios	171.63 ± 9.03	240.75 ± 18.73	3.206	0.015
Duración de cada episodio (mins)	0.14 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.621	0.554
Sueño de ondas lentas (SWS)				
Duración total (mins)	90.84 ± 8.31	114.64 ± 8.90	3.528	0.010
Número de episodios	137.38 ± 6.71	210.13 ± 14.63	4.641	0.002
Duración de cada episodio (mins)	0.67 ± 0.08	0.57 ± 0.06	1.082	0.315
Estado transicional (IS)				
Duración total (mins)	8.60 ± 0.99	16.16 ± 2.65	3.520	0.010
Número de episodios	26.63 ± 2.99	50.38 ± 7.35	3.082	0.018
Duración de cada episodio (mins)	0.33 ± 0.02	0.33 ± 0.05	0.053	0.960
REM				
Duración total (mins)	16.51 ± 1.97	16.70 ± 1.93	0.055	0.958
Número de episodios	17.63 ± 2.25	26.63 ± 4.34	1.611	0.151
Duración de cada episodio (mins)	0.97 ± 0.09	0.68 ± 0.08	2.293	0.056
Tiempo total de sueño (mins)	139.26 ± 9.22	180.05 ± 8.93	5.512	0.001
Latencia NREM (mins)	9.14 ± 1.75	4.91 ± 0.70	2.979	0.021
Latencia REM (mins)	57.44 ± 10.16	57.21 ± 6.09	0.016	0.987

Los datos se presentan como el promedio ± el error estándar (n = 8). Las diferencias significativas fueron evaluadas utilizando un t-student para muestras pareadas.

5.1.2 Análisis hora por hora

Vigilia

Al analizar cada hora del registro individualmente, se evidenció que el tiempo en W fue significativamente menor frente a la administración de HAL en comparación con el control en las cuatro horas (1^{er} hora: t = 4.564, p = 0.003; 2^{da} hora: t = 3.876, p = 0.006; 3^{er} hora: t = 2.814, p = 0.026; 4^{ta} hora: t = 2.859, p = 0.024); Figura. 3).

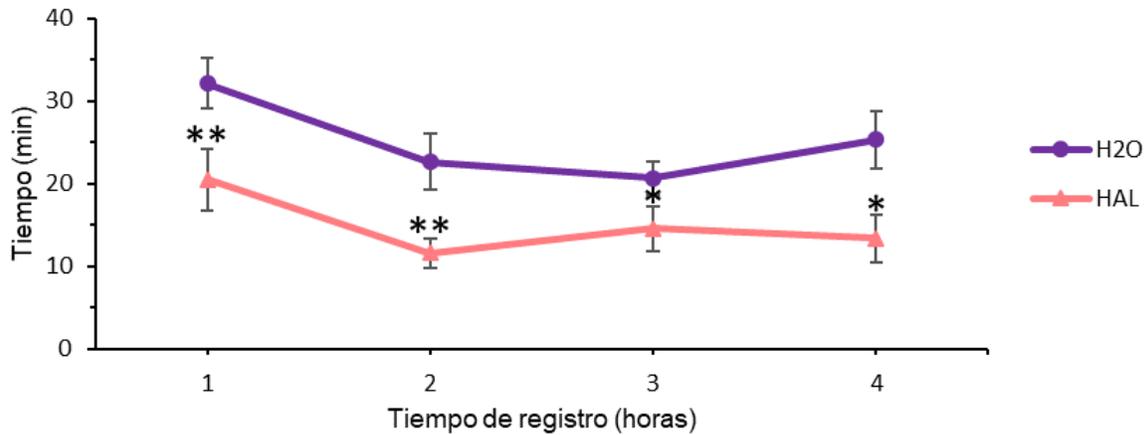


Figura 3. Tiempo en vigilia en cada hora de registro. Las gráficas muestran la vigilia hora a hora luego de la administración de haloperidol (HAL) y agua destilada (H₂O). La diferencia entre los grupos fue determinada por un t-student. Los asteriscos indican las diferencias significativas en comparación con el control (* p < 0.05; ** p < 0.01).

Sueño ligero

Como se observa en la Figura 4, el tiempo en LS fue significativamente mayor en las primeras dos horas luego de la administración de HAL en comparación al vehículo (1^{ra} hora: t = 2.592, p = 0.036; 2^{da} hora: t = 2.721, p = 0.030) sin encontrar diferencias significativas en la tercer (t = 1.853, p = 0.106) y cuarta hora (t = 1.461, p = 0.188).

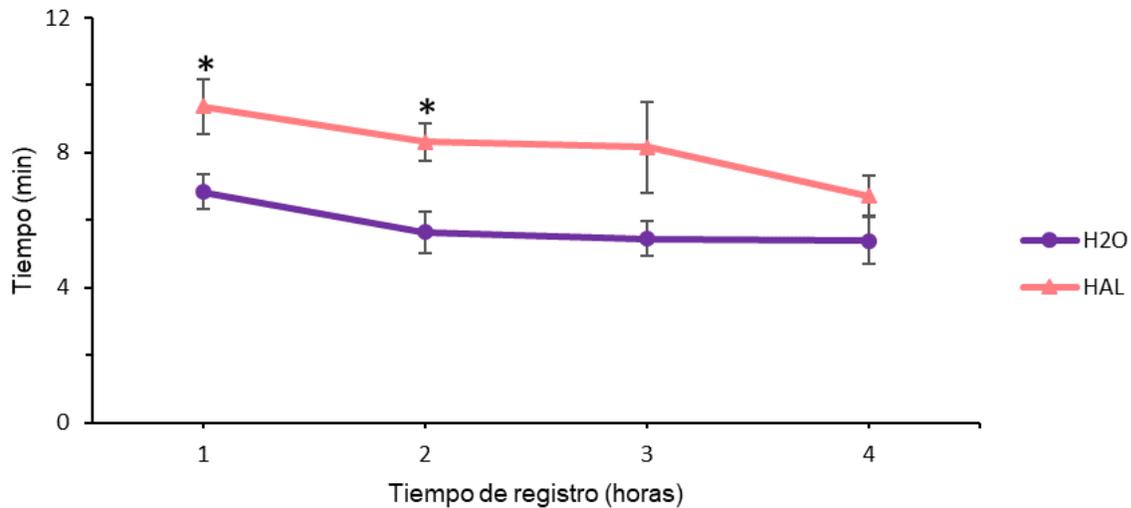


Figura 4. Tiempo en sueño ligero en cada hora de registro. Las gráficas muestran el sueño ligero hora a hora luego de la administración de haloperidol (HAL) y agua destilada (H₂O). La diferencia entre los grupos fue determinada utilizando un t-student para muestras pareadas. Los asteriscos indican las diferencias significativas en comparación con el control (* p < 0.05).

