

Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas
PEDECIBA-Biología
Sub-área Neurociencias

**Distribución de receptores de oxitocina en el cerebro de
Peromyscus californicus y *Rhabdomys pumilio*:
Relación con la estrategia reproductiva y social de las
especies**



Autor: Lic. Natalia Yael Sandberg Lacasa

Tutor: Dr. Daniel Olazábal

Tribunal:

- Dra. Cecilia Scorza
- Dra. Daniela Agrati
- Dra. Rossana Perrone

Índice

RESUMEN	3
ABREVIATURAS	7
INTRODUCCIÓN	9
1- EL SISTEMA OXITOCINÉRGICO. FUNCIONES Y RELACIÓN CON EL COMPORTAMIENTO	9
<i>La Oxitocina y su receptor</i>	9
<i>Similitudes y diferencias con la hormona Vasopresina</i>	11
<i>Funciones fisiológicas y comportamentales de la oxitocina</i>	12
2- OXITOCINA Y COMPORTAMIENTO PARENTAL	13
<i>Generalidades y primeros estudios</i>	13
<i>Acción de la oxitocina en distintas regiones cerebrales relacionadas al comportamiento parental</i>	15
<i>Núcleo Accumbens y vías neurales involucradas en el comportamiento parental</i>	17
<i>Comportamiento parental en contextos no reproductivos</i>	20
3- ESTRATEGIAS SOCIALES Y DISTRIBUCIÓN DE RECEPTORES OXITOCINA	22
<i>Oxitocina, monogamia y conducta parental</i>	24
<i>Distribución y densidad de OXTR, ¿Una adaptación a la monogamia social o a la aloparentalidad?</i>	26
<i>Evidencias que apoyan el papel de la oxitocina en el NAc y la conducta parental</i>	27
<i>Sensibilización parental y densidad de OXTR en el NAc</i>	28
<i>Relación de la distribución y densidad de OXTR con las diferentes estrategias sociales y reproductivas de las especies</i>	30
4- DIFERENCIAS INTRA E INTERESPECÍFICAS EN LA REGULACIÓN DE OXITOCINA Y OXTR POR LAS HORMONAS GONADALES. RELEVANCIA PARA EL COMPORTAMIENTO PARENTAL Y SOCIAL	33
5- ESTRATEGIAS REPRODUCTIVAS Y SOCIALES EN DOS ESPECIES DE ROEDORES: <i>PEROMYSCUS CALIFORNICUS</i> Y <i>RHABDOMYS PUMILIO</i>	35
<i>Peromyscus californicus</i>	35
<i>Rhabdomys pumilio</i>	41
JUSTIFICACIÓN	47
HIPÓTESIS	48
GENERALES	48
ESPECÍFICAS	48
OBJETIVO GENERAL:	50
OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	50
MATERIALES Y MÉTODOS	51

ANIMALES	51
PROCESAMIENTO DE LOS CEREBROS Y AUTORADIOGRAFÍA	51
CUANTIFICACIÓN DE LA DENSIDAD DE OXTR Y ANÁLISIS DE LOS DATOS OBTENIDOS	53
ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE RESULTADOS.....	53
RESULTADOS.....	55
1.- ÁREAS DEL CEREBRO CON DIFERENCIAS INTERESPECÍFICAS.....	56
2.- ÁREAS DEL CEREBRO SIN DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ENTRE ESPECIES	56
3.- ÁREAS DEL CEREBRO CON DIFERENCIAS SEXUALES DENTRO DE CADA ESPECIE.....	56
DISCUSIÓN.....	63
CUMPLIMIENTO DE OBJETIVOS.....	64
ANATOMÍA COMPARATIVA PARA OXTR INTER E INTRAESPECÍFICA EN: <i>PEROMYSCUS CALIFORNICUS</i> Y <i>RHABDOMYS PUMILIO</i>	66
<i>Núcleo Accumbens</i>	66
<i>Caudado putámen</i>	69
<i>Septo Lateral</i>	69
<i>Hipotálamo Ventromedial</i>	76
<i>Amígdala</i>	77
<i>Bed nucleus de la Estria Terminal</i>	79
<i>Área Preóptica Media</i>	82
<i>Indisium griseum</i>	83
<i>Hipocampo</i>	85
CONCLUSIONES GENERALES Y PERSPECTIVAS	86
REFERENCIAS.....	90

Resumen

El comportamiento parental es desplegado comúnmente por los progenitores. Sin embargo, otros individuos sin experiencia sexual y sin exposición previa a crías, muestran comportamiento parental en contextos no reproductivos. Hipotetizamos que las especies que viven en grupos sociales, donde otros miembros no reproductivos, tanto machos como hembras, colaboran con el cuidado de las crías; tienen adaptaciones cerebrales para promover o facilitar dichas conductas. Así como también, consideramos que estas adaptaciones cerebrales se encontrarían presentes en especies donde individuos de ambos sexos tengan la capacidad intrínseca a desplegar conducta parental en contextos no reproductivos y sin experiencia previa con crías.

Estudios en animales y en humanos, han proporcionado evidencia concluyente de que la oxitocina (OXT) actúa en ciertas regiones del cerebro promoviendo la conducta parental y las relaciones sociales más estables en diferentes condiciones fisiológicas y estrategias reproductivas. La OXT parecería acelerar y fortalecer los procesos neurales que conducen a que un animal procese a las crías como estímulos atractivos y gratificantes; reduciendo a su vez el estrés y/o ansiedad asociados a la interacción con ellas y facilitando el comportamiento parental; así como también parecería facilitar el establecimiento de relaciones reproductivas y sociales más estables.

Estudios previos sugieren que una de las adaptaciones neurales que facilitaría el comportamiento parental y/o aloparental, así como el establecimiento de relaciones sociales más estables, sería la presencia de alta densidad de receptores de OXT (OXTR) en el Núcleo Accumbens (NAc). El NAc es crítico para muchos procesos comportamentales, incluyendo el procesamiento de estímulos recompensantes o aversivos e integraría la información proveniente de las crías para estimular el comportamiento parental y la formación de grupos sociales más estables. Por otra parte, diferentes estudios han sugerido un papel también relevante de los OXTR en el Septo Lateral (LS), en lo que respecta a la socialidad, territorialidad y agresión entre conespecíficos.

P. californicus es una especie de roedor endémica de USA, que vive en pequeños grupos semipermanentes, con "monogamia exclusiva", es decir donde la pareja progenitora forma una relación estable a largo plazo; con machos muy agresivos con individuos de otros grupos y en la cual, los machos vírgenes inexperimentados expuestos a crías, pueden ser sensibilizados a mostrar conducta paternal rápidamente (también llamado comportamiento aloparental); mientras que *R. pumilio*, roedor del Sur de África, generalmente vive en grupos bastante más grandes, son "promiscuos" (una hembra copula con más de un macho dentro y fuera de su grupo, no estableciendo relaciones estables a largo plazo) y si bien los machos se describen como muy paternales, al día de hoy se desconoce si los machos inexperimentados expuestos a crías en contextos no reproductivos pueden ser sensibilizados rápidamente. Dichos estudios conductuales se encuentran en vías de estudio por parte de colegas extranjeros.

En esta tesis, investigamos la densidad y distribución de los OXTR en el NAc, el Septo Lateral (LS) y otras regiones cerebrales, de estas dos especies de roedores (*Peromyscus californicus* y *Rhabdomys pumilio*), que difieren en su estrategia reproductiva (relación estable con su pareja versus no estable) y social (vida en pequeños grupos versus grandes grupos; muy agresivos versus poco agresivos). A su vez conocemos por estudios conductuales previos que individuos de la especie *Peromyscus*, inexperientes, no progenitores y en contextos no reproductivos, despliegan cuidado hacia las crías, es decir serían aloparentales.

Esperábamos encontrar grandes cantidades de OXTR en NAc de *P. californicus*, ya que es una especie aloparental y formadora de relaciones estables producto de su monogamia exclusiva; a su vez esperábamos encontrar también altos niveles de OXTR en el LS, debido a que es una especie con elevados niveles de agresividad hacia individuos ajenos a su pequeño grupo. Por otra parte, esperábamos encontrar en la especie *R. pumilio*, bajos y/o indetectables niveles de OXTR en el NAc debido a la ausencia de relaciones estables entre conespecíficos, recordemos que es una especie considerada "promiscua". Además, al no presentar niveles importantes de OXTR en el NAc consideramos

que los machos vírgenes inexperimentados no presentan conducta parental hacia crías fuera de un contexto reproductivo. Esperábamos a su vez encontrar bajos niveles de OXTR en el LS, debido a que es una especie que ha demostrado en diferentes estudios comportamentales previos tener baja agresividad intergrupala.

Para nuestro estudio, utilizamos los cerebros de 14 individuos adultos de ambos sexos, vírgenes y sin experiencia parental previa para cada especie. Estos cerebros fueron enviados congelados (-80°C) desde el exterior del país (USA y Sudáfrica) hasta nuestras instalaciones en Facultad de Medicina, UdelaR. Utilizamos la técnica de autorradiografía para determinar los OXTR (mediante cuantificación) en las diferentes regiones cerebrales Usamos un antagonista del receptor marcado radiactivamente (*125I-OVTA*). Mostramos especificidad de técnica mediante el desplazamiento de la señal autorradiográfica con un agonista de OXTR, no viendo desplazamiento al someterlos a un antagonista de V1aR, evidenciando de esta manera que el radioligando utilizado en nuestro estudio fue altamente selectivo para OXTR.

Los resultados de nuestra investigación revelan diferencias significativas y similitudes tanto inter como intraespecíficas. *P. californicus* presenta mayor densidad de OXTR para la mayoría de las áreas analizadas en nuestro estudio (NAc *core* y *shell*, LS, Indisium Griseum (IG), Bed Nucleus de la Estría Terminal posterior (BNST posterior), para la mayoría de las subregiones de la Amígdala e Hipocampo (Hipp); mientras que *R. pumilio* mostró únicamente mayor densidad de OXTR respecto a la especie californiana sólo en el BNST anterior. *P. californicus* presenta gran densidad de OXTR en el NAc, *core* y *shell*, mientras que los niveles en *R. pumilio* son muy bajos. Encontramos además que la densidad de OXTR en el LS de *P. californicus* es muy alta en comparación con *R. pumilio*. Estos resultados apoyan la hipótesis que la presencia de OXTR en el NAc está asociada con la presencia de conducta parental en contextos no reproductivos y la formación de relaciones sociales más estables, mientras que la alta densidad de OXTR en el LS estaría relacionada a una tendencia a la disminución del miedo social y a una mayor agresividad en la especie y a una tendencia a vivir en grupos sociales más pequeños. Además

hipotetizamos de acuerdo a los resultados obtenidos, que los machos inexperimentados de la especie *R. pumilio* deberían ser principalmente infanticidas en contextos no reproductivos, dado la ausencia de OXTR en el NAc. Son necesarios más estudios comportamentales y en cautiverio para la especie *R. pumilio* que permitan evaluar esta respuesta a las crías por parte de machos y hembras vírgenes, fuera de un entorno reproductivo.

A nivel intraespecífico, encontramos que los machos de ambas especies tienen mayor densidad de OXTR en el Bed nucleus de la Estría terminal posterior (BNSTp) que las hembras. Además, los machos de *R. pumilio* y de *P. californicus* presentan mayor densidad de OXTR que las hembras en el LS ventral (vLS) y en el MPOA, respectivamente. Esto sugiere que, a diferencia de lo comúnmente esperado, las especies promiscuas no presentan necesariamente mayores diferencias sexuales en el sistema OXT respecto a las monógamas.

A través de esta tesis, en base a nuestros hallazgos y a recopilaciones de datos publicados de otras investigaciones, proponemos un "Modelo predictivo" para inferir la estrategia reproductiva y social de una especie, a partir de conocer la densidad de OXTR presentes en el NAc y LS de la misma.

Con nuestra investigación aportamos más evidencias que siguen contribuyendo a determinar el papel del sistema oxitocinérgico en el comportamiento animal, con potenciales implicancias en el comportamiento humano, respecto a la estrategia reproductiva y social de nuestra propia especie.

Abreviaturas

CoA- Amígdala Cortical

CeA- Amígdala Central

MeA- Amígdala Medial

BLA- Amígdala Basolateral

AVP- Vasopresina

BNST- Bed Nucleus de la Estría Terminal

CgC- Corteza Cingulada

CPu- Caudado Putámen

DA- Dopamina

dHipp- Hipocampo dorsal

dLS- Septo Lateral dorsal

GABA- Ácido gamma amino butírico

Hipp- Hipocampo

ICV- Infusión intracerebroventricular

IG- Indisium Griseum

LS- Septo Lateral

MPOA- Área Preóptica Media

NAc- Núcleo Accumbens

OXT- Oxitocina

OXTR- Receptor de oxitocina

PLC- Corteza prefrontal

PV- Pálido Ventral

PVN- Núcleo Paraventricular del Hipotálamo

rHipp- Hipocampo rostral

SHM- Septo Lateral hipocampal

To- Tubérculo olfatorio

V1AR- Receptor de vasopresina del tipo 1

vHipp- Hipocampo ventral

vLS- Septo Lateral ventral

VTA- Área Tegmental Ventral

VMH- Núcleo hipotalámico ventromedial

Introducción

1- El sistema oxitocinérgico. Funciones y relación con el comportamiento

La Oxitocina y su receptor

La oxitocina (OXT) es una hormona neuropeptídica (proteína de nueve aminoácidos, nonapéptido), producida por las neuronas magnocelulares neurosecretoras de los Núcleos Supraópticos y Paraventricular del Hipotálamo (PVN); desde donde es transportada por la proteína neurofisina, a lo largo de la vía Hipotálamo - hipofisaria (hasta sus terminaciones en la porción posterior de la hipófisis, llamada neurohipófisis). Allí se almacena y es secretada al torrente sanguíneo (Swanson & Sawchenko, 1980; Gimpl & Fahrenholz, 2001). El PVN también envía proyecciones a áreas del cerebro involucradas en la regulación del comportamiento y el estrés (Li et al., 2016). La OXT posee efectos periféricos (hormonales) y centrales en el cerebro (actuando como neurotransmisor). Dicha hormona actúa sobre un solo tipo de receptor (OXTR), polipéptido de 389 aminoácidos, perteneciente a la familia de receptores acoplados a las proteínas G (GPCRs: *G protein coupled receptors*) del tipo de la rodopsina (clase I). Esta familia de receptores consiste en proteínas integrales de membrana (heterotriméricas), con siete dominios transmembrana formados por alfa hélices, conectados por una serie de bucles intra y extracelulares. El estado del receptor de alta afinidad, requiere tanto Mg (2+) como colesterol, funcionando como moduladores alostéricos (Gimpl et al., 2001). Cuando la OXT se une a su receptor, genera un cambio conformacional en él, provocando la activación de la proteína G (Gαq/11), que estimula la actividad de la isoforma beta de la fosfolipasa C, que tiene como cometido la hidrolización del fosfatidil inositol bi-fosfato (el lípido PIP₂), produciendo diacilglicerol (DAG) y fosfatidil inositol trisfosfato (IP₃). Ambos son segundos mensajeros y tienen como función desencadenar una transducción de señales intracelulares, entre ellas la liberación de Ca²⁺ desde los reservorios intracelulares, repercutiendo en la excitabilidad celular (Figura 1; Gimpl et al., 2001). A su vez, también existe evidencia de que intervienen

otros mecanismos de señalización que involucran proteínas como la quinasa A, entre otras (Cassoni et al., 1997).