Sueño de ondas lentas

Como se muestra en la Figura 5, se encontraron diferencias significativas en el tiempo en SWS luego de la inyección del fármaco con respecto al control al realizar el análisis de cada hora del registro individualmente. En las primeras dos horas, el tiempo en SWS fue significativamente mayor luego de la inyección de HAL en comparación con el vehículo (1^{er} hora: $t = 2.810$, $p = 0.026$; 2^{da} hora: $t = 3.135$, $p = 0.017$). Durante la tercer hubo una tendencia a ser mayor el tiempo en SWS con HAL ($t = 2.077$, $p = 0.076$) mientras que, en la cuarta hora, los tiempos en SWS no difirieron significativamente ($t = 1.889$, $p = 0.101$).

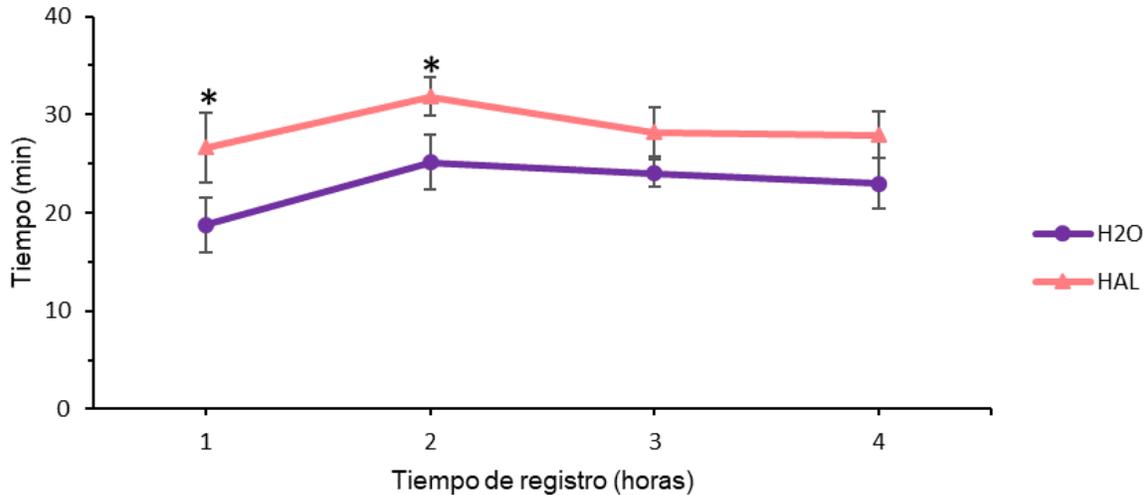


Figura 5. Tiempo en sueño de ondas lentas en cada hora de registro. Las gráficas muestran el sueño de ondas lentas hora a hora luego de la administración de haloperidol (HAL) y agua destilada (H₂O). La diferencia entre los grupos fue determinada por un t-student. Los asteriscos indican las diferencias significativas en comparación con el control (* $p < 0.05$).

Sueño transicional al REM

El tiempo en IS fue significativamente mayor durante las primeras dos horas y la cuarta hora luego de la administración del HAL con respecto al control (1^{ra} hora: $t = 2.386$, $p = 0.048$; 2^{da} hora: $t = 3.355$, $p = 0.012$; 4^{ta} hora: $t = 2.726$, $p = 0.030$). Durante la tercera hora, los tiempos no variaron significativamente entre ambos grupos ($t = 1.997$, $p = 0.086$; Figura 6).

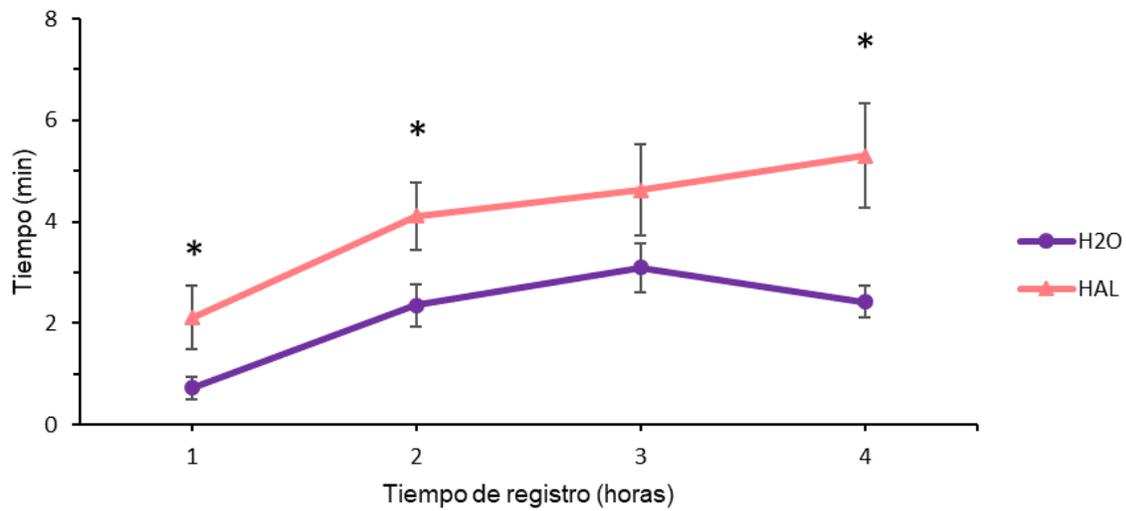


Figura 6. Tiempo en estado transicional al REM en cada hora de registro. Las gráficas muestran el estado transicional al REM hora a hora luego de la administración de haloperidol (HAL) y agua destilada (H₂O). La diferencia entre los grupos fue determinada mediante un t-student pareado. Los asteriscos indican las diferencias significativas en comparación con el control (* p < 0.05).