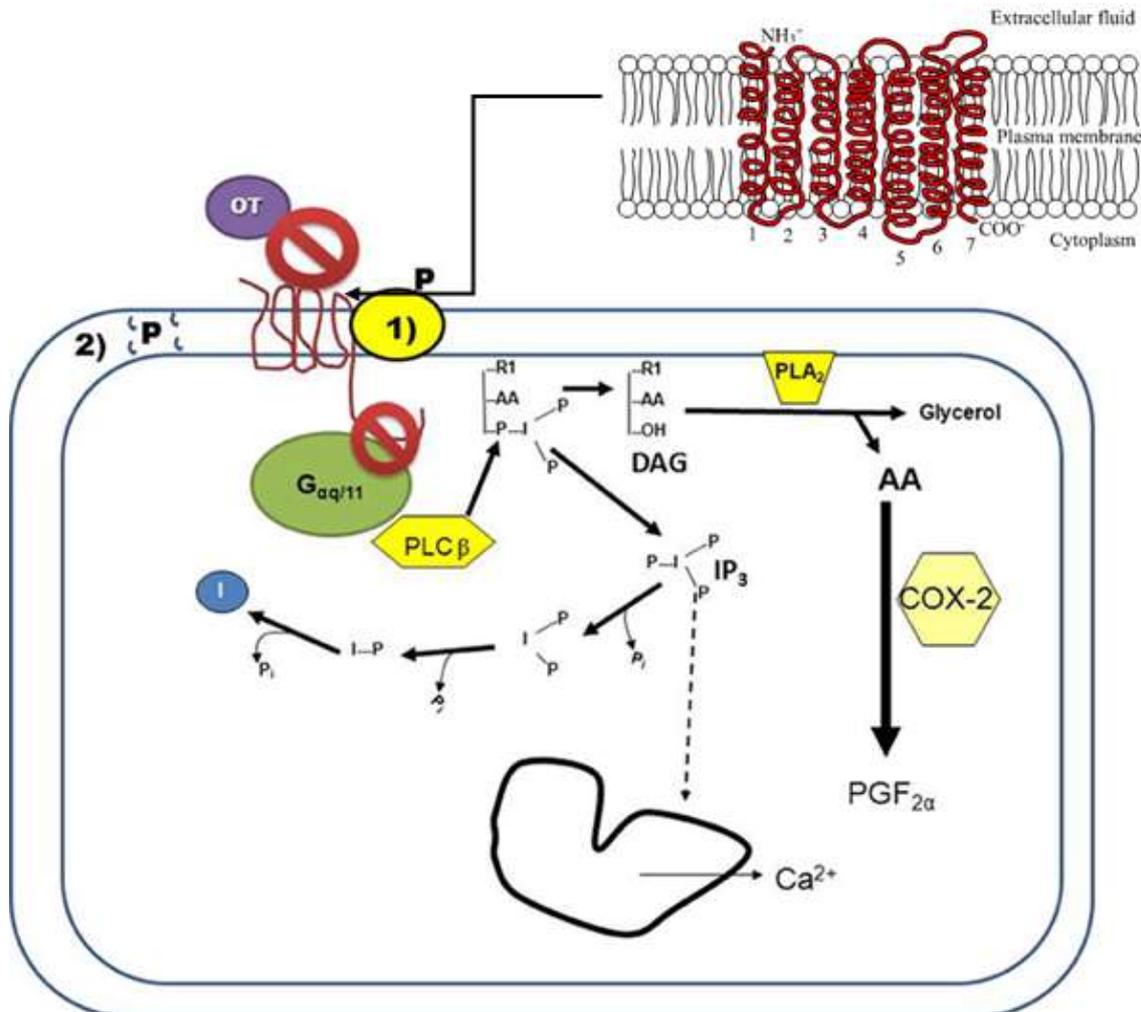


Figura 1.- La unión de OXT al OXTR activa la proteína G, G α q/11. La proteína G activada, fosforila la enzima fosfolipasa C β (PLC β), que escinde fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato en DAG e inositol 1, 4, 5-trifosfato (IP $_3$). Liberado IP $_3$, induce la liberación de calcio intracelular (Ca $^{2+}$) del retículo endoplásmico y luego se recicla en inositol libre. Figura tomada de Cecily V. Bishop, 2013; *Progesterone inhibition of oxytocin signaling in endometrium*, Front Hum Neuroscience.

Similitudes y diferencias con la hormona Vasopresina

Cabe destacar, que la estructura de la OXT es muy similar a la de la hormona vasopresina (AVP), también conocida como arginina vasopresina (nonapéptido, cuya secuencia aminoacídica difiere de la OXT, en solo dos aminoácidos (Figura 2, Manning et al., 2008). Las neuronas magnocelulares que fabrican OXT, están adyacentes a las neuronas magnocelulares que sintetizan AVP y son similares en muchos aspectos; aunque cada una tiene diferentes funciones fisiológicas (Pedersen & Prange, 1979; Kosfeld et al., 2005).

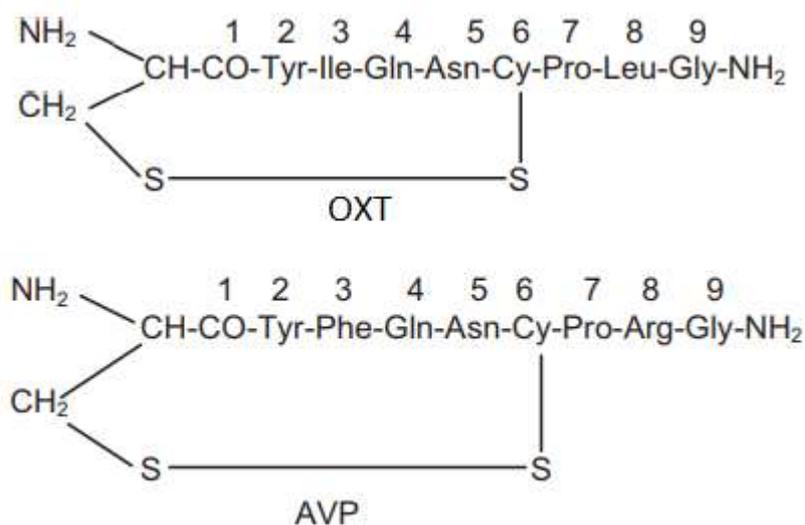


Figura 2.- OXT y AVP tienen estructuras muy similares y difieren solo en la posición 3 y 8 aminoacídica. Figura tomada de Manning et al., 2008. *Prog Brain Res.*, 170:473-512.

La AVP juega un papel importante en la homeostasis de fluidos dentro del cuerpo mediante la regulación de agua, glucosa y sales (Cassoni et al., 1997; Gimpl & Fahrenholz, 2001). Por ello a esta hormona se le llama comúnmente hormona antidiurética, por sus efectos de conservación de agua en los riñones, disminuyendo la diuresis. La secreción de vasopresina está regulada por osmorreceptores, modulados por factores tales como la sed, la presión arterial y el volumen de líquido corporal (Cassoni et al., 1997; Gimpl et al., 2001).

La AVP media su acción biológica actuando sobre cuatro receptores conocidos: V1A, V1B, V2 y un presunto receptor V1C. Clínicamente, el receptor V1A (V1AR) está relacionado con la vasoconstricción, en comparación con el receptor V1B que está más relacionado con la liberación de corticotrofina (ACTH) o el receptor V2 que está vinculado a la función diurética de la hormona antidiurética (ADH). Los del tipo V1AR, se caracterizan por tener un importante rol regulador del comportamiento social, siendo abundantes en el cerebro. Estos provocan una cadena de transducción intracelular, similar al accionado por la OXT, usando el fosfatidilinositol (PIP₂), que desencadena la apertura de compartimentos intracelulares, con el fin de aumentar el calcio citosólico (Insel, 1992; Cassoni et al., 1997; Gimpl et al., 2001).

La AVP también ha sido implicada en la promoción del comportamiento parental y agresivo en varias especies (Wang et al., 1998; Delville et al., 1996; Nephew & Bridges, 2008; Bester-Meredith & Marler, 2012; Bosch & Neumann, 2012). A su vez, uno de sus receptores, el V1A, es también muy variable en su distribución y densidad cerebral en las distintas especies. Varios investigadores han relacionado estas diferencias interespecíficas con la adopción de diferentes estrategias sociales y reproductivas (Wang et al., 1998; Beery et al., 2008).

A causa de la similitud estructural entre la OXT y la AVP, ellas eventualmente podrían actuar en ambos receptores con diferente afinidad (Elands et al., 1988; Barberis et al., 1995; Manning et al., 1995b; Barberis et al., 2000). Sin embargo, existen gran cantidad de agonistas y antagonistas que muestran diferente selectividad y afinidad para los receptores de OXT o AVP, representando herramientas muy útiles para discriminar entre unos y otros (Manning et al., 1995; Manning et al., 2008).

Funciones fisiológicas y comportamentales de la oxitocina

La OXT participa en diversos procesos relacionados con las funciones inmunológicas, reproductivas, cardiovasculares y comportamentales, entre otras (Gimpl & Fahrenholz, 2001). También sería sintetizada en tejidos periféricos, por ejemplo, útero, placenta, amnios, cuerpo lúteo, testículos y

corazón (Kiss & Mikkelsen, 2005). Las acciones fisiológicas clásicas de la OXT incluyen la estimulación de la contracción del músculo liso uterino durante el parto. Es un potente agente uterotónico y media la eyección de la leche durante la lactancia al actuar sobre las células mioepiteliales de la glándula mamaria (Takayanagi et al., 2005). La OXT también juega un papel importante en muchas otras funciones relacionadas con la reproducción, como son el control de la duración del ciclo estral, la luteinización folicular en el ovario, la esteroidogénesis ovárica (Gimpl & Fahrenholz, 2001; Gimpl et al., 2002), la eyaculación y la erección peneana (Kiss & Mikkelsen, 2005).

Estudios tempranos realizados principalmente en ratas y ovejas, también sugirieron que el aumento en OXT que ocurre alrededor del parto, no solo estimularía la contracción del útero sino que también facilitaría el inicio del comportamiento materno (Pedersen & Prange, 1979; Kendrick et al., 1987). A su vez, diversas investigaciones que serán discutidas más adelante, sugieren que la OXT jugaría un rol importante en la facilitación de otras interacciones sociales, como ser la selección preferencial de pareja, "*partner preference*", (Pedersen & Prange, 1979; Fahrbach et al. 1985, Insel, 1992; Kendrick et al., 1987; Cho et al., 1999); reduciría el estrés y la ansiedad, mejorando el estado de ánimo y el bienestar en diferentes especies de mamíferos que van desde los roedores hasta humanos (Uvnas-Moberg, 1998; Kosfeld et al. 2005; Olazabal & Young, 2006; Olazabal et al., 2013ab).

2- Oxitocina y comportamiento parental

Generalidades y primeros estudios

Entendemos como comportamiento parental, aquellos comportamientos dirigidos directa o indirectamente hacia las crías aumentando la probabilidad de su supervivencia (Numan & Insel, 2003; Kuroda, 2011; Olazabal et al., 2013ab). En roedores, este comportamiento consiste en la construcción de un nido, el acarreo de los recién nacidos hacia el mismo, su lamido, acicalamiento y la adopción de posturas de protección y amamantamiento (para el caso de las hembras lactantes). En mamíferos, dicha conducta se asocia generalmente con importantes cambios hormonales alrededor del parto y el período

posterior a él (Numan & Woodside, 2010). El establecimiento del comportamiento maternal tanto en rata, ratón, conejo, oveja y algunos primates; se facilita por el aumento de la relación de los niveles de estradiol y progesterona al final de la preñez (Bridges, 1984; González- Mariscal et al., 1996; Numan et al., 2006; Olazabal et al., 2013a). En general, es la hembra progenitora la que se encarga de llevar a cabo los cuidados parentales, aunque en muchas especies el macho también despliega cuidados paternos (Numan, 2011). La interacción madre / recién nacido y la experiencia sensorial que resulta de oler, tocar y escuchar a las crías, también fortalecen ese estado conductual y generan cambios neuronales a largo plazo, que incluyen el aprendizaje y la memoria de esas experiencias (Caldeyro-Barcia & Poseiro, 1959; Pedersen, 1979; Fahrbach et al., 1984; Kendrick et al., 1987; Bridges, 1996; Stern, 1996; Uvnas-Moberg, 1998; Numan & Insel, 2003; Bridges & Scanlan, 2005; Lim & Young, 2006; Numan, 2011; Olazabal et al., 2013; Pedersen, 2013).

El comportamiento materno inducido por los cambios hormonales que ocurren al final del parto, incluyen aumentos en estrógenos, lactógenos y OXT, en sitios específicos del cerebro (Caldeyro-Barcia & Poseiro, 1959; Pedersen, 1979; Fahrbach et al., 1984; Kendrick et al., 1987; Bridges, 1996; Stern, 1996; Lim & Young, 2006; Numan, 2011; Olazabal et al., 2013; Pedersen, 2013). Estos cambios hormonales son responsables, por ejemplo, de reducir la aversión mediada por el olor hacia los recién nacidos en ratas (Gandelman, 1973; Fleming & Rosenblatt, 1974) y de promover, solo durante un breve período temporal, la aceptación de corderos en las ovejas (Lévy et al., 1983). El estradiol es un factor endocrino importante que estimula la capacidad de respuesta materna, tanto en las ovejas no preñadas como en las parturientas. Sin embargo, su acción depende de la experiencia materna previa, siendo también necesarios otros factores (como ser señales olfativas y estimulación genital) para la rápida manifestación del comportamiento materno. La estimulación genital (que libera OXT) actuaría en sinergia con las hormonas gonadales para inducir el rápido inicio del lamido y la aceptación inmediata del cordero en la ubre de ovejas no preñadas (Lévy et al., 1983; Kendrick et al., 1987; Poindron et al., 1988). También influye en la atracción por el líquido amniótico en el parto y reduce el comportamiento agresivo hacia los

recién nacidos. La privación de la estimulación genital por anestesia peridural, altera la conducta materna en ovejas parturientas, especialmente en primíparas (Poindron et al., 1988). Contrariamente, una mayor estimulación genital en ovejas posparto, permite la formación de un nuevo vínculo con un neonato ajeno, en madres que ya habían establecido una relación selectiva con sus propios corderos. Ésta estimulación entonces, provocaría la liberación de OXT en el cerebro facilitando las respuestas maternas. A su vez, la OXT podría influir en la función olfativa a través de la activación de las vías aferentes noradrenérgicas en los bulbos olfatorios (Poindron et al., 1988).

Estos estudios pioneros en ratas y ovejas desencadenaron un gran interés en el papel de la OXT en la conducta maternal (Numan & Insel, 2003; Numan et al., 2006; Olazabal et al., 2013ab). Estos estudios encontraron que cuando se administraba OXT a ratas mediante una infusión cerebrovascular (ICV), se facilitaba la aparición del comportamiento materno; mientras que la inyección de antagonistas de OXT, bloqueaba su aparición (McCarthy, 1990; Champagne et al., 2001; Numan & Young, 2016). Las hembras que recibían antagonistas de OXT después del parto, no exhibían la conducta materna típica (McCarthy, 1990; Champagne et al., 2001; Bosh et al., 2004; Febo et al., 2005; Ghazizadeh et al., 2012; Moaddab et al., 2015; Numan & Young, 2016; Peris et al., 2017). Otros investigadores encontraron que la administración de OXT por ICV a ratas ovariectomizadas tratadas con estrógenos, disminuía la latencia a desplegar el comportamiento maternal (Fahrbach et al., 1985).

Acción de la oxitocina en distintas regiones cerebrales relacionadas al comportamiento parental

Diferentes estudios tanto en animales como en humanos, han aportado evidencia concluyente de que la OXT actuaría en determinadas áreas cerebrales para promover el comportamiento parental, acelerando y fortaleciendo las vías neurales que hacen a las crías más atractivas; disminuyendo el estrés y/o ansiedad, en las diferentes condiciones reproductivas y fisiológicas (Olazábal, 2018).

Varias regiones cerebrales que forman parte del sustrato neuronal del comportamiento parental, fueron estudiadas como posibles sitios de acción de la OXT. Algunas de esas regiones fueron el Área

Preóptica Media (MPOA) y el Bed Nucleus de la Estría Terminal (BNST) ventroposterior. Infusiones de antagonistas de OXT y/o lesiones en estas áreas, deterioran los componentes activos del comportamiento y/o bloquean la expresión de conductas parentales en la mayoría de las especies; sugiriendo que la OXT en estas áreas tendría un papel importante para el despliegue de estas conductas (Numan et al., 1977; Numan et al., 1985; Pedersen et al., 1994; Olazabal et al., 2013). Lesiones en el Núcleo Paraventricular del Hipotálamo (PVN), la fuente principal de OXT en el cerebro, también bloqueaba el inicio de la conducta maternal en ratas (Insel & Harbaugh, 1989). Otros estudios también en ratas, encontraron que la administración de OXT en el Área Tegmental Ventral (VTA) facilitaba el comportamiento materno, mientras que los antagonistas de OXT administrados, tanto en el MPOA como en el VTA retrasaban su aparición (Pedersen et al., 1994; Fahrbach et al., 1986). El MPOA envía proyecciones al VTA, una región del cerebro muy rica en neuronas dopaminérgicas que proyecta al NAc (Mogenson et al., 1979). Las neuronas dopaminérgicas del VTA forman parte de los sistemas mesocortical y mesolímbico. El sistema mesocortical, juega un papel importante en la cognición, permitiendo la llegada a los lóbulos frontales de información sobre la emoción y la motivación. Al recibir estos *inputs*, las estructuras cerebrales superiores generan las respuestas que serán ejecutadas en consecuencia (Mogenson et al., 1979; Lee et al., 1999). Por otra parte, el sistema mesolímbico tendría un papel crítico en el procesamiento de estímulos recompensantes y la motivación conductual para alcanzar esas recompensas (Mogenson et al., 1979; Lee et al., 1999). Administración de agonistas de los receptores D1 de dopamina (DA) en el NAc, acelera la respuesta maternal en ratas vírgenes (Stolzenberg & Rissman, 2011). A su vez cuando la acción de la DA es interrumpida, se interfieren los comportamientos activos como ser el acarreo de crías, pero no los comportamientos pasivos como ser el amamantamiento o posturas de protección (Numan et al., 2010).

Núcleo Accumbens y vías neurales involucradas en el comportamiento parental

El NAc, es un grupo neuronal del encéfalo, ubicado debajo del Caudado Putámen (CPu), sobre el Tubérculo olfatorio (To) y constituye la parte ventral del cuerpo estriado, formando parte de los ganglios basales (Mir & Pérez-Lucena, 1987). En el NAc distinguimos dos estructuras: zona central (*core*) y corteza (*shell*), que difieren en morfología y función. Al NAc se le atribuye una función importante en el placer y la recompensa, así como en otros procesos neurales (Ghazizadeh et al., 2012; Moaddab et al., 2015; Peris et al., 2017). El principal tipo neuronal que se encuentra en esta región, es la neurona de proyección espinosa media. El neurotransmisor generado por estas neuronas es el ácido gamma amino butírico (GABA), un importante inhibidor del sistema nervioso central (Mir & Pérez-Lucena, 1987). Dichas neuronas también comprenden la mayor proyección (*output*) del NAc. Aunque este último tipo celular constituye el 95% de las neuronas de este núcleo, pueden existir otras como las interneuronas colinérgicas grandes no espinosas (Figura 3., Mir & Pérez-Lucena, 1987). Las neuronas eferentes del NAc, proyectan sus axones hacia el Pálido Ventral (VP). Éste a su vez proyecta hacia el Núcleo dorsal del tálamo que proyecta hacia la Corteza prefrontal (PFC). Entre otras eferencias del NAc, se incluyen las conexiones con la Sustancia Nigra y la formación Pontina Reticular. Sus aferencias más importantes son las cortezas prefrontales asociativas, la Amígdala y las neuronas dopaminérgicas del VTA, que como mencionamos anteriormente, se conectan a través de la vía mesolímbica (Figura 3., Mir & Pérez-Lucena, 1987). Cuando el organismo detecta un estímulo de recompensa, se libera dopamina en el NAc a través de las proyecciones del VTA (Figura 3., Mogenson et al., 1979; Lee et al., 1999; Olazabal et al., 2013). El aumento de la concentración del neurotransmisor en esta área, tiene un efecto reforzador sobre la conducta asociada a la obtención de esa recompensa. Varios estudios proponen entonces que la OXT actuaría en el VTA aumentando la liberación de dopamina (DA) en el NAc y la PFC para promover el comportamiento parental y procesar a los recién nacidos como estímulos recompensantes (Figura 3., Olazabal et al., 2013; Febo, 2011; Lee et al., 1999; Numan & Young, 2016; Olazabal, 2018). Sin embargo, aunque las neuronas del VTA tienen OXTR, existe evidencia de que solo un 10% de esas neuronas con

OXTR, son dopaminérgicas (Peris et al., 2017). Se conoce que gran parte del resto de neuronas, son de tipo GABAérgicas y glutamatérgicas. Por lo tanto, la acción de OXT sobre estos otros tipos neuronales del VTA, también podría tener efectos aún desconocidos en el desencadenamiento del comportamiento parental. No debemos descartar que la OXT podría también actuar directamente en el NAc o el PFC para facilitar dicho comportamiento. Moaddab junto a otros investigadores (2015), publicaron un estudio donde comprobaron que la administración por ICV de OXT, aumentaba la tasa de activación media de las neuronas en el NAc *shell*; sugiriendo un mecanismo de acción directo en el NAc en lugar de uno mediado por la liberación de DA desde el VTA. A su vez, estos investigadores proponen que la OXT podría actuar sobre las neuronas espinosas medias GABAérgicas (proyecciones eferentes de la NAc). En varias revisiones se plantearon modelos para explicar la acción de la OXT en estas áreas (Figura 3., Olazabal et al., 2013; Numan & Young, 2016; Olazábal, 2018). Algunos de estos modelos proponen que la liberación de OXT y DA en el NAc inhibiría, en lugar de excitar, las neuronas espinosas medias que proyectan al VP. Este efecto inhibitorio podría estar mediado por la inhibición presináptica de las aferencias glutamatérgicas al NAc (Numan & Young., 2016; Olazabal, 2018). Las neuronas espinosas medias en el NAc, forman una población heterogénea de neuronas con diferentes sitios de proyección, subtipos de receptores dopaminérgicos e innervaciones neuroquímicas. Por lo tanto, la acción de OXT en diferentes subpoblaciones de neuronas, podría dar como resultado efectos inhibitorios o excitadores (Numan & Young., 2016; Olazabal, 2018). Quizás la liberación de OXT en el PFC, NAc, MPOA y VTA reduce la salida inhibitoria del NAc al VP solo para ciertos componentes específicos del comportamiento parental; al mismo tiempo que aumenta transitoriamente el efecto inhibitorio del NAc al VP relacionado con otros componentes conductuales interferentes o no específicos (Ghazizadeh et al., 2012; Olazábal, 2018). A su vez, la acción de la OXT en el NAc, podría modular las entradas inhibitorias y excitatorias provenientes desde el PFC y Amígdala basolateral (BLA). Esta información podría integrarse en el NAc y seleccionarse según el comportamiento parental requerido; por ejemplo, adoptar una postura de amamantamiento (pasiva) o acarrear crías al nido (activa).

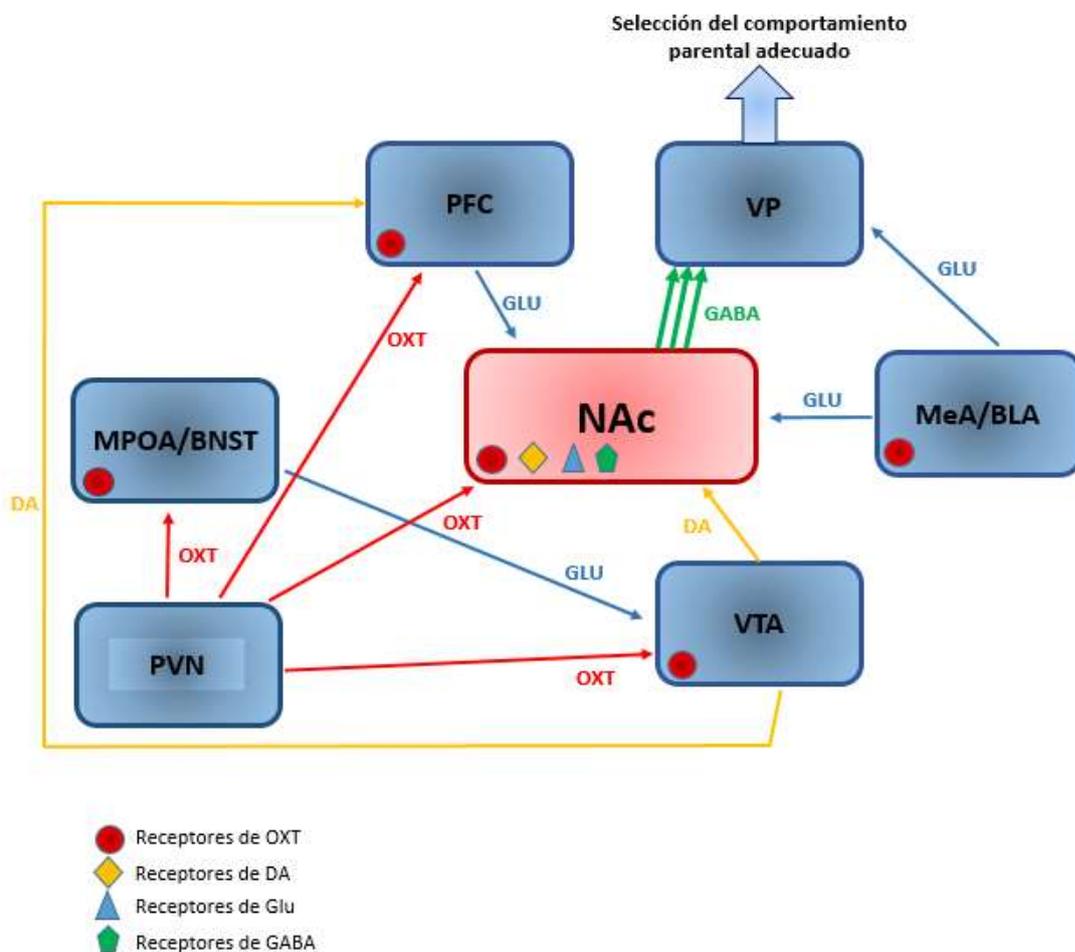


Figura 3.- Diagrama que representa algunas de las vías neurales involucradas en el comportamiento parental. Figura realizada en base al Modelo de Michael Numan. Numan & Young, 2016. Neural mechanisms of mother-infant bonding and pair bonding: Similarities, differences, and broader implications. *Horm Behav.* 77:98-112 y de Olazábal, 2018. Role of oxytocin in parental behaviour. *J Neuroendocrinol.* Jul. 30 (7):e12594.

Asimismo, la OXT podría jugar un papel importante también en otras regiones cerebrales tales como el Bulbo olfatorio, al menos en algunas especies. En la oveja, la OXT podría facilitar la aparición del comportamiento materno y el establecimiento del vínculo selectivo entre la madre y el cordero (Kendrick et al., 1988; Kendrick et al., 1992; Kendrick, 2013). Kendrick junto a otros investigadores, encontraron que al hacer infusiones de OXT tanto en el MPOA como en el Bulbo olfatorio, disminuía el rechazo a corderos. En algunas especies, la Amígdala medial (MeA) procesa esta información olfativa,

pudiendo ser también un sitio de acción para la OXT, de manera de eliminar la aversión a los olores de los recién nacidos o establecer una memoria olfativa (Broad et al., 1999; Keller et al., 2004; Terenzi & Ingram, 2005; Lukas et al., 2013).

En la última década, nuevas técnicas no invasivas como la Resonancia Magnética Funcional (MRI), también ha proporcionado evidencia de que la liberación de OXT estimulada por el amamantamiento en ratas lactantes, activaría la mayoría de las áreas del cerebro donde se ha propuesto que la OXT actúa para facilitar el comportamiento maternal y/o reducir el estrés y/o la ansiedad (Febo, 2011; Febo et al., 2005). A su vez, otros tantos estudios en ratas, han propuesto que la OXT jugaría un rol importante, no solo aumentando la atracción a las crías, sino que también manteniendo algunos componentes del comportamiento parental, por ejemplo el lamido, la postura de amamantamiento y la agresión maternal (McCarthy, 1990; Bosch et al., 2004; Pedersen, 2013).

Comportamiento parental en contextos no reproductivos

Estudios en diferentes especies animales, han proporcionado evidencia concluyente que apoya la hipótesis de que la OXT promueve el comportamiento parental y social en un contexto diferente al reproductivo, actuando en diferentes regiones del cerebro y condiciones fisiológicas; generando diferencias intra e interespecificas, así como variabilidad en el comportamiento parental y social (Numan & Insel, 2003; Olazábal et al., 2013).