Sueño REM

No se observaron diferencias significativas en el tiempo en REM en ninguna de las horas estudiadas individualmente. Sin embargo, se observó una tendencia a ser menor el REM en la tercera hora frente a la administración del HAL respecto al control, invirtiéndose esta relación en la cuarta hora (3^{ra} hora: t = 2.089, p = 0.075; 4^{ta} hora: t = 2.085, p = 0.076) (Figura 7).

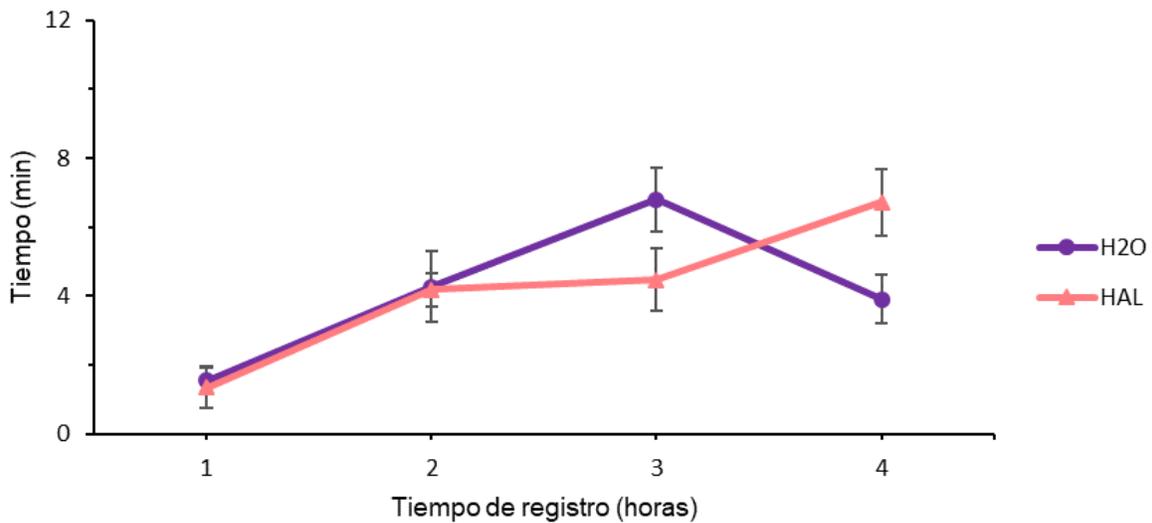


Figura 7. Tiempo en REM en cada hora de registro. Las gráficas muestran el REM hora a hora luego de la administración de haloperidol (HAL) y agua destilada (H₂O). La diferencia entre los grupos fue determinada por un t-student de medidas pareadas.

5.2. Efectos del haloperidol en el comportamiento maternal

La latencia a la reunión de toda la camada aumentó significativamente luego de la administración de HAL en comparación al control (Tabla 2). Específicamente, de las ocho hembras lactantes estudiadas, ninguna reunió toda la camada luego de la inyección de HAL, mientras que en el grupo control, todas las madres reunieron la camada dentro de los primeros cinco minutos (Figura 8).

La inyección de HAL en las ratas madres incrementó el peso de las crías en comparación al grupo control (Tabla 2).

El tiempo que permanecieron amamantando luego de la inyección de HAL fue significativamente mayor que el control, en cada hora individualmente y en el tiempo total de registro (Tabla 2). Sin embargo, la latencia al amamantamiento no varió entre ambos grupos experimentales (ver Tabla 2). En relación a la duración de cada episodio en el grupo HAL, estos fueron de mayor duración con respecto al control, mientras que la cantidad de episodios fue significativamente menor.

Tabla 2. Efectos de la inyección de haloperidol (HAL) en los parámetros del comportamiento maternal durante 4-h de registro.

	H2O	HAL	T-Student	
			t	P
Latencia a RTC (seg)	140.25 ± 35.27	300.00 ± 0.00	4.530	0.003
Amamantamiento				
Latencia (mins)	7.29 ± 1.73	5.01 ± 1.06	1.316	0.230
Duración (mins):				
Total	168.63 ± 6.93	226.17 ± 2.85	8.388	0.000
Primer hora	39.38 ± 2.21	52.94 ± 1.66	5.621	0.001
Segunda hora	42.04 ± 5.49	59.35 ± 0.34	3.129	0.017
Tercer hora	50.15 ± 1.49	57.57 ± 0.93	4.101	0.005
Cuarta hora	37.06 ± 4.12	56.30 ± 1.40	5.514	0.001
Número de episodios	17.88 ± 1.48	7.00 ± 1.10	5.310	0.001
Duración de cada episodio	9.88 ± 0.85	37.80 ± 5.29	5.173	0.001
Ganancia peso de las crías (%)	5.75 ± 0.38	9.09 ± 1.02	4.158	0.004

Los datos se presentan como el promedio ± el error estándar (n=8). Las diferencias significativas fueron evaluadas utilizando un t-student para muestras pareadas. RTC: Reunión de toda la camada.

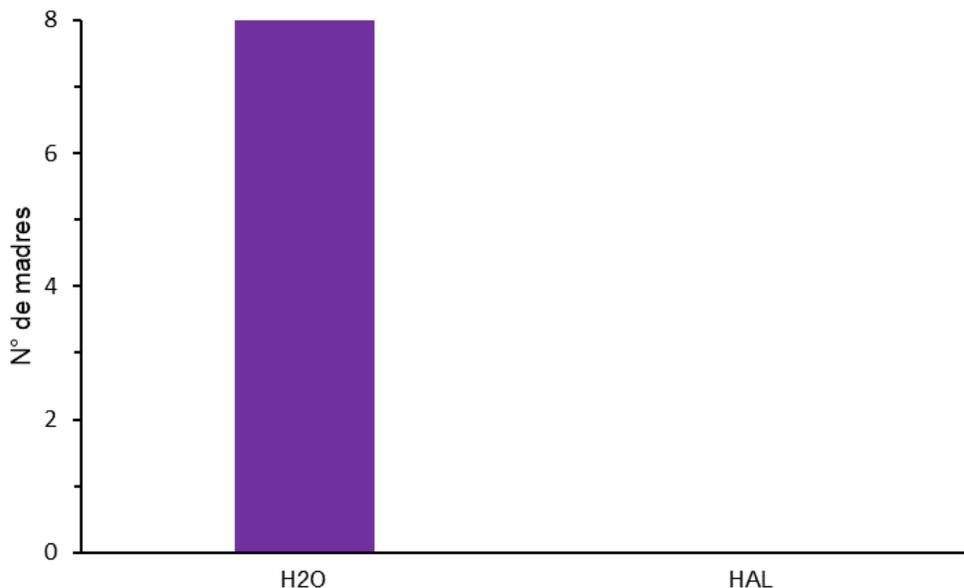


Figura 8. Madres que reunieron toda la camada. La gráfica muestra el número total de madres que fueron capaces de acarrear toda la camada en un tiempo igual o menor a cinco minutos luego de la inyección i.p. de agua destilada (H₂O) o haloperidol (HAL).