Es de conocimiento que tanto machos como hembras vírgenes de algunas especies pueden mostrar comportamiento parental (Fleming & Rosenblatt, 1974; Olazábal & Young, 2008; Alsina-LLanes et al., 2015). Mientras que algunos individuos sin experiencia previa con recién nacidos, muestran el comportamiento parental de forma inmediata o casi espontánea al someterlos a crías, otros requieren de su exposición repetida para desplegarlo, proceso conocido como "sensibilización" (Olazábal et al., 2013). La cohabitación con ellas induciría la conducta parental (Rosenblatt, 1967). Los mecanismos que promueven el comportamiento parental inmediato o luego de exposiciones repetidas en animales

inexperimentados, aún no están del todo claros (Leblond, 1938; Noiro, 1972; Gimpl & Fahrenholz, 2001). Por ejemplo, las ratas juveniles de ambos sexos (20 a 22 días de edad) precisan un período de 1 a 2 días de exposición a crías para que comiencen a desplegar comportamiento parental (Olazábal & Morrell, 2005). Los adultos inexperimentados de ratas sin embargo, demoran entre 4 y 7 días para comenzar a desplegar dicha conducta. Por otra parte, en el ratón de la pradera (*prairie voles*), tanto juveniles como adultos inexperimentados, en su mayoría despliegan comportamiento parental "espontáneo" (en segundos o minutos) al ser sometidos a crías (Roberts et al., 1998; Olazábal & Young, 2006). En el caso del ratón de laboratorio, el macho adulto en general es infanticida (Gandelman et al., 1970; Brooks & Schwarzkopf, 1983; Alsina-Llanes et al., 2018). Para el caso de las hembras de ratón de laboratorio por su parte, la mayoría de ellas despliegan comportamiento maternal en un período de entre 30 min hasta 2 días (Lucas et al., 1998; Kuroda et al., 2011; Alsina-Llanes & Olazábal, 2015). Un estudio reciente de Horrell junto a otros investigadores (2017), encontraron que los machos vírgenes adultos de *P. californicus* (especie monógama), sin experiencia previa con crías, desplegaban conductas parentales hacia recién nacidos luego de ser sometidos a una breve exposición (Horrell et al., 2017). Los machos vírgenes adultos del ratón mandarín (*Microtus mandarinus*) en iguales condiciones, también exhibían algunos componentes de la conducta parental luego de 10 minutos de exposición (Song et al., 2010).

Como mencionamos anteriormente, las bases neurales que subyacen al comportamiento parental en contexto no reproductivo, se considera que son mayormente similares a las descritas para hembras lactantes, aunque los mecanismos neuroendocrinos y/o cognitivos subyacentes a esos cambios de comportamiento son menos conocidos (Rosenblatt, 1967; Olazábal et al., 2013). La evidencia sugiere que la liberación de OXT en determinados sitios específicos del cerebro, podría también ser responsable del proceso de sensibilización o del comportamiento parental espontáneo o "aloparental en contextos no reproductivos" (Akther et al., 2013; Saltzman et al., 2017; Okabe et al., 2017; Olazábal et al., 2013, 2018).

3- Estrategias sociales y distribución de receptores oxitocina

En algunas especies de vertebrados, ambos progenitores muestran cuidados parentales; en otras tantas, sólo uno de ellos los realiza (por lo general la madre). Sin embargo, existen especies en las cuales los juveniles o adultos no progenitores (machos o hembras) del grupo social, también participan de los cuidados de las crías (Rosenblatt, 1967; Bridges, 1974; Mayer, 1983; Mota & Sousa, 2000; Olazábal & Young, 2005, 2006ab).

El comportamiento parental, es probablemente el comportamiento más "prosocial", si consideramos la inversión de energía que realizan los individuos para criar y proteger a la descendencia, incluso en muchos casos ajena. La contribución de animales no progenitores, es importante para la estabilidad de los grupos sociales en varias especies. Por ejemplo, la rata topo desnuda (*NMRs*, *Naked mole-rats*, *Heterocephalus graber*) es una especie eusocial en donde hembras y machos subordinados (llamados "*helpers*") no reproductores, contribuyen al cuidado de las crías, desplegando similar comportamiento a una hembra lactante, con la salvedad del amamantamiento (Kalamatianos et al., 2010). A este tipo de comportamiento desplegado por los ayudantes, se le conoce comúnmente como comportamiento aloparental (Olazábal et al., 2013). La presencia de animales juveniles recién destetados en el grupo familiar, está muchas veces asociado al cuidado "aloparental". La presencia de varios machos jóvenes o adultos en un grupo dependerá de si al llegar a la edad del destete estos se dispersan rápidamente o se quedan en el nido en forma transitoria y/o permanente. La presencia de estos ayudantes en una familia o grupo social, dependerá de la estrategia reproductiva de la especie (Hauber & Lacey, 2005; Schubert et al., 2009; Santema and Clutton-Brock, 2012; Barbosa & Da Silva Mota, 2013). Se hipotetiza que este comportamiento desplegado por los juveniles contribuiría a que el animal no se disperse de su territorio, ganando así mayor seguridad y recursos por más tiempo, así como experiencia parental y social para su vida adulta (Bridges et al., 1974; Mayer & Rosenblatt, 1979).

Sin embargo, nuestro laboratorio considera que el uso del término "aloparentalidad" ha sido muy ambiguo, creemos que habitualmente es confundido con el concepto de cría comunal y "*helpers*" en un

contexto reproductivo y por lo tanto a perdido utilidad académica. En sustitución, creemos se debe explicitar el contexto en el cual la parentalidad se realiza. En nuestro caso nos interesa estudiar las especies que presentan una predisposición parental intrínseca, es decir aquellas en las que tanto hembras y machos inexperimentados vírgenes despliegan cuidado parental en contextos no reproductivos. Esto implica por ejemplo que los individuos no sean previamente expuestos a fluidos u olores de hembras gestantes o parturientas. Este comportamiento es básicamente idéntico al desplegado por una hembra lactante (adopción de posturas de amamantamiento y/o de protección, acarreos, etc) pero excluye la lactancia en si misma (variable fisiológica) (Fleming & Rosenblatt, 1974; Olazábal et al., 2013ab). En la naturaleza, pocas son las especies en las cuales los machos inexperimentados pueden desplegar comportamiento parental en contextos no reproductivos, apareciendo en general en sistemas sociales complejos con actividades cooperativas, donde estos individuos serían también más tolerantes a otros miembros (incluso machos) del grupo e incluso tolerantes a nuevos inmigrantes, fomentando la estabilidad grupal y la cooperación con las actividades de cuidado de las crías si es necesario (Olazábal et al., 2013a). A su vez, existe variabilidad en la respuesta hacia los recién nacidos, entre individuos de un mismo sexo y de una misma especie. Ésto ha sugerido que la distribución de OXTR en el cerebro, influye en esta variabilidad intra e interespecífica, haciendo a algunas especies o individuos más propensos respecto a otros a mostrar conducta parental en contextos no reproductivos (Olazábal et al., 2013ab).

Mediante técnicas de autoradiografía se evidenció que en los cerebros de distintas especies e incluso a nivel intraespecífico y de desarrollo, existían diferencias en la densidad y distribución de los OXTR (Shapiro & Insel, 1989; Tribollet et al., 1992; Olazábal & Young, 2005, 2006ab; Olazábal, 2014). Por lo tanto, se hipotetizó que diferencias en la distribución de estos receptores podrían generar cambios importantes en la conducta de un individuo o especie. Estudios previos han sugerido que esta distribución tan diversa de los OXTR en el cerebro está asociada con el patrón de comportamiento social típico de las especies y podría ser uno de los mecanismos usados por la evolución para influenciar o moldear el

comportamiento social o reproductivo (Insel & Shapiro, 1992). Los OXTR están presentes en varias regiones cerebrales implicadas en la regulación de estos comportamientos, incluyendo el NAc (Li & Fleming, 2003b; Numan & Insel, 2003), el LS (Fleischer & Slotnick, 1978) y el MPOA (Numan & Insel, 2003), entre otros.

Oxitocina, monogamia y conducta parental

En el pasado, surgieron dos líneas de pensamientos diferentes, sobre el papel de los OXTR en el NAc. Por una lado, encontrábamos a dos grupos de investigadores, uno liderado por Sue Carter (Chicago, EEUU) y el otro liderado por Larry Young (Atlanta, EEUU), que apoyaban la idea de la OXT actuaba en el NAc de las hembras y que la AVP actuaba en el Pálido Ventral (VP) de los machos de *prairie voles* y de otras especies de mamíferos; mediando el establecimiento de la preferencia de pareja y la monogamia social (Carter et al., 1995; Young et al., 1998). Ellos manejaban la hipótesis que la OXT actuando en los OXTR del NAc de hembras, tenía un importante papel en los procesos de recompensa que fortalecían la monogamia social y que además también podrían facilitar otras respuestas afiliativas como ser el comportamiento maternal (Young & Wang, 2004; Ross & Young, 2009; Keebaugh & Young 2011). Freeman y Young (2013) en uno de sus trabajos, publicaron la hipótesis de que los circuitos que mediaban el comienzo del comportamiento maternal seguido al parto, habían sido reclutados para dar lugar a la preferencia de pareja. Para el caso de los machos, sugirieron que esta preferencia de pareja había sido desarrollada en el contexto del comportamiento territorial mediado por la AVP (Freeman & Young, 2013). Por tanto y en consecuencia de las hipótesis anteriores, la OXT no tendría un rol significativo en el comportamiento paternal en machos, al igual que tampoco la AVP jugaría un papel importante en el comportamiento maternal en hembras.

Por otra parte, el Dr. Olazábal, inició y continuó una línea de investigación contrapuesta, la cual establece que la presencia de altos niveles de OXTR en el NAc en una especie y/o individuo, sería una

adaptación intrínseca que promovería el despliegue de conductas parentales en animales vírgenes y en contextos no reproductivos (Olazabal, 2014).

Por otra lado, debemos de ser muy cautelosos a la hora de utilizar el término "monogamia", ya que se ha vuelto muy controversial desde los 1990's, cuando muchas especies de aves, de las cuales se presumían eran al menos un 90% monógamas (Lack, 1968), mostraron haber generado descendencia con individuos que no eran sus parejas (Bray et al., 1975; Quinn et al., 1987; Lifjeld et al., 1993). Trabajos más recientes cuestionan el contenido de ciertos términos ampliamente utilizados en este ámbito. Tecot y otros colegas (2016), propusieron un nuevo esquema de subdefiniciones para el término "monogamia", ya que en el pasado los conceptos de la "vida en pareja" y del "vínculo con la pareja", han sido fácilmente confundidos. En un intento de desenredar todos estos términos comúnmente confundidos "*pair-living*", "*pair-bonding*" y "*monogamous*", los autores propusieron definir a "*pair-living*": a dos adultos y su descendencia aún no madura reproductivamente, que se encuentran compartiendo un hogar; "*pair-bonding*": una relación social a largo plazo entre dos individuos del sexo opuesto y "*monogamy*": para un sistema de apareamiento y crianza con exclusividad sexual (Tecot et al., 2015; Díaz-Muñoz & Bales, 2016).

A continuación describiremos como fue la evolución del pensamiento e investigaciones respecto al hallazgo de OXTR en ciertas regiones del cerebro de distintas especies versus monogamia y aloparentalidad. Dada la importante relación de los sistemas OXT y AVP, es necesario estudiar la posibilidad de que el papel desempeñado por OXT en una especie determinada, pudiera ser reemplazado en otra por la AVP; ya que no se puede ignorar el importante papel que ésta también desempeña en la regulación de estos comportamientos (Wang et al., 1998; Song & Albers, 2017). La acción de AVP se ha asociado con la promoción del comportamiento parental y agresivo en varias especies (Delville et al., 1996; Wang et al., 1998; Nephew & Bridges, 2008; Bester-Meredith & Marle, 2012; Bosch & Neumann, 2012) y una distribución diferente de los V1AR en el cerebro, también se asoció como veremos a continuación, con diferentes estrategias reproductivas y sociales (Wang et al., 1998).

Distribución y densidad de OXTR, ¿Una adaptación a la monogamia social o a la aloparentalidad?

Inicialmente, los estudios comparativos encontraron diferencias importantes en la distribución de los OXTR y VA1R en el cerebro de mamíferos. En su momento se interpretaron estas diferencias entre especies, como un indicador de la organización social y la estrategia reproductiva ligada a la monogamia o la promiscuidad (Insel & Shapiro, 1992). Como mencionamos anteriormente Sue Carter y Larry Young entre otros, hipotetizaron que la acción de la OXT en el NAc de las hembras y de la AVP en el Pálido Ventral (PV) del macho, participarían en el establecimiento de la preferencia de pareja o monogamia social. En el año 2006, Olazábal y Young publicaron un estudio en hembras vírgenes adultas de *prairie voles*, que evidenciaba por primera vez que el NAc estaba involucrado en la regulación del comportamiento maternal "espontáneo" y que la OXT actuando sobre los OXTR en esta región, facilitaba las respuestas maternales (Olazábal & Young, 2006b). Las hembras vírgenes que fueron expuestas a crías por primera vez y desplegaron comportamiento maternal "espontáneo", tenían mayor densidad de OXTR en el NAc; respecto a las que fueron no maternales o atacaron a crías. Ninguna otra área cerebral analizada en dicho estudio difería significativamente respecto a la densidad de OXTR (Olazábal & Young, 2006b). A su vez, este mismo trabajo reveló que infusiones de antagonista de los OXTR en el NAc, "bloqueaban" ese comportamiento maternal "espontáneo".

A partir de estos descubrimientos comienza a considerarse que la acción de la OXT en el NAc sería parte de los procesos recompensantes que fortalecen el vínculo con la pareja y también facilitarían otras respuestas afiliativas tales como el cuidado parental (Olazábal & Young 2006ab). Sin embargo, hasta ese momento Young, Insel y Carter planteaban una diferencia sexual en el papel de la OXT y la AVP, en la que se proponía que la OXT jugaba un papel importante en la hembra pero no en el macho (Freeman & Young, 2013). Por otro lado Olazábal y otros autores (Bosch & Neumann, 2012), comenzaron a apoyar la idea de que tanto la OXT como la AVP jugarían un rol fundamental en la conducta parental, tanto en machos como en hembras de muchas especies.

Evidencias que apoyan el papel de la oxitocina en el NAc y la conducta parental

Varios estudios clásicos y otros comparativos recientes, no apoyarían la hipótesis de que la presencia de alta densidad de OXTR en el NAc de hembras y de V1aR en el PV de machos sea una adaptación a la monogamia social o unión de pareja. Uno de estos estudios encontró alta densidad de OXTR en el NAc de la rata subterránea africana, *NMRs*, siendo esta una especie no monógama (Kalamatianos et al., 2010). Más evidencia contradictoria surgió al estudiar los machos de otras especies consideradas no-monógamas, el ratón cantor (*Scotinomys teguina* y *Scotinomys Xerampelinus*) y el tuco-tuco (Beery et al., 2008), donde evidenciaron alta densidad de V1aR en el VP, supuestamente característica distintiva de machos monógamos (Campbell et al., 2009). Por otra parte, no se encontraron diferencias significativas entre la especie monógama *P. californicus* y la especie promiscua *P. maniculatus*, respecto a la densidad de V1AR en el VP de los machos; ambas con cantidades no despreciables de estos receptores (Insel et al., 1991). Tampoco se encontraron diferencias en la cantidad de OXTR en el NAc, entre las hembras el ratón de los pinos (*pine voles*) monógamo y del ratón de los pantanos (*meadow voles*) promiscuo (Insel & Shapiro, 1992).

Al día de hoy, sigue sin explicarse la presencia de alta densidad de V1aR en el VP de machos y de OXTR en el NAc de hembras en especies que no muestran monogamia social, por lo que la hipótesis alternativa (Olazábal, 2014) parecería la más probable. Esta hipótesis alternativa sugiere que la presencia de altas densidades de OXTR en el NAc, no sería una adaptación a la preferencia de una sola pareja o monogamia social; sino que todas las especies con altos niveles de OXTR en el NAc presentarían una atracción intrínseca a las crías, en particular los machos. Además estos individuos aparecerían en general en sistemas sociales complejos con actividades cooperativas, donde los diferentes individuos serían también más tolerantes a otros miembros (incluso machos) del grupo e incluso tolerantes a nuevos inmigrantes, fomentando la estabilidad grupal y la cooperación. Resumiendo entonces, en nuestra hipótesis alternativa, la OXT actuaría en esta región cerebral no solo promoviendo el comportamiento parental en contextos no reproductivos (principalmente en machos), sino que también

fomentando el establecimiento de relaciones sociales más estables (Olazabal, 2014) como veremos a continuación.

Sensibilización parental y densidad de OXTR en el NAc

Como mencionamos anteriormente, varias investigaciones encontraron que tanto machos como hembras juveniles de ratas (20-22 días de edad) expuestos a crías, mostraban comportamiento parental con latencias muy cortas, desde horas hasta 2 días (Bridges et al., 1974; Mayer & Rosenblatt, 1979ab; Brunelli et al., 1985). Sin embargo, esta latencia se alargaba a medida que el animal crecía. Es así que las ratas de 24-27 días de edad empezaban a tener respuestas neofóbicas y/o inhibitorias del comportamiento parental (Mayer & Rosenblatt, 1979). Años más tarde, diferentes estudios revelaron cambios respecto a la densidad y distribución de OXTR en los cerebros de las ratas al correr del desarrollo (desde juveniles a adultos), (Shapiro & Insel, 1989; Tribollet et al., 1992). Estos investigadores encontraron una reducción en la densidad de OXTR en la NAc en ratas a partir de los 20 días (Shapiro & Insel, 1989; Tribollet et al., 1992; Olazabal & Young, 2006a). Fue así que surgió la hipótesis de que la disminución de OXTR en el NAc en esta especie, podría estar relacionada con la disminución de la capacidad de respuesta parental observada avanzado el desarrollo (Olazabal & Young, 2006a). Los estudios llevados a cabo por Olazabal y Young (2006a), encontraron que una mayor densidad de OXTR en el NAc, se correspondía con una mayor preponderancia a mostrar una respuesta parental inmediata en hembras juveniles vírgenes de diferentes especies expuestas a crías por primera vez. Estos investigadores encontraron que esta densidad era alta en los juveniles de *prairie voles*, intermedia en ratas y casi indetectable en el ratón de laboratorio y el ratón de campo (*meadow voles*); correspondiéndose con diferencias en la respuesta hacia las crías, mayor en *prairie voles* y ratas, respecto al ratón de laboratorio y *meadow voles* (Figura 4). A su vez se encontró una correlación positiva entre la cantidad de tiempo que los juveniles permanecían en contacto con las crías y la densidad de receptores de OXT en el NAc (Olazabal & Young, 2006a). Más tarde, estos mismos investigadores

encontraron una variabilidad intraespecífica en hembras vírgenes de *praire vole* y lograron correlacionar también una mayor densidad de OXTR en NAc con la presencia de comportamiento maternal "espontáneo" (Figura 5; Olazábal & Young, 2006b). También encontraron que al realizar inyecciones de un antagonista de OXTR en la NAc, bloqueaban el comportamiento materno en las hembras adultas de *praire vole* (Olazabal & Young, 2006b). Por todo lo anterior se formuló la hipótesis de que la OXT, actuando en el NAc, podría aumentar la atracción hacia las crías facilitando la rápida inducción del comportamiento parental (Olazabal & Young, 2006ab). No está claro si este efecto es consecuencia de la liberación aguda de OXT en el NAc y/o el resultado de cambios en el desarrollo promovidos por la estimulación a largo plazo de los receptores (Keebaugh & Young, 2011).

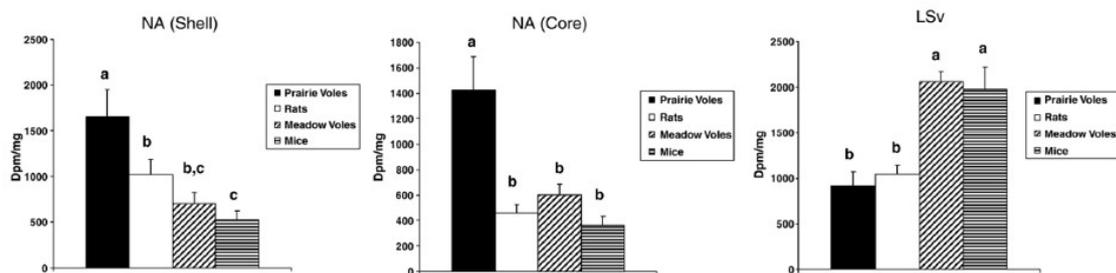


Figura 4.- Gráficos que ilustran la densidad de OXTR en el Núcleo Accumbens (NA) y en el Septo Lateral (LS) en las diferentes especies. Los datos se expresan como media \pm ES (los grupos que no comparten una letra difieren significativamente entre sí; valor- $p < 0.05$). Figura tomada de "Species and individual differences in juvenile female alloparental care are associated with oxytocin receptor density in the striatum and the lateral septum", Olazabal & Young, 2006a.

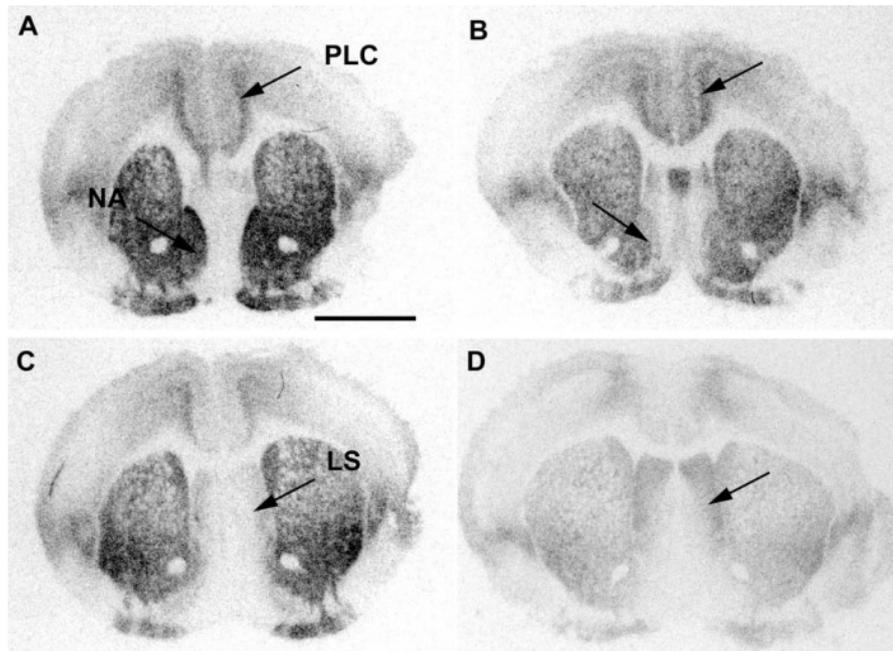


Figura 5.- Imágenes de secciones cerebrales de hembras de *prairie vole*, donde se evidencia la señal autorradiográfica para ^{125}I -OTA, para dos hembras espontáneamente maternas (A, C) versus dos hembras no maternas (B, D). La unión a los OXTR en el NAc, es claramente más alta en las hembras maternas (A, C) respecto a las no maternas (B,D). Lo inverso sucede para el caso del Septo Lateral (LS) mayor unión a los OXTR en hembras no maternas (B, D) respecto a hembras maternas (A,C). Figura tomada de "Oxytocin receptors in the Nucleus accumbens facilitate "spontaneous" maternal behavior in adult female prairie voles", Olazábal & Young, 2006b

Relación de la distribución y densidad de OXTR con las diferentes estrategias sociales y reproductivas de las especies

Posterior a las investigaciones de Olazábal y Young del 2006, otros investigadores hicieron hallazgos concordantes con la hipótesis alternativa ya formulada. En el 2008, Kalamatianos y colaboradores hicieron un estudio comparativo entre dos especies de ratas africanas con diferentes estrategias sociales y reproductivas, las ratas desnudas *NMRs* eusociales, formadora de colonias de hasta más de 300 individuos y las "*Cape Mole-Rats*", *CMRs* solitarias. Las *NMRs* están dominadas por una reina que copula con 1-3 machos (consortes) y el resto de los miembros subordinados no se reproducen y contribuyen al cuidado de los recién nacidos, forrajeo y mantenimiento de la colonia. En contraste, los *CMRs*, son solitarios e intolerantes con sus coespecíficos, excepto en temporada de

apareamiento y un mínimo de cuidado maternal. El resultado de la investigación fue el hallazgo de mayor densidad de OXTR en el NAc de las *NMRs*, respecto a las *CMRs* (Figura 6, Kalamatianos et al., 2010). En el año 2009, el grupo de Schorscher-Petcu encontró que los monos marmoset, una especie que vive en grupos familiares estables, con cuidado cooperativo de los recién nacidos y con flexibilidad sexual (forman unión de pareja pero no presentan exclusividad sexual), también tienen una alta densidad de OXTR en la NAc (Schorscher-Petcu et al., 2009). Song y otros investigadores en el año 2010, también evidenciaron que la mayoría de los machos de ratones *Microtus mandarinus*, muestran comportamiento parental. Esta es una especie descrita como monógama y biparental, que también presenta altos niveles de OXTR en el NAc, además de haberse encontrado mayores niveles de ARNm codificante para OXTR en NAc, asociado también a una mayor calidad de comportamiento parental (Song et al., 2010). Otra investigación encabezada por Wang encontró que la expresión y niveles de ARNm codificante para OXTR en el NAc de los ratones mandarín, era más alto en los nuevos padres, respecto a los machos vírgenes (Wang et al., 2015). Todos estos hallazgos reportados en la bibliografía en los últimos tiempos, apoyan la hipótesis de que altos niveles de OXTR en el NAc, no sólo contribuyen a facilitar la conducta de los padres, sino que sería una adaptación a ella en determinadas estrategias reproductivas y sociales. Además, es posible que altos niveles de OXTR en el NAc, también contribuyan a la tolerancia de otros miembros (incluso machos) del grupo y al mantenimiento de un grupo estable, donde otros miembros puedan cooperar con las actividades de cuidado si es necesario (Olazabal & Young, 2008; Schorscher-Petcu et al., 2009).

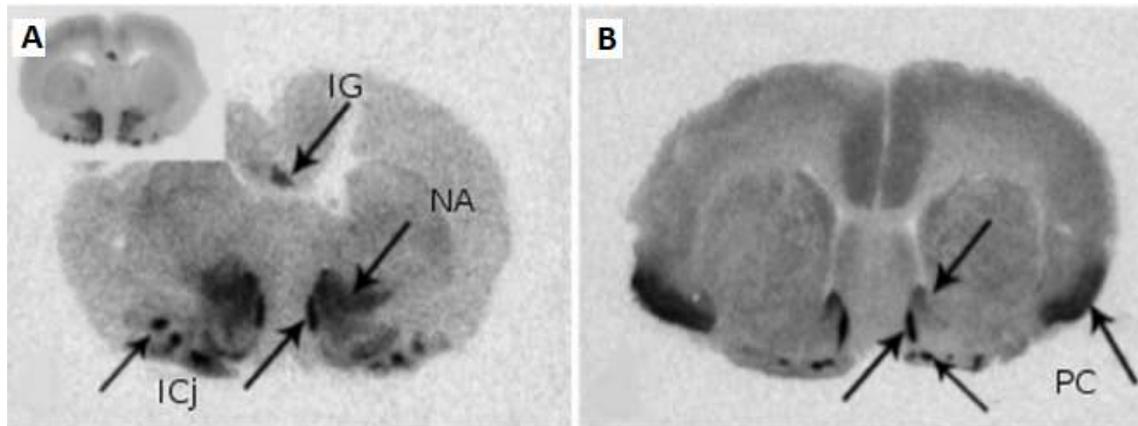


Figura 6.- Imágenes de secciones cerebrales de las *Naked Mole-Rats* (A) y las *Cape Mole-Rats* (B), donde se evidencia la señal autorradiográfica para 125I-OTA, a nivel del Núcleo Accumbens (NA), isla de Calleja (ICj), Indusium griseum (IG) y corteza piriforme (PC). Nótese mayor densidad de OXTR en el NA de las NMRs (A) respecto a CMRs (B). Figura tomada de "Telencephalic binding sites for oxytocin and social organization: a comparative study of eusocial naked mole-rats and a solitary cape mole-rats", Kalamatianos et al., 2010.

Por lo antes expuesto, se hipotetizó que la OXT podría estar actuando en el NAc para promover la atracción hacia las crías y fortalecer los lazos con otros miembros del grupo, mientras que en otras regiones del cerebro podría actuar para reducir el estrés y/o la ansiedad o aumentar el comportamiento agresivo contra los intrusos. En este sentido, críticas recientes de algunos autores (Anacker & Berry, 2013) a la hipótesis del establecimiento de unión de pareja o monogamia social, consideran que la OXT en otras áreas cerebrales, tales como el LS, facilitaría la vida en grupos. Los OXTR en el LS son muy variables entre especies y también podrían influir en la respuesta conductual hacia las crías u otros estímulos sociales (Anacker & Berry, 2013). Tal vez, los OXTR en el LS podrían contribuir a reducir la inhibición a mostrar el comportamiento maternal en contextos específicos o para acercarse a otros individuos fomentando las interacciones sociales (Olazábal & Young 2006a; Olazabal, 2014). A su vez, los OXTR en el LS podrían estar implicados en la regulación de la ansiedad o respuestas defensivas (Kendrick, 2013; Anacker & Beery, 2013).