5.3. Correlación entre el sueño y el peso de las crías

No se evidenció ningún tipo de correlación significativa entre el TST y el porcentaje de aumento de peso de las crías ($r = 0.369$; $r^2 = 0.136$; $p = 0.368$; Figura 9A), al igual que entre el SWS y el porcentaje de aumento de peso de las crías ($r = 0.409$; $r^2 = 0.167$; $p = 0.315$; Figura 10A) en los registros control. Estos resultados fueron similares para los registros luego de la inyección del fármaco, no se observándose ningún tipo de correlación significativa entre el TST y el porcentaje de aumento de peso de las crías ($r = 0.533$; $r^2 = 0.284$; $p = 0.174$; Figura 9B), al igual que entre el SWS y el porcentaje de aumento de peso de las crías ($r = 0.605$; $r^2 = 0.366$; $p = 0.112$; Figura 10B).

A su vez, de la Tabla 1 se desprende que el SWS aumentó aproximadamente en un 25% frente a la inyección de HAL en comparación al control, y de la Tabla 2 que el peso de las crías aumentó aproximadamente un 60% en comparación al control.

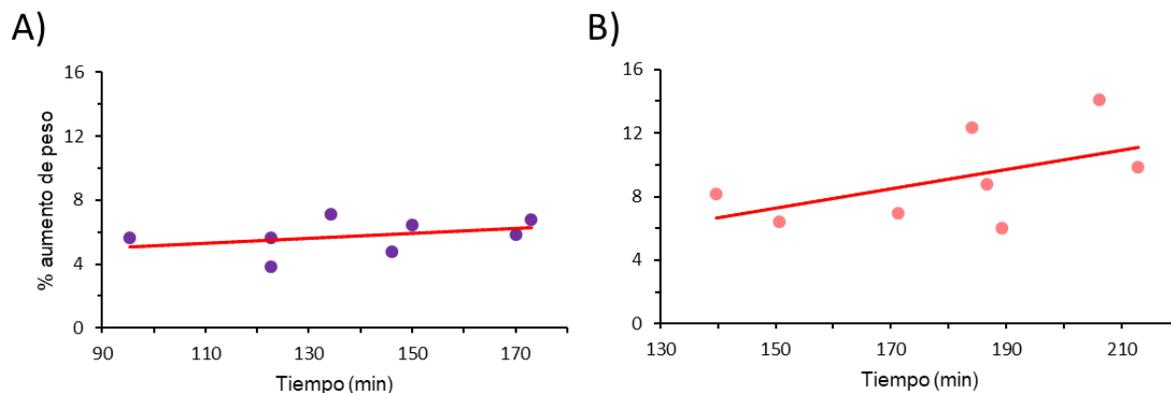


Figura 9. Correlación entre el TST y el peso de las crías. Las gráficas muestran la correlación entre el TST y el porcentaje de aumento de peso de las crías luego de la inyección de vehículo (A) y HAL (B). Se evaluó la correlación mediante el coeficiente de correlación de Pearson.

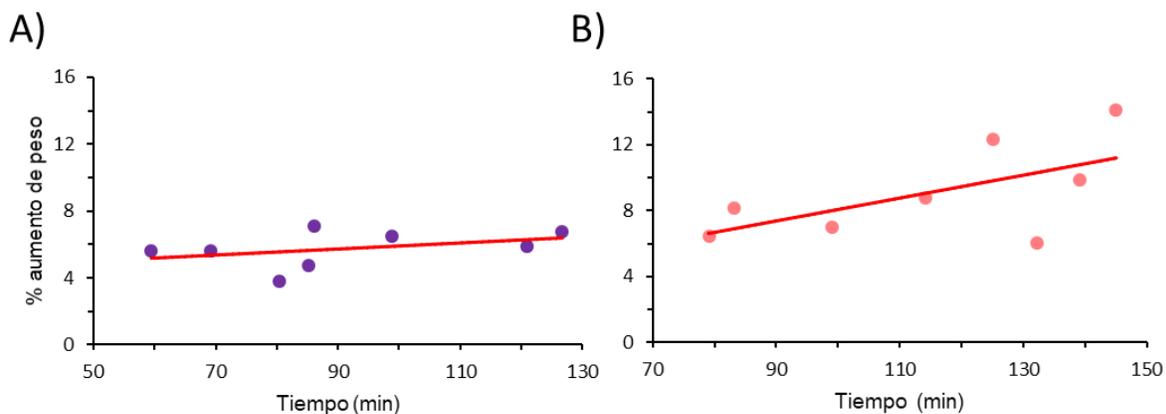


Figura 10. Correlación entre el SWS y el peso de las crías. Las gráficas muestran la correlación entre el SWS y el porcentaje de aumento de peso de las crías luego de la inyección de vehículo (A) y HAL (B). Se evaluó la correlación mediante el coeficiente de correlación de Pearson.

6. Discusión

En el presente trabajo se evidenciaron los efectos de la administración sistémica de HAL, un antagonista dopaminérgico, sobre el sueño de ratas hembras lactantes. El tratamiento con HAL en ratas hembras lactantes aumentó el SWS y disminuyó la W, al igual que lo observado en ratas macho (Monti et al., 1988). A su vez, se cuantificó, por primera vez, los efectos del HAL en el IS, donde se observó un aumento significativo del mismo. Por otro lado, se logró reproducir los efectos del HAL en el comportamiento maternal hallados en trabajos previos. Asimismo, si bien se incrementó la eyección láctea y el SWS frente a la utilización del HAL, estos cambios no estuvieron correlacionados.