Debemos tener en cuenta que la densidad de los OXTR en más de un área del cerebro, seguramente nos pueda revelar más información en relación a la estrategia reproductiva y social

específica de una especie, que el análisis unitario de cada área. Además, debemos considerar que mientras que en ciertas especies la densidad de OXTR permanece estable en ciertas regiones cerebrales (Olazábal, 2018), en otras, experimentan fluctuaciones importantes en respuesta por ejemplo a los estrógenos u otros factores pudiendo entonces influir sobre el comportamiento (Insel & Shapiro, 1992; Dumais et al., 2013; Olazábal, 2014).

4- Diferencias intra e interespecíficas en la regulación de oxitocina y OXTR por las hormonas gonadales. Relevancia para el comportamiento parental y social

Numerosas investigaciones han revelado que la densidad y distribución de OXTR en las distintas áreas del cerebro puede variar (tanto a nivel individual como de especie) o mantenerse estable a lo largo de la vida (Insel et al., 1991; Insel & Shapiro, 1992; Dumais et al., 2013; Olazábal, 2014). Esto es particularmente importante para comprender el mecanismo que podría haber evolucionado en las diferentes especies para promover determinadas estrategias reproductivas y/o sociales (Insel & Shapiro, 1992; Olazábal & Young, 2006ab; Dumais et al., 2013; Olazábal, 2014; Anacker & Beery, 2013). La forma en que el patrón de liberación de OXT se adapta a esos cambios transitorios o permanentes en la expresión del receptor dentro o entre especies aún no se comprende bien, pero sigue siendo un tema de investigación y debate.

Es de conocimiento que el tratamiento con estrógenos, aumenta la producción de OXT y OXTR en el cerebro de varias especies (Gimpl & Fahrenholz, 2001; Caldwell et al., 1989; De Vries, 2008). Sin embargo, los efectos de las hormonas gonadales y las diferencias sexuales sobre la síntesis de OXT y OXTR difieren entre las especies y áreas del cerebro (Dumais et al., 2013; Olazábal & Alsina-Llanes, 2016). Por ejemplo se ha encontrado importante dimorfismo sexual respecto a la densidad de OXTR en los cerebros de ratas, pero no en las ratas topo desnudas *NMRs*, ni en los *prairie voles* (Kalamatianos et al., 2010; Olazabal & Young, 2008; Dumais et al., 2013; Olazábal & Alsina-Llanes, 2016). Son pocas las diferencias sexuales encontradas en ratones comunes, los machos tienen mayor densidad de OXTR en

el vLS respecto a las hembras; mientras que en éstas últimas, aumenta la densidad de OXTR en el Hipotálamo Ventromedial (VMH) respecto a machos, sólo en la etapa de proestro (Dumais et al., 2013; Olazábal, 2018). En el caso de las ratas se encontraron más diferencias, por ejemplo, los machos tenían mayor densidad de OXTR en la Amígdala Medial (MeA) posterior y en VMH; mientras que las hembras tenían mayor cantidad de estos receptores en LS intermedio y CPu posterior. A su vez las hembras en proestro, tenían mayor densidad de OXTR en el VMH (similar a hembras de ratón en esta etapa del ciclo estrogénico) y MPOA, respecto al macho (Dumais et al., 2013).

El VMH es una región del cerebro que ha sido relacionada con la inhibición del comportamiento parental (Bridges et al., 1999; Sheehan et al., 2001). A su vez, esta es un área donde los OXTR aumentan, en muchas especies, en respuesta a fluctuaciones de las hormonas gonadales y en la etapa posterior al parto. Por lo tanto se podría hipotetizar que un aumento en la densidad de OXTR en esta área, podría estar jugando un papel desinhibitorio sobre la expresión de la conducta maternal (McCarthy, 1995; Olazábal & Alsina-Llanes, 2016).

Existen también evidencias que señalan que la expresión de OXTR en las diferentes áreas del cerebro puede aumentar, disminuir o permanecer sin cambios durante el desarrollo (Shapiro & Insel, 1990; Tribollet et al., 1992; Olazábal & Young, 2006b; Dumais et al., 2013; Olazábal & Alsina-Llanes, 2016). Estos cambios podrían explicarse por las diferencias en la susceptibilidad al efecto de las hormonas gonadales y/o por la impronta genética propia de cada especie, independientemente de los cambios hormonales. Por ejemplo en ratas, entre el período del destete a la etapa de adultez, hay una reducción en la densidad de OXTR en el NAc; cambios no compartidos por ejemplo en ratones (Olazábal & Alsina-Llanes, 2016). Por otro lado en el VMH, hay un aumento en la densidad de OXTR tanto en ratas como en ratones hacia la adultez (Sheehan et al., 2001; Olazábal & Alsina-Llanes, 2016; Vaidyanathan & Hammock, 2017). Finalmente, otras áreas del cerebro como ser la Amígdala Central (CeA), permanecen sin cambios en ambas especies (Shapiro & Insel, 1989; Olazábal & Alsina-Llanes, 2016; Smith et al., 2017; Vaidyanathan & Hammock, 2017).

5- Estrategias reproductivas y sociales en dos especies de roedores: *Peromyscus californicus* y *Rhabdomys pumilio*

Antes de entrar en detalle sobre lo que sabemos de estas dos especies, creo importante destacar que la existencia de diferencias en inversión parental desplegada por machos o hembras, ha llevado a muchos investigadores a considerar a la mayoría de las especies como no paternas. Esto se debe a que el cuidado paterno y la biparentalidad a menudo se asocian con la monogamia social (Winslow et al., 1993). Sin embargo machos de especies "promiscuas" o "uniparentales" suelen también desplegar comportamiento paternal (Alsina-Llanes & Olazábal, 2018). Es entonces más apropiado separar conceptualmente las estrategias sociales o reproductivas de cada especie del comportamiento desplegado por los machos ante la exposición a las crías. Ejemplos de esto es el ratón de laboratorio, especie considerada "promiscua", pero en la que los machos claramente despliegan comportamiento paternal durante el postparto cuando se les observa en el laboratorio. Estos machos pueden cohabitar con las hembras en el nido y sin embargo no son consideradas especies biparentales o en todo caso multiparentales (Gandelman et al., 1970; Schradin & Pillay, 2004; Olazábal, 2018; Alsina-Llanes & Olazábal, 2018). Como discutiremos más adelante, numerosos trabajos han evidenciado cuidados parentales y "aloparentales" por parte de machos y hembras de especies no monógamas (Schubert et al., 2009; Mackay et al., 2014; Olazábal, 2014).

Peromyscus californicus

El género *Peromyscus* incluye más de 50 especies y dada su variabilidad, es un grupo muy atractivo para estudiar la evolución de las conductas sociales y de apareamiento (Carleton, 1989). Este género está ampliamente distribuido en América del Norte y Central (Kirkland & Layne, 1989). La monogamia social y particularmente la monogamia con exclusividad sexual en las poblaciones y especies de *Peromyscus* son relativamente raras (Wolff, 1989).

Una de las especies monógamas del género *Peromyscus* mejor estudiadas es *P. californicus*, comúnmente llamados "ratones de California", que viven en el centro y sur de California (Estados Unidos). Estos roedores son nocturnos, con períodos de actividad máxima cerca del anochecer hasta el amanecer, son bastante sedentarios y pasan gran parte de su tiempo en sus nidos. Esta especie habita en chaparrales, bosques de coníferas y robles, matorrales de salvia costera y en bosques de laurel y madera roja (McCabe & Blanchard, 1950; Merritt, 1974). A menudo viven en agujeros y grietas naturales, pero también pueden usar madrigueras de otros animales o nidos de palo contruidos por ejemplo por ratas (McCabe & Blanchard, 1950). Su pelaje es largo y laxo; su color varía, pero se distingue un dorso oscuro y lateral mucho más pálido, vientre casi blanco, excepto la base de la cola que es rojiza y presenta patas de color blanco (Figura 7; Osgood, 1909). En general son de cuerpos grandes, pesan entre 33.2 a 54.4 gr (Grinnell y Orr, 1934; Smith, 1979; Gubernick & Alberts, 1987), tienen orejas muy grandes, con una cola más larga que su cabeza y cuerpo (Osgood, 1909). El ratón de California se alimenta de frutos de arbustos, semillas y flores. Otros alimentos importantes son los hongos, endospermo y cantidades menores de bayas, artrópodos y tallos herbáceos (Grinnell & Orr, 1934; Osgood, 1909).



Figura 7.- Ratón de California (*Peromyscus californicus*). Se encuentran en la costa de California, al sur de la Bahía de San Francisco, a lo largo de la vertiente suroeste de Sierra Nevada y en Baja California. Son los ratones más grandes del género *Peromyscus* de patas blancas, con orejas grandes y una cola particularmente larga. Tienen un sistema de reproducción fuertemente monógamo a diferencia de la mayoría de los mamíferos pequeños. Los ratones machos muestran comportamiento paterno en diferentes contextos. Esta es una muestra cautiva fotografiada en Riverside, CA (figuras tomadas de internet, <http://faculty.ucr.edu/~chappell/INW/mammals/Calmouse.shtml>)

Los machos y las hembras forman vínculos a " largo plazo", siendo este un término relativo ya que esta especie tiene una vida de entre 9-18 meses. La temporada de reproducción generalmente comienza con el inicio de las lluvias de invierno en noviembre y se extiende hasta los meses secos de verano (Ribble, 1991). El número promedio de crías por camada es 2.35 (Svihla, 1932; McCabe & Blanchard, 1950; Ribble, 1992b). El período de gestación de *P. californicus* oscila entre 21-23 días (Svihla, 1932). Las hembras amamantan a sus crías por un período más prolongado que otros *Peromyscus*, siendo los jóvenes destetados alrededor de 5 a 6 semanas (35-42 días), dispersándose varias semanas más tarde (promedio 77.5 días) para establecer un nuevo territorio (Svihla, 1932; McCabe & Blanchard, 1950).

La organización social, el sistema de apareamiento y el cuidado biparental de *P. californicus* tienen aspectos similares a muchas aves que viven en pareja con una gran contribución de cuidado parentales por parte de los machos (Birkhead & Moller, 1996; Black, 2001; Haggerty et al., 2001; Quillfeldt et al., 2001). Recientes experimentos de campo sugieren que el cuidado del macho sería importante para la supervivencia de la descendencia, particularmente en condiciones ambientales frías o cuando los padres necesitan forrajear para obtener alimentos (Ribble, 2003).

En condiciones naturales, los machos viven en promedio 342.2 días ($ES \pm 97.2$) y las hembras 280.9 días ($ES \pm 124.0$), pero no es raro que los machos y las hembras que logran reproducirse vivan más de un año (Ribble, 1992b). Se considera que alcanzan la edad adulta entre los 161-231 días de edad (Horrel et al., 2017). Los machos de *P. californicus* tienden a tener rangos de distribución más grandes que las hembras, pero a diferencia de la mayoría de *Peromyscus*, estos machos tienen una superposición intrasexual muy pequeña (Wolff, 1989; Ribble & Salvioni, 1990). Las parejas permanecerían juntas mientras ambos miembros de la pareja estén vivos, cambiando sólo a un nuevo compañero si muere el otro integrante de la pareja (Ribble, 1991). Mediante técnicas con ADN se analizaron numerosas familias de esta especie en condiciones naturales, durante un período de dos años (27 familias, con 99 descendientes), resultando todas parejas con exclusividad de apareamiento (Ribble,

1991). No se detectaron casos de paternidad múltiple y los cambios de pareja ocurrieron sólo después de que un miembro de un par desapareció o murió. Esta es la primera demostración convincente de la monogamia exclusiva en un mamífero (Ribble, 1991). Por lo tanto, basándose en los patrones de asociación y exclusividad de apareamiento, *P. californicus* es monógamo, tanto social como sexualmente (Gubernick & Alberts, 1987, 1989; Ribble, 1991; Ribble, 1992a).

Eisenberg (1963) combinó sus datos de laboratorio con datos de campo, sumados a los estudios de laboratorio de Svihla (1932) y McCabe & Blanchard (1950), para proporcionar un cuadro de la organización social de *P. californicus*. Los machos son agresivos el uno hacia el otro y emplean una técnica de lucha caracterizada por muchos saltos y evasión, acompañado por un "grito de chillido" para inhibir el comportamiento agresivo de otro individuo. *P. californicus* es más fuertemente territorial que *P. maniculatus* (especie polígama) y tanto los machos como las hembras defienden el nido (Eisenberg, 1963).

Las crías de *P. californicus*, abandonarían su hábitat natal ya siendo juveniles, antes del nacimiento de la siguiente camada, por eso refieren a esta especie como formadora de pequeños grupos semipermanentes (Ribble, 1990; 1992b). En esta especie, los padres reproductores casi nunca se mueven y la única oportunidad para que se reproduzca su descendencia en ese rango de hogar natal medido por radioteleetría, ocurriría sólo cuando sus progenitores mueren (Ribble, 1990). Se realizaron a su vez estudios de campo que revelaron que una vez que los descendientes abandonaban su nido, los patrones de dispersión dependerían del sexo. Las hembras serían más dispersivas y a mayores distancias que los machos (estos serían más filopátricos) por tanto, habrían diferentes factores que afectarían a cada sexo (Ribble, 1992b). Ni el promedio de edad de la primera reproducción (250 días) ni la supervivencia serían diferentes entre sexos (Ribble; 1990). En el caso de los machos, la única asociación significativa encontrada entre la filopatría y las distancias de dispersión fue el tamaño de la camada; machos de camadas más grandes tenderían a dispersar mayores distancias que los de camadas más chicas. Una posible explicación a esto, podría ser la competencia por los recursos (Waser,

1985; Keane, 1990). En contraste, las distancias de dispersión en las hembras son significativamente mayores para camadas en donde dos hembras sobrevivieron hasta la edad de dispersión, respecto a aquellas camadas en donde una sola hembra llega a esta edad. En el estudio realizado por Ribble en el año 1992, los resultados mostraron que la diferencia en las distancias de dispersión de las hembras con hermanas de camada, era mayor que cuando eran hembras únicas (Ribble, 1992). Los resultados de este estudio sugirieron que las hembras se dispersan por competencia reproductiva intrasexual (Ribble & Salvioni, 1990; Ribble, 1991; Ribble, 1992b). Existe cierta evidencia que sugeriría que en *P. californicus*, los machos ganarían acceso a las hembras indirectamente por la monopolización de los recursos (Merritt, 1974; Cranford, 1982). Los machos usualmente se establecerían primero en el hogar que a futuro será donde ocurriese la reproducción y luego llegaría la hembra (Ribble, 1992). La dispersión con sesgo femenino es inusual para los mamíferos, pero es más común entre las aves que se presumían socialmente monógamas (Greenwood, 1980, 1983).

El cuidado paterno ha sido ampliamente documentado con grabaciones en el laboratorio (Gubernick & Alberts, 1987, 1989). Los machos exhiben todas las actividades parentales en la misma medida que las hembras progenitoras, salvo la lactancia (Gubernick & Alberts, 1987). En mamíferos "biparentales" los factores que facilitan el inicio de la conducta paternal no se conocen bien. Si bien los cambios hormonales en los padres pueden desempeñar un papel importante, los machos vírgenes sin experiencia previa cuidan a las crías si son expuestos a ellas (de Jong et al., 2013). Diferentes estudios realizados por Perea-Rodríguez y cols. (2015), Horrell junto a Saltzman y demás cols. (2017), encontraron que machos adultos vírgenes sin experiencia previa, al exponerlos a crías desconocidas, eran tan parentales como los machos progenitores, diferían solo en componentes específicos de su respuesta, como ser mayores latencias a desplegar el comportamiento y mayor tiempo de investigación hacia las crías (Perea-Rodríguez et al., 2015; Horrell et al., 2017). El breve contacto con los recién nacidos ya era suficiente para desplegar el comportamiento paterno en los machos vírgenes de *P. californicus* (Horrell et al., 2017).

Estos hallazgos entonces, sugieren que los machos adultos vírgenes, sin experiencia sexual ni parental previa, muestran cuidado parental fuera de contexto reproductivo (son aloparentales). En resumen esta especie sería monógama exclusiva, parental en contextos no reproductivos, muy agresivos y territoriales, que vive en grupos bastante pequeños semipermanentes (progenitores con su pequeña camada hasta poco tiempo después de su destete).

Un estudio de Insel, Shapiro y demás colaboradores (1991), aunque poco detallado, reveló la distribución de OXTR en algunas áreas del cerebro de dos especies distintas de *Peromyscus*; *P. californicus* y *P. maniculatus*, con la hipótesis que la OXT podría actuar en el cerebro de éstos, para mediar las diversas formas de comportamiento afiliativo (monógamo versus polígamo respectivamente). Si bien se evidenciaron áreas con marcadas diferencias de densidad y distribución de OXTR, como ser las vías olfativas, Bed Nucleus de la Estría Terminal (BNST), dLS, Amígdala, Hipocampo (Hipp) y varias regiones corticales; no se investigaron otras áreas de interés para nuestra investigación como por ejemplo el NAc. A su vez, de las áreas investigadas en *P. californicus* en general, no presentaron dimorfismo sexual, salvo en el BNST posterior, en donde los machos presentaban mayor densidad de OXTR que hembras (Insel et al., 1991). En la siguiente figura se presentan los resultados previos publicados a nuestro proyecto, referente a la distribución de OXTR en la especie *P. californicus* (Figura 8).

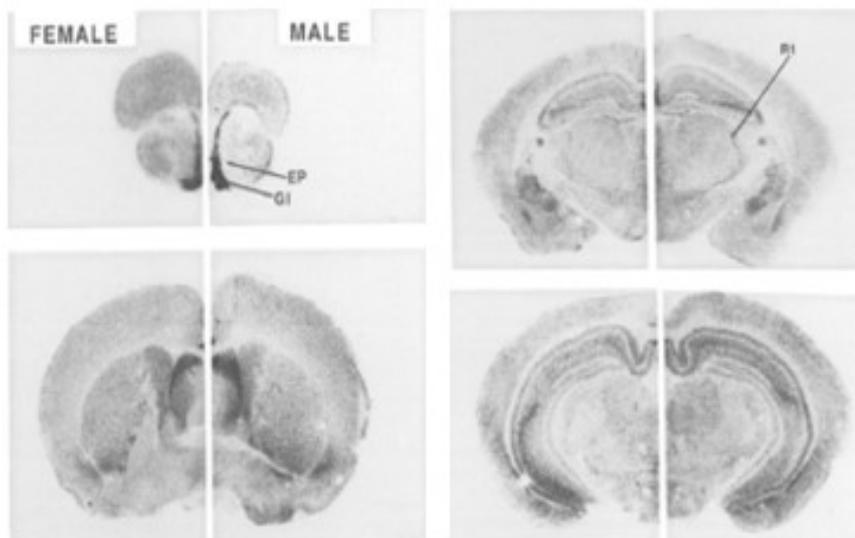


Figura 8.- Autorradiogramas de unión a (125 I)-OTA en cerebros de *P. californicus*. Son exhibidas secciones de hembras y machos. Figura tomada de "The comparative distribution of forebrain receptors for neurohypophyseal peptides in monogamous and polygamous mice". Insel, Gelhard y Shapiro. Neuroscience Vol. 43, No. 2/3, pp. 623-630, 1991.

Rhabdomys pumilio

El ratón *R. pumilio*, es comúnmente conocido como el "ratón a rayas" (*Striped Mouse*), debido a que el animal presenta cuatro rayas oscuras en su dorso separadas por tres rayas más claras, a veces incluso blancas (Figura 9). Es probablemente el roedor más común del sur de África y es un animal de interés para el estudio de los distintos aspectos del comportamiento social, el cuidado paterno, la vida en grupo, la cría comunitaria y la flexibilidad social (Schradin et al., 2012; Schradin et al., 2013). Este género puede vivir en una amplia gama de hábitats diferentes, ya sean prados verdes y húmedos, zonas de montaña, borde de bosques, como así también en desiertos (Namib) y en semi desiertos como es para el caso del Karoo Succulento, donde fue estudiado ampliamente y de donde provienen los cerebros de nuestros animales para su análisis (Schradin et al., 2012; Schradin et al., 2013).

R. pumilio es una especie de roedor diurno, en la que los adultos llegan a pesar desde 40 a más de 70 gramos en individuos de vida libre (Rymer & Pillay, 2013). Son reproductores estacionales, con actividad de reproducción aparentemente vinculada a las épocas de lluvia y a la disponibilidad de recursos (Taylor & Green, 2009). Es una especie anual, por lo general tienen una sola temporada de cría y morirían antes de alcanzar la siguiente (Schradin et al., 2013). Las hembras tienen un estro postparto de aproximadamente 7 días, un poco más largo que la mayoría de los roedores (Choate, 1972) con períodos de gestación de 26 días en promedio (algo más largo que la mayoría de las especies de roedores que oscila entre 21-24 días) y un tamaño medio de camada de 5 individuos, con intervalos reproductivos de aproximadamente 27 días entre ellas (Nel, 1975).



Figura 9.- El ratón de cuatro rayas se encuentra ampliamente distribuido en Sudáfrica. Son activos durante el día. Se identifica fácilmente por las 4 franjas longitudinales oscuras que recorren la longitud de su dorso. Las superficies superiores de los pies son generalmente de un color más claro que el cuerpo. Las colas pueden ser más cortas o iguales a la longitud del cuerpo. El tamaño corporal promedio varía en diferentes áreas geográficas. Fotos en Intaka Island Wetland Reserve, South Africa. [photo Trevor-Hardaker ©]. Figura tomada de internet: http://www.biodiversityexplorer.org/mammals/rodentia/rhabdomys_pumilio.htm".

Mediante investigaciones con recopilación de datos de campo con trampas, observaciones directas, rastreo de radio-telemetría y filmaciones dentro del nido, Schradin y otros investigadores durante varios años describieron algunos aspectos del sistema social del ratón de cuatro rayas que habita en el Karoo suculento (semidesierto de Sudáfrica) y en otras zonas de pastizales. Mediante estas técnicas, evaluaron además de la atención paterna, la vida grupal, el anidamiento comunal y las tácticas alternativas de reproducción (Schradin et al., 2009; Schradin et al., 2010; Schradin et al., 2012). Tanto machos como hembras pueden seguir una de tres tácticas reproductivas alternativas (*ARTs*): vivir como ayudante adulto no reproductivo en un grupo; vivir como criador solitario ó vivir como criador en un grupo (Schradin, 2008; Schradin et al., 2010; Schradin & Yuen, 2011; Schradin & Lindholm, 2011; Schoepf & Schradin 2012; Schradin et al., 2012; Schradin et al., 2013; Hill et al., 2015). Schradin y colaboradores sugieren que la especie muestra flexibilidad social según la densidad de población y la competencia reproductiva; es decir machos y hembras cambiarían su organización social y estrategias de apareamiento en respuesta a estas variables (Schradin et al., 2010; Schradin et al., 2012; Schoepf & Schradin, 2013). Estudios de campo en el Karoo suculento (2001-2009), evidenciaron que en la temporada previa a la reproducción (dos meses antes) y en la temporada posterior a ella, casi todos los individuos optaban por la vida en grupo, hipotetizando que esto era debido a la falta de competencia reproductiva. No ocurría lo mismo en la temporada de cría, donde estos investigadores encontraron animales que también podían vivir en grupos pequeños o solitarios (Schradin et al., 2010). Según estos autores, los grupos sociales serían algo inestables en época de reproducción, pero ni la abundancia de alimentos, ni la temperatura ambiente, ni la depredación diferencial, tendrían impacto significativo sobre la socialidad de estos individuos (Schradin et al., 2010).

Los grupos son por lo general formados por parientes cercanos y serían estables en temporada no reproductiva. Sólo en caso de, por ejemplo, una alta mortalidad de sus parientes volverían a rearmar los grupos con la salvedad de que si sus parientes cercanos ya no están, se reunirán con otros ratones no emparentados para afrontar el invierno (Hill et al., 2015). Si bien presentan cría comunal, se ha

observado incidencia de competencia reproductiva entre hembras comunales en temporada de cría, desplegándose un aumento de agresividad hacia sus hermanas e incidencia de infanticidio (Schradin et al., 2010). Para el caso de los machos, según estudios realizados por Schradin y otros investigadores (2009), la masa corporal tendría también una incidencia en la forma de vida adoptada. Mientras los machos más grandes se convertirían en reproductores, los medianos se convertirían en paseadores solitarios y los más chicos serían los filopátricos (Schradin et al., 2009). Sin embargo, la distribución de los machos estaría estrechamente relacionada con la distribución espacial de las hembras. Cuando las hembras forman grupos, el macho más grande se transformaría en reproductor, defendiendo el harén dentro de un territorio relativamente pequeño; cuando las hembras son solitarias, los machos adoptarían una estrategia de recorridas en busca de encuentros reproductivos, sin permanecer con la hembra que copuló y por lo tanto no participando de los cuidados parentales (Schradin, 2008; Schradin et al., 2009).

En pastizales húmedos, caracterizados por una estación de cría de 6 meses y baja densidad de población, se ha observado predominantemente una forma de vida solitaria (Schradin & Pillay, 2005a). Las hembras defienden territorios contra otras hembras, mientras que los machos siguen una táctica itinerante (*roaming*), teniendo rangos de hogar dos veces más grandes que el de las hembras. Los rangos de hogar masculinos se superponen con los territorios de varias hembras y el territorio de cada hembra se superpone con los de varios machos (Schradin et al., 2010; Schoepf & Schradin, 2012). Machos y hembras solamente se juntan para aparearse, pudiendo estas últimas aparearse con varios machos (Perrin, 1980; Schradin & Pillay, 2005b).

Por el contrario, los ratones rayados en el semidesierto Karoo suculento (África) muestran un sistema de poliginia de defensa del harén, que se caracteriza por una corta temporada de cría de 3 meses y una alta densidad de población (Schradin & Pillay, 2005ab). Grupos de hasta cuatro hembras reproductoras cooperativas son defendidos por uno o dos machos territoriales reproductores (Schradin, 2004; Schradin & Pillay, 2004). Machos y hembras de un grupo comparten un territorio y tienen hogares con rangos de tamaño similar (Schradin & Pillay, 2004; 2005a). A diferencia de los machos itinerantes de

los pastizales, los machos de los semidesiertos invierten mucha energía en la defensa del grupo, en particular "patrullando" en su territorio, a su vez muestran comportamiento paternal y son muy tolerantes y amigables con individuos de su grupo (Schradin, 2004; Schradin & Pillay, 2005a).

Los ratones maduran sexualmente cuando tienen sólo alrededor de 6 semanas de edad y tienen un peso corporal de 25 g, aunque todavía crecen durante varias semanas hasta que alcanzan un peso corporal de 40-50 g. (Schradin, 2008; Schradin et al., 2010; 2012). El comportamiento social que en general adopta esta especie sería de recolectores solitarios que viven en grupos territoriales con cría comunal y serían multiparentales (Schradin & Pillay, 2003). Estos grupos cuentan con 1-4 hembras reproductoras y por lo general un macho reproductor dominante que proporciona cuidados paternos (Schradin & Pillay, 2004). Pueden llegar a encontrarse hasta treinta individuos adultos luego de la temporada de cría (es decir, individuos reproductores y su descendencia adulta). Todas o la mayoría de las hembras adultas de un grupo que dan a luz, crían a su descendencia juntas (Schradin, 2008; Schradin et al., 2010; 2012; Schoepf & Schradin, 2013). Cada grupo vive en un nido dentro de un denso arbusto, del cual emergen los diferentes individuos del grupo a la salida del sol en la mañana, donde se disponen por lo general en contacto cuerpo a cuerpo, luego forrajean solitariamente en las proximidades, siendo amigables entre individuos de un mismo grupo, pero muy agresivos con integrantes de otros grupos (Schradin & Pillay, 2003). A la tarde, cuando ya está por bajar el sol, los individuos del grupo se reúnen frente a su nido, metiéndose luego dentro del denso arbusto para pasar la noche y emerger del mismo al día siguiente. Diferentes investigaciones de campo realizadas por Schradin y otros colegas, realizaron grabaciones de video dentro de nidos naturales; mostrando que los machos reproductores dormían con el resto del grupo y mostraban cuidado parental en el nido. Por lo tanto, se concluyó que previas observaciones que describían atención paterna en cautividad (Schradin & Pillay, 2003), no eran artefactos de laboratorio, sino que también ocurrían en la naturaleza. Además de los padres que despliegan cuidados parentales, los demás congéneres, juveniles filopátricos de ambos sexos, permanecen en el nido comunal incluso hasta la edad adulta, contribuyendo al cuidado de sus hermanos

(Schradin & Pillay, 2003; Schubert et al., 2009). Curiosamente, estos descendientes normalmente no comienzan a reproducirse, incluso cuando son sexualmente maduros y la temporada de cría no ha terminado todavía (Schubert et al., 2009). Estudios moleculares realizados en condiciones naturales (Karoo suculento) en un período de tres años (2004-2007), revelaron que dentro de los grupos existía paternidad múltiple, donde prevalecía la paternidad del macho reproductor del harén con aproximadamente un 65%, pero también encontraron un 21% de descendencia de machos reproductores de grupos vecinos, 6% de machos itinerantes, 7% de padres desconocidos y solo un 1% de machos filopátricos, demostrando su escasa reproducción dentro de su grupo (Schradin et al., 2010). Este estudio también sugiere mayor participación de individuos ajenos al grupo social que logran aparearse con hembras progenitoras del harem; por tanto la defensa del grupo y en particular de estas hembras reproductoras por parte del macho progenitor, no sería tan efectiva como fue propuesto anteriormente. El ratón a rayas, independientemente de la edad, provee cuidado paternal en contexto reproductivo y comunal, tanto en la naturaleza y en cautividad, según investigadores como Pillay y Schradin (Schradin & Pillay, 2004). Los ayudantes o "*helpers*" trabajan en defensa, construcción del nido, alimentación y termorregulación de las crías, según su edad (Rymer & Pillay, 2013; Schradin & Pillay, 2004; Schradin & Pillay, 2005). Estos ayudantes juveniles o subadultos, alivianan diferencialmente el trabajo materno, siendo los subadultos los que imparten mayores cuidados parentales y reducen en mayor medida los niveles de atención materna hacia sus crías (Schubert et al., 2009). En estudios con cámaras nocturnas, también se observaron individuos en "alerta", para proteger la camada de presuntos depredadores (Rymer & Pillay, 2012; Schradin & Pillay, 2004; Schradin & Pillay, 2005ab).