6.1. Efectos sobre el sueño y la vigilia

La inyección sistémica de HAL produjo una disminución en la W. Dicho efecto ya había sido evidenciado en trabajos previos (Monti et al., 1988; Ongini et al., 1992) en ratas macho. En este estudio se observaron efectos similares en ratas hembras lactantes. Monti y col. (1968) también observan que en gatos el HAL disminuye la cantidad de episodios de W. Sin embargo, en este trabajo se evidenció que la disminución del tiempo en W se produjo a expensas de la disminución de la duración de sus episodios, pero la cantidad de episodios fue significativamente mayor. Estas diferencias podrían deberse a los cambios fisiológicos entre especies o a la dosis utilizada (Monti y col. (1968) utilizaron dosis de 1, 2 y 4 mg/kg). Otra posible causa es el hecho de que el presente estudio fue realizado en hembras lactantes, las cuales presentan mayor número de despertares a lo largo del ciclo sueño-vigilia en condiciones basales (Sivadas et al., 2016). Estos microdespertares son causados posiblemente por las eyecciones lácteas (Voloschin & Tramezzani, 1979) o el contacto con las crías (Benedetto 2017), ambas características incrementadas con HAL (Stern & Taylor, 1991). Para corroborar esta hipótesis, se deberían estudiar los efectos del HAL a la dosis utilizada en el presente estudio en ratas macho y en hembras no lactantes.

En relación a los efectos del HAL sobre el LS, se observó que el tiempo total fue significativamente mayor frente a la inyección del fármaco respecto al control. Monti y col. (1988) no evidenciaron cambios en el LS en ninguna de las dosis utilizadas en ratas macho. Esto podría deberse a que la dosis utilizada en el presente trabajo fue mayor a las utilizadas en trabajos previos (Monti et al., 1988).

El incremento del tiempo en SWS luego del tratamiento con HAL ya había sido evidenciado en ratas macho (Monti et al., 1988; Ongini et al., 1992). En este trabajo se observaron efectos similares en ratas hembras lactantes y, adicionalmente aportamos nuevos datos ya que dicho incremento del SWS se generó debido a un aumento en el número de sus episodios.

La inyección del HAL promovió un aumento del IS. El IS es una etapa del sueño poco estudiada, donde se evidencian características del sueño NREM y del REM simultáneamente, siendo este el primer trabajo que estudia esta etapa transicional luego del tratamiento con HAL.

Respecto al tiempo en sueño REM, no se observaron diferencias significativas en ninguno de los parámetros estudiados frente al tratamiento con HAL, lo cual no difiere de lo que ha sido evidenciado en ratas machos (Ongini et al., 1992; Monti et al., 1988).

Desde el punto de vista de los circuitos neuronales que participan en la regulación del sueño, el HAL por vía sistémica estaría promoviendo el mismo mediante dos grandes vías: 1. al inhibir los circuitos dopaminérgicos del sistema reticular activador ascendente (Monti & Jantos, 2008); 2. al promover la liberación de prolactina, hormona promotora de sueño (Zhang et al., 2001; Machado et al., 2008). Dado que en las hembras lactantes existen cambios en estos circuitos y otras áreas críticas para la generación de sueño (Pereira & Morrell, 2009; Rondini et al., 2010; Benedetto et al., 2018), es de esperar que algunas de las diferencias encontradas en el presente trabajo con respecto a trabajos previos realizados en machos puedan deberse a estas diferencias fisiológicas.

6.2. Efectos sobre el comportamiento maternal

En relación a los efectos sistémicos del HAL sobre el comportamiento maternal, se lograron reproducir la mayor parte de los resultados encontrados en trabajos previos (Giordano et al., 1990; Stern & Taylor, 1991).

La latencia a la reunión de toda la camada se vio incrementada luego de la inyección de HAL, debido a que ninguna madre fue capaz de acarrear a todas las crías dentro de los primeros cinco minutos, en comparación al control en donde todas las madres sí reunieron la camada. Estos efectos son similares a los obtenidos previamente por Stern y col. (1991) y Giordano y col. (1990). Estos dos grupos, junto con el de Pereira (Pereira & Ferreira, 2006), ya habían evidenciado que el HAL altera los componentes motores activos del comportamiento maternal, incluido el acarreo (Giordano et al., 1990; Stern & Taylor, 1991). Particularmente, los antipsicóticos como el HAL, de acuerdo a la dosis administrada, inducen catalepsia (De Ryck 1982; Carter & Pycoc, 1979; Sanberg, 1980). Sin embargo, Li (2015) evidenció que los efectos de los antipsicóticos sobre el comportamiento maternal activo serían principalmente motivacionales, debido a que, frente a dosis bajas que no producen catalepsia, igualmente se observa un déficit en el comportamiento maternal. A su vez, Giordano y col. (1990) evidenciaron que, a pesar de que las hembras no son capaces de acarrear toda la camada, igualmente son capaces de transportar comida.

Como medida indirecta de la eyección láctea, se calculó el incremento del peso de las crías (Stern & Protomastro, 2000; Benedetto et al., 2017a). Observando que, frente a la inyección del fármaco se ve incrementado el peso de las crías, pudiendo así replicar los datos evidenciados por Stern (Stern & Taylor, 1991). De acuerdo a Stern y Taylor (1991), el aumento de peso de las crías sería generado por un aumento en la cantidad de eyecciones y en la cantidad de leche eyectada, ya que se facilitaría la liberación de oxitocina en parte por el incremento de la quiescencia. Los mecanismos que subyacen la regulación de la liberación de oxitocina por vía dopaminérgica aún no están del todo esclarecidos (Moos & Richard, 1979; Uvnasmoberg et al., 1992, Kiss et al., 2010). Por otro lado, está bien establecido que el HAL

genera un aumento de la prolactina sérica (Dickerman et al., 1972; Dickerman et al., 1974; Mueller et al., 1976; Yasui-Furukori et al., 2002) y, por tanto, de la cantidad de leche que se sintetiza y secreta (Cowie, 1969; Lacasse & Ollier, 2015).

Otro efecto evidenciado con el HAL es que disminuye los lamidos ano-genitales por parte de la madre hacia las crías (Stern & Taylor, 1991). Este comportamiento es necesario para que las crías orinen y defequen, por lo que la ausencia del mismo podría incrementar el peso total de la camada. En el presente estudio no se realizó la estimulación ano-genital a las crías para que orinaran o defecaran. Sin embargo, consideramos que el peso de estos desechos es mínimo en relación al aumento del peso de las crías debido a la ingesta de leche, por lo que consideramos que este efecto sería despreciable para la medición de la eyección láctea. Para poder afirmarlo, se deberían realizar pruebas añadiendo la estimulación ano-genital de las crías, por parte del experimentador, al protocolo experimental.

También se observó un incremento en el tiempo que las madres permanecen amamantando. Esto es coherente con el previo trabajo de Stern y Taylor (1991). Consideramos que tanto los efectos somnogénicos como motores del HAL podrían promover que la madre permanezca más tiempo en posturas de amamantamiento. En este sentido, Li y col. (2015) se cuestiona si los cambios en el comportamiento materno causados por fármacos antipsicóticos como el HAL, se deben a los efectos: motores, motivacionales o sedativos. Zhao y Li (2009) postulan que los efectos sedativos no serían la causa que subyace a la alteración del comportamiento materno. Sin embargo, dichos efectos fueron medidos en forma indirecta y esporádica mediante *spotchecks*, evaluando un total de dos minutos de sueño en cuatro horas de registro. Junto con los resultados encontrados en el presente trabajo, creemos que el efecto somnogénico del HAL sí podría contribuir a promover el amamantamiento.

6.3. Correlación entre sueño y eyección láctea

No se evidenció una correlación entre el sueño NREM y el peso de las crías bajo condiciones controles o luego de la inyección de HAL. Los antecedentes de diversos grupos de investigación, sugieren que el SWS es esencial para la eyección de leche en la rata. Particularmente, muestran que la eyección ocurre únicamente si la madre presenta sueño NREM; si la madre se encuentra en sueño REM o W, la eyección láctea no ocurre a pesar de que las crías estén succionando (Voloschin & Tramezzani, 1979; Lincoln et al., 1980; Sutherland et al., 1987). En base a estos antecedentes, consideramos que los datos no apoyan nuestra hipótesis inicial, la cual consistía en que a mayor SWS habría una mayor eyección láctea y que, un fármaco que promoviera el SWS incrementaría la eyección láctea haciendo más evidente dicha relación. Tampoco se evidenció una correlación entre el sueño y el aumento del peso con un número mayor de animales en condiciones controles (resultados en preparación), lo que sugiere que no habría una correlación entre el SWS y la eyección láctea. De hecho, experimentos preliminares en nuestro laboratorio indican que las madres son capaces de eyectar leche a pesar de estar privadas de sueño.

Por lo tanto, consideramos que el aumento de sueño podría colaborar en la eyección láctea por promover la liberación de prolactina, pero no sería la principal causa. A su vez, creemos que, aunque no es necesario el sueño para eyectar leche, sí es necesario un periodo de quietud, el cual estaría estimulado por el HAL, reflejándose en un aumento del tiempo en nursing, brindando mayores oportunidades de que ocurra la eyección láctea.

7. Conclusiones

El HAL promueve el SWS en forma similar a lo que ocurre en ratas machos, pero parecería aumentar la ciclicidad del sueño, al incrementar los episodios de los estados de W y sueño NREM, no siendo así para el sueño REM. Estos efectos facilitarían la quiescencia de la hembra lactante, promoviendo el amamantamiento, tanto sus posturas como la oportunidad de eyectar leche. Sin embargo, los datos sugieren que no existiría una relación directa entre el tiempo SWS y la eyección láctea en condiciones controles o frente al tratamiento con HAL.

8. Perspectivas

Nuestras perspectivas incluyen:

1. Realizar estudios utilizando la misma dosis de HAL del presente trabajo en ratas macho y en hembras no lactantes. Esto podría poner en evidencia si alguna de las diferencias que observamos con la bibliografía se deban a las diferencias fisiológicas que presenta la hembra lactante o a la dosis administrada.
2. Medir las eyecciones de leche mediante el comportamiento de *stretching* de las crías frente a la inyección de HAL. Esto aportaría una posible correlación entre el peso de las crías y las eyecciones de leche, evidenciando que el aumento de peso se deba a mayor cantidad de eyecciones lácteas.
3. Realizar estudios a nivel intracerebral utilizando antagonistas dopaminérgicos, estudiando el área preóptica media, región que participa en la regulación tanto del sueño como del comportamiento maternal (Benedetto et al., 2017a). Esto seguiría aportando evidencia de si existe o no una relación directa entre el sueño y el comportamiento maternal.
4. Profundizar en la relación entre el sueño y la lactancia:
 - a. Privando a la hembra lactante de sueño o aumentando el tiempo en sueño utilizando otras técnicas u otros fármacos.
 - b. Aumentando el número de animales en condiciones controles para determinar si existe una correlación entre el tiempo en sueño y la eyección láctea

Referencias

- Ader, R., & Grota, L. (1970). Rhythmicity in the maternal behaviour of *Rattus norvegicus*. *Anim Behav*, 18(1), 144-50.
- Babu, G. N., Desai, G., & Chandra, P. S. (2015). Antipsychotics in pregnancy and lactation. *Indian J Psychiatry*, 57(2), 303-307.
- Bell, R. W., Nitschke, W., Bell, N. J., & Zachman, T. A. (1974). Early experience, ultrasonic vocalizations, and maternal responsiveness in rats. *Dev Psychobiol*, 7(3), 235-42.
- Benedetto, L., Rivas, M., Cavelli, M., Peña, F., Monti, J., Ferreira, A., & Torterolo, P. (2017a). Microinjection of the dopamine D2-receptor antagonist Raclopride into the medial preoptic area reduces REM sleep in lactating rats. *Neuroscience Letters*.
- Benedetto, L., Rivas, M., Pereira, M., Ferreira, A., & Torterolo, P. (2017b). A descriptive analysis of sleep and wakefulness states during maternal behaviors in postpartum rats. *Archives Italiennes de Biologie*, 155, 99-109.
- Benedetto, L., Rodriguez-Servetti, Z., Lagos, P., D'Almeida, V., Monti, J., & Torterolo, P. (2013). Microinjection of melanin concentrating hormone into the lateral preoptic area promotes non-REM sleep in the rat. *Peptides*, 39, 11-15.
- Benedetto, L., Torterolo, P., & Ferreira, A. (2018). Melanin-Concentrating Hormone: Role in Nursing and Sleep in Mother Rats. En S. R. Pandi-Perumal, P. Torterolo, & J. M. Monti, *Melanin-concentrating Hormone and Sleep*. Springer.
- Bridges, R. S. (2008). Neurobiology of the parental brain. Elsevier.
- Cabbia, R. (2017). Efeitos da privação materna no dia 11, associada a um estressor pontual, sobre a emocionalidade e monoaminas cerebrais em ratos Wistar machos e fêmeas adultos (Tesis de Maestría). San Pablo, Brasil.
- Carter, C. J., & Pycoc, C. J. (1979). Potentiation of haloperidol-induced catalepsy by dopamine agonists: possible involvement of central 5-hydroxytryptamine. *Pharmacol Biochem Behav*, 475-480.
- Champagne, F. A., Chretien, P., Stevenson, C. W., Zhang, T. Y., Gratton, A., & Meaney, M. J. (2004). Variations in Nucleus Accumbens Dopamine Associated with Individual Differences in Maternal Behavior in the Rat. *The Journal of Neuroscience*, 24(17), 4113– 4123.
- Chatterjee, D., Chatterjee-Chakraborty, M., Rees, S., Cauchi, J., Medeiros, C. B., & Fleming, A. S. (2007). Maternal isolation alters the expression of neural proteins during development: 'Stroking' stimulation reverses these effects. *Brain Res*, 1158, 11-27.
- Cowie, A. T. (1969). Variations in the yield and composition of the milk during lactation in the rabbit and the galactopoietic effect of prolactin. *J Endocrinol*, 437-450.
- DeRyck, M., Hruska, R., & Silbergeld, E. K. (1982). Estrogen and haloperidol-induced versus handling-related catalepsy in male rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 1027-1035.
- Dickerman, S., Clark, J., Dickerman, E., & Meites, J. (1972). Effects of haloperidol on serum and pituitary prolactin and on hypothalamic PIF in rats. *Neuroendocrinology*, 332-340.

- Dickerman, S., Kledzik, G., Gelato, M., Chen, H. J., & Meites, J. (1974). Effects of haloperidol on serum and pituitary prolactin, LH and FSH, and hypothalamic PIF and LRF. *Neuroendocrinology*, 10-20.
- Faturi, C. B., Tiba, P., Kawakami, S. E., Catallani, B., Kerstens, M., & Suchecki, D. (2010). Disruptions of the mother-infant relationship and stress-related behaviours: altered corticosterone secretion does not explain everything. *Neurosci Biobehav Rev*, 34(6), 821-34.
- Giordano, A. L., Johnson, A. E., & Rosenblat, J. S. (1990). Haloperidol-Induced Disruption of Retrieval Behavior and Reversal With Apomorphine in Lactating Rats. *Physiology & Behavior*, 48, 211-214.
- Harlow, M. K. (1967). Motherhood in primates. *NLN Conv Pap*, 1, 39-51.
- Hunter, L. P., Rychnovsky, & Yount. (2009). A selective review of maternal sleep characteristics in the postpartum period. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs*, 38(1), 60-68.
- Ishida, M., Mitsui, T., Izawa, M., & Arita, J. (2013). Activation of D2 dopamine receptors inhibits estrogen response element-mediated estrogen receptor transactivation in rat pituitary lactotrophs. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 375, 58-67.
- Kelley, A. E., Baldo, B. A., Pratt, W. E., & Will, M. J. (2005). Corticostriatal-hypothalamic circuitry and food motivation: Integration of energy, action and reward. *Physiology & Behavior*, 86, 773 – 795.
- Kiss, A., Bundzikova, J., Pirnik, Z., & Mikkelsen, J. (2010). Different antipsychotics elicit different effects on magnocellular oxytocinergic and vasopressinergic neurons as revealed by Fos immunohistochemistry. *J Neurosci Res*, 677-685.
- Kryger, M. H., Roth, T., & Dement, W. C. (2011). *Principles and Practice of Sleep Medicine*. St. Louis, Missouri, Estados Unidos: Saunders, Elsevier.
- Lacasse, P., & Ollier, S. (2015). The dopamine antagonist domperidone increases prolactin concentration and enhances milk production in dairy cows. *J Dairy Sci*, 7856-7864.
- Li, M. (2015). Antipsychotic Drugs on Maternal Behavior in Rats. *Behavioural Pharmacology*, 26(6), 616–626.
- Lincoln, D., Hentzen, K., Hin, T., VanDerSchoot, P., Clarke, G., & Summerlee, A. (1980). Sleep: a prerequisite for reflex milk ejection in the rat. *Experimental Brain Research*, 38(2), 151-162.
- Lyamin, O., Pryaslova, J., Kosenko, P., & Siegel, J. (2007). Behavioral aspects of sleep in bottlenose dolphin mothers and their calves. *Physiol Behav*, 92(4), 725-733.
- Machado, R. B., Tufik, S., & Suchecki, D. (2008). Chronic stress during paradoxical sleep deprivation increases paradoxical sleep rebound: association with prolactin plasma levels and brain serotonin content. *Psychoneuroendocrinology*, 33(9), 1211-1224.
- Monti, J. M. (1968). The effect of haloperidol on the sleep cycle of the cat. *Experientia*, 24(11), 1143.
- Monti, J. M., & Jantos, H. (2008). The roles of dopamine and serotonin, and of their receptors, in regulating sleep and waking. *Prog Brain Res*, 172, 625–646.

- Monti, J. M., & Monti, D. (2007). The involvement of dopamine in the modulation of sleep and waking. *Physiological review*, 11, 113-133.
- Monti, J. M., Hawkins, M., Jantos, H., D'Angelo, L., & Fernandez, M. (1988). Biphasic effects of dopamine D-2 receptor agonists on sleep and wakefulness in the rat. *Psychopharmacology*, 95, 395-400.
- Monti, J. M., Pandi-Perumal, S. R., & Chokroverty, S. (2016). *Dopamine and Sleep*. Springer International Publishing.
- Moos, F., & Richard, P. (1979). Effects of dopaminergic antagonist and agonist on oxytocin release induced by various stimuli. *Neuroendocrinology*, 138-144.
- Mueller, G. P., Simpkins, J., Meites, J., & Moore, K. E. (1976). Differential effects of dopamine agonists and haloperidol on release of prolactin, thyroid stimulating hormone, growth hormone and luteinizing hormone in rats. *Neuroendocrinology*, 121-135.
- National Academy of Science. (2011). *Guide for the care and use of laboratory animals*. Washington, DC, Estados Unidos: National Academy Press.
- Numan, M. (1988). Neural basis of maternal behavior in the rat. *Psychoneuroendocrinology*, 13(1 y 2), 47-62.
- Numan, M., & Stolzenberg, D. S. (2009). Medial preoptic area interactions with dopamine neural systems in the control of the onset and maintenance of maternal behavior in rats. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 30, 46–64.
- Numan, M., Numan, M. J., Pliakou, N., Stolzenberg, D. S., Mullins, O. J., Murphy, J. M., & Smith, C. D. (2005). The Effects of D1 or D2 Dopamine Receptor Antagonism in the Medial Preoptic Area, Ventral Pallidum, or Nucleus Accumbens on the Maternal Retrieval Response and Other Aspects of Maternal Behavior in Rats. *Behavioral Neuroscience*, 119(6), 1588–1604.
- Odhejo, Y. I., Jafri, A., Mekala, H. M., Hassan, M., Khan, A. M., Dar, S. K., & Ahmed, R. (2017). Safety and Efficacy of Antipsychotics in Pregnancy and Lactation. *Journal of Alcoholism & Drug Dependence*, 5(3).
- Ongini, E., Bo, P., Dionisotti, S., Trampus, M., & Savoldi, F. (1992). Effects of remoxipride, a dopamine D-2 antagonist antipsychotic, on sleep-waking patterns and EEG activity in rats and rabbits. *Psychopharmacology (Berl)*, 107(2-3), 236-242.
- Paxinos, G., & Watson, C. (2005). *The rat brain in stereotaxic coordinates (Quinta ed.)*. San Diego, California: Elsevier Academic Press.
- Pedersen, C. A., Caldwell, J. D., Walker, C., Ayers, G., & Mason, G. A. (1994). Oxytocin activates the postpartum onset of rat maternal behavior in the ventral tegmental and medial preoptic areas. *Behav Neurosci*, 108(6), 1163-1171.
- 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., & Morrell, J. I. (2009). The changing role of the medial preoptic area in the regulation of maternal behavior across the postpartum period: facilitation followed by inhibition. *Behav Brain Res*, 205(1), 238-248.

- Reiner, P. B. (1986). Correlational Analysis of Central Noradrenergic Neuronal Activity and Sympathetic Tone in Behaving Cats. *Brain Research*, 378, 86-96.
- Rondini, T. A., Donato, J. J., Rodrigues, B. C., Bittencourt, J. C., & Elias, C. F. (s.f.). Chemical identity and connections of medial preoptic area neurons expressing melanin-concentrating hormone during lactation. *J Chem Neuroanat*, 39(1), 51-62.
- Sahu, V. M. (2001). Mechanism of Action of Antipsychotics, Haloperidol and Olanzapine in vitro. (Tesis de Maestría). Blacksburg, Virginia, Estados Unidos.
- Sanberg, P. R. (1980). Haloperidol-induced catalepsy is mediated by postsynaptic dopamine receptors. *Nature*, 284, 472-473.
- Siegel, J. (2008). Do all animals sleep? *Trends in Neurosciences*, 31, 208-213.
- Siegel, J. M. (1990). Mechanisms of Sleep Control. *Journal of Clinical Neurophysiology*, 7(1), 49-65.
- Sivadas, N., Radhakrishnan, A., Aswathy, B., Kumar, V. M., & Gulia, K. K. (2016). Dynamic changes in sleep pattern during post-partum in normal pregnancy in rat model. *Behavioural Brain Research*, 320(2017), 264–274.
- Stern, J. M. (1989). Maternal Behavior: Sensory, Hormonal, and Neural Determinants. En F. R. Brush, & S. Levine, *Psychoendocrinology* (págs. 105–226). San Diego: Academic Press, Inc.
- Stern, J. M. (1996). Somatosensation and Maternal Care in Norway Rats. *Advances in the Study of Behavior*, 25, 243-294.
- Stern, J. M., & Keer, S. E. (1999). Maternal motivation of lactating rats is disrupted by low dosages of haloperidol. *Behavioural Brain Research*, 99, 231–239.
- Stern, J. M., & Protomastro, M. (2000). Effects of low dosages of apomorphine on maternal responsiveness in lactating rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 353-359.
- Stern, J. M., & Taylor, L. A. (1991). Haloperidol Inhibits Maternal Retrieval and Licking, but Enhances Nursing Behavior and Litter Weight Gains in Lactating Rats. *Journal of Neuroendocrinology*, 3(6), 591-596.
- Stolzenberg, D. S., & Numan, M. (2011). Hypothalamic interaction with the mesolimbic DA system in the control of the maternal and sexual behaviors in rats. *Neurosci Biobehav Rev*, 35(3), 826-847.
- Sutherland, R. C., Juss, T. S., & Wakerley, J. B. (1987). Prolonged electrical stimulation of the nipples evokes intermittent milk ejection in the anaesthetised lactating rat. *Exp Brain Res*, 66(1), 29-34.
- Torterolo, P., & Vanini, G. (2010). Nuevos conceptos sobre la generación y el mantenimiento de la vigilia. *Rev Neurol*, 50, 747-758.
- Torterolo, P., Benedetto, L., & Monti, J. (2016). Functional Interactions Between MCHergic and Dopaminergic Neurons: Role in the Control of Wakefulness and Sleep. En J. M. Monti, S. Pandi-Perumal, & S. Chokroverty, *Dopamine and Sleep*. Springer.
- UvnäsMoberg, K., Alster, P., & Svensson, T. H. (1992). Amperozide and clozapine but not haloperidol or raclopride increase the secretion of oxytocin in rats. *Psychopharmacology (Berl)*, 473-476.

- Voloschin, L., & Tramezzani, J. (1979). Milk ejection reflex linked to slow wave sleep in nursing rats. *Endocrinology*, 105(5), 1202-1207.
- Yasui-Furukori, N., Kondo, T., Suzuki, A., Mihara, K., & Kaneko, S. (2002). Comparison of prolactin concentrations between haloperidol and risperidone treatments in the same female patients with schizophrenia. *Psychopharmacology (Berl)*, 63-66.
- Zhang, S. Q., Inoue, S., & Kimura, M. (2001). Sleep-promoting activity of prolactin-releasing peptide (PrRP) in the rat. *Neuroreport*, 12(15), 3173-3176.
- Zhao, C., & Li, M. (2009). Sedation and disruption of maternal motivation underlie the disruptive effects of antipsychotic treatment on rat maternal behavior. *Pharmacol Biochem Behav*, 92(1), 147-156