En resumen la especie *R. pumilio* mostraría flexibilidad social, aparentemente debido a la densidad poblacional y a la competencia reproductiva. Sin embargo su comportamiento es claramente propenso a la promiscuidad reproductiva y a la vida en grupos. Los ratones a rayas que habitan el Karoo suculento y de los cuales nos han enviado las muestras para nuestro estudio, pueden describirse como formadores preferenciales de grupos, con nido comunal, con forrajeo solitario, son polígamos, con

machos reproductores territoriales y con presencia de cuidado paternal y "helpers" en el nido. Hasta el momento y con la información de estudios disponibles, esta especie sería aloparental sólo en contextos reproductivos. Al día de la fecha no contamos con estudios conductuales precisos que indiquen cuál es la respuesta comportamental de los machos vírgenes inexperimentados al exponerlos a las crías en contexto no reproductivo. Los estudios que expusieron crías a machos adultos a campo abierto, lo hicieron asumiendo que estos machos eran progenitores experimentados y estaban cuidando crías en su nido para ese momento (Schradin & Pillay, 2003). A su vez los estudios en cautiverio que testearon comportamiento paternal, también fueron con machos con experiencia parental previa y en un contexto reproductivo; por tanto se desconoce la respuesta de estos machos o hembras a crías, en un contexto no reproductivo y sin experiencia sexual previa (Schradin & Pillay, 2003).

Justificación

Nuestro grupo de trabajo ha propuesto que las especies que viven en grupos sociales complejos o familiares, donde otros miembros no reproductores (machos y hembras) cooperan con el cuidado de las crías, podrían tener adaptaciones cerebrales para promover o facilitar esas respuestas. Una de esas adaptaciones sería la presencia de alta densidad de receptores de OXTR en el NAc. A su vez otros autores y algunos resultados previos de nuestro laboratorio, sugieren que la densidad de OXTR en el LS estaría relacionada al nivel de territorialidad o agresividad de la especie, en particular hacia individuos de su misma especie. Analizando la cantidad y distribución de OXTR en otras especies, buscamos seguir fortaleciendo, modificando o creando nuevas hipótesis sobre la relación de este sistema con la conducta reproductiva y social de las mismas.

Para llevar a cabo nuestra investigación, elegimos dos especies de roedores con diferente estrategia reproductiva y social. El ratón norteamericano, *P. californicus*, se ha descrito como una especie estrictamente monógama (con exclusividad sexual), formadora de pequeños grupos semipermanentes de individuos (pareja reproductora y descendencia), que mantiene una gran estabilidad social con sus vínculos y que sin embargo es muy agresiva con individuos de otros grupos. A su vez, existen evidencias de estudios en cautiverio en las cuales los machos adultos vírgenes de esta especie, despliegan rápidamente conducta paternal en contextos no reproductivos. Por otro lado, elegimos a la especie africana, *R. pumilio*, que se ha descrito como una especie no monógama, formadora de grupos grandes de individuos (aunque bastante flexible), sin mantención de relaciones estables entre ellos y poco territoriales. Ambas especies presentan comportamiento paternal en contextos reproductivos. Sin embargo, no hay información en relación a la respuesta hacia las crías de machos y hembras vírgenes inexperimentadas en contextos no reproductivos en la especie *R. pumilio*. Estos estudios conductuales, a cargo del equipo del Dr. Neville Pillay (Sudáfrica), están en vías de realizarse próximamente, por lo que

podremos contrastar nuestros hallazgos anatómicos respecto a la presencia u ausencia de OXTR en el NAc de esta especie con la respuesta comportamental hacia las crías observada en dicho estudio.

Hipótesis

Generales

- ❖ Hipotetizamos que la presencia de alta densidad de OXTR en el NAc, estaría relacionada al comportamiento parental en contextos no reproductivos en animales sin experiencia sexual ni parental previa y a la predisposición a establecer y/o mantener relaciones sociales más estables entre individuos.
- ❖ Hipotetizamos que la presencia de bajos niveles de OXTR en el LS, se correspondería con especies más sociables y menos territoriales / agresivas.

Específicas

- ❖ Esperamos encontrar altos niveles de OXTR en el NAc de la especie *P. californicus*, debido a que muestra respuesta parental en contexto no reproductivo, y mantiene vínculos estables con su pareja. Respecto a los OXTR en el LS, esperámos encontrar elevados niveles debido a que es una especie muy agresiva con individuos adultos ajenos a su familia, llevando esto probablemente a la preferencia por la vida en pequeños grupos.
- ❖ Esperamos encontrar bajos niveles de OXTR en el NAc en la especie *R. pumilio*, debido a que es una especie en la cual no priman los vínculos estables ni a nivel social ni a nivel reproductivo. Además, los bajos niveles de OXTR en el NAc sugerirían ausencia de conducta parental en animales inexperimentados en contexto no reproductivo. Respecto a los OXTR en el LS, esperamos encontrar bajos niveles de estos debido a que los individuos de esta especie son

menos territoriales, pudiendo esto repercutir en la presencia de más individuos formando grandes grupos.

Si la distribución de OXTR en el cerebro de estas dos especies se ajusta a nuestras hipótesis, estaríamos contribuyendo con nueva evidencia para fortalecerla; mientras que si se contrapone, nos permitiría modificar o crear nuevas hipótesis alternativas para explicar el papel del sistema oxitocinérgico en el comportamiento parental y social.

Esperamos que nuestra investigación pueda contribuir a dilucidar cuál de las hipótesis que prevalecen en la literatura se ajusta más a lo encontrado en la naturaleza, tratando de determinar el papel del sistema oxitocinérgico en el comportamiento animal, con potenciales implicancias en el comportamiento humano, respecto a la estrategia reproductiva y social de nuestra propia especie.

Objetivos

Objetivo general:

- ❖ Determinar si la distribución de OXTR en las diferentes especies se relaciona con la estrategia comportamental reproductiva y social de las mismas.

Objetivos específicos:

- ❖ Describir y analizar exhaustivamente por primera vez la densidad y distribución de los OXTR en los cerebros de dos especies de roedores: *P. californicus* y *R. pumilio*.
- ❖ Determinar la relación entre la densidad de OXTR en el NAc y la conducta parental en contexto no reproductivo y/o el establecimiento de vínculos sociales más estables.
- ❖ Determinar la relación entre la densidad de OXTR en el LS y la territorialidad / agresividad de la especie y su estrategia de vida en grupo.
- ❖ Determinar si la distribución de OXTR en otras áreas del cerebro pueden también contribuir al mejor entendimiento de las diferencias en la estrategia reproductiva y social de las especies.
- ❖ Determinar si la distribución de OXTR en machos y hembras de las diferentes especies se relacionan con diferencias comportamentales potencialmente presentes entre los sexos.

Materiales y Métodos

Animales

Se utilizaron cerebros de dos especies diferentes de roedores: *P. californicus* y *R. pumilio*. Los cerebros fueron obtenidos gracias a la colaboración de la Dra. Wendy Saltzman del Departamento de Biología de la Universidad de California Riverside, Riverside, CA, USA (*P. californicus*) y del Dr. Neville Pillay de la "School of Animal, Plant and Environmental Sciences" de la Universidad Witwatersrand, Johannesburgo, Sudáfrica (*R. pumilio*), que han trabajado con estas especies por varios años. En ambos casos se utilizaron individuos adultos vírgenes de ambos sexos (>161 días en el caso de *P. californicus*; >90 días en el caso de *R. pumilio*), sin experiencia con crías (n=14 para cada especie) obtenidas de las colonias mantenidas en cautiverio en ambas instituciones. Según información otorgada por los colaboradores, los cerebros de los roedores fueron removidos del cráneo inmediatamente luego del sacrificio, congelados y almacenados en freezer a -80°C, hasta su envío a nuestro país en hielo seco. Una vez en la Facultad de Medicina, UdelaR, se almacenaron nuevamente en freezer a -80°C hasta su procesamiento.

Procesamiento de los cerebros y autorradiografía

Utilizando un crióstato de congelación, se realizaron cortes coronales seriados de veinte micrómetros (20µm) desde el núcleo olfatorio (si estaba presente) hasta la región más caudal del cerebro, para ambas especies. Para la especie *P. californicus*, fueron procesados ocho individuos de sexo femenino y seis individuos de sexo masculino; para la especie *R. pumilio*, seis de sexo femenino y ocho de sexo masculino. Cuatro series diferentes de secciones de cada cerebro fueron montadas en portaobjetos y posteriormente almacenadas a -80°C, hasta ser utilizadas en el ensayo autorradiográfico.

Las secciones fueron incubadas con un antagonista del receptor de OXTR marcado con 125I, [125I]-ornithine vasotocin analogue (NEN/PerkinElmer, 125I-OVTA, 2200 Ci/mmol), usando procedimientos estándares previamente descritos (Olazábal & Young, 2006ab). Previo al inicio del procedimiento, las secciones fueron llevadas a temperatura ambiente por al menos 30 minutos. Una vez secos, fueron sumergidos en paraformaldehído 0.1%, en solución salina tamponada con fosfato (pH 7.4) por 2 min a temperatura ambiente. Posteriormente las secciones fueron lavadas dos veces en buffer Tris-HCl (pH 7.4) por 10 min para remover ligando endógeno y luego incubadas por 60 min en 50pM 125I-OVTA en Tris con 10 mM MgCl₂, 0.1% albúmina de suero bovino. Se eliminó el ligando no unido mediante 4 lavados de 5 min cada uno, con buffer 50 mM Tris (pH 7.4), 10 mM MgCl₂; seguido por un enjuague rápido en dH₂O. Las secciones fueron finalmente secadas bajo corriente de aire frío mediante el uso de un secador eléctrico, para su posterior exposición a films BioMax MR (Kodak, Rochester, NY, USA) junto a estándares de 125I para autorradiografía (Americam Radiolabeled Chemicals) por 48 h. Se eligió dicho tiempo de exposición en base a los estudios previos de nuestro laboratorio, de manera de facilitar la comparación con los estudios previos.

Como un control extra de la selectividad y especificidad de la señal de OXTR, se utilizó también un radioligando para detectar la distribución del receptor de vasopresina, V1AR, (125I-linear-AVP, Perkin Elmer). La unión no específica se investigará en secciones de cerebro adyacentes agregando en el buffer de incubación, 50 nM Thr4Gly7-OT (agonista de OXTR) o d(CH₂)51,Tyr(Me)₂,Arg8)-vasopressin (antagonista de V1AR) para desplazar la señal del radioligando para OXTR. Se procesarán también las secciones con tinción violeta de cresil para mejor localización anatómica de la señal. En los primeros ensayos las secciones de las dos especies objetivo fueron además procesadas y comparadas con secciones de ratón de laboratorio común (CB57/BL6), utilizado como otro control adicional para verificar el funcionamiento normal de técnica.

Cuantificación de la densidad de OXTR y análisis de los datos obtenidos

El análisis cuantitativo de la señal autorradiográfica se realizó siguiendo el protocolo previamente publicado (Olazábal & Young, 2006). Los films autorradiográficos fueron revelados, la señal correspondiente de cada sección fue proyectada con un transiluminador y la imagen fue capturada por una cámara digital conectada a una computadora con el software (*Qcapture Pro7 (QImaging®)*). Se realizó el análisis de densitometría usando el software *ImageJ*. Las lecturas de densidad medidas fueron comparadas con los estándares autorradiográficos (*American Radiolabeled Chemicals*) y convertidas a desintegraciones por minuto (dpm/mg de tejido equivalente). Identificamos las áreas de estudio seleccionadas, a través del uso del "*Mouse Brain Atlas*" (Frankin & Paxinos, 2008). La densidad de OXTR en cada área cerebral fue medida unilateralmente en cada sección, usando un mínimo de dos y un máximo de 6 secciones de cada individuo, dependiendo de la región del cerebro analizada. A su vez, se le sustrajo a cada medición el valor de *background* obtenido de zonas adyacentes de tejido en las que no se observó señal.

Las áreas de interés especialmente seleccionadas fueron: NAc *core* y *shell*, LS dorsal, ventral e hipocampal. Sin embargo también se analizaron otras áreas del cerebro como el CPu, IG, To, BSNT, MPOA, BLA, MeA, CeA, CoA, VMH, rHipp, dHipp, vHipp más caudales, entre otras.

Análisis estadístico de resultados

Los resultados de las cuantificaciones fueron estudiados con el programa estadístico *SPSS IBM Statistic 23*. Los datos fueron analizados usando "two-way ANOVA" teniendo como factores especie y sexo. Dado que algunas áreas no cumplieron con los supuestos de normalidad (NAc (*core* y *shell*), dLS, IG, SHM, MPOA, dHipp y CPu), estas fueron estudiadas con pruebas no paramétricas, analizando la diferencias entre dos grupos usando el test de *U de Man-Whitney (U)*. Para la comparación entre dos grupos en aquellas áreas que cumplieron con los supuestos de Normalidad y Homogeneidad de Varianza

se utilizó t-test (t). Los datos fueron expresados como Media \pm Error estándar (ES). La significancia estadística fue establecida en $p < 0,05$. Las regiones cerebrales analizadas tuvieron un $4 \leq n \leq 13$ de individuos, debido a pérdida de alguna de las secciones durante el procesamiento y/o a dificultades en la cuantificación por malas condiciones originales del cerebro ajenas a nuestro laboratorio.

Resultados

Previo al análisis de las regiones de interés, se realizaron pruebas de desplazamiento de la señal autorradiográfica con un antagonista de V1AR y un agonista de OXTR. En ambas especies, la señal autorradiográfica no cambió cuando las secciones de los cerebros se incubaron en presencia del antagonista de V1AR, (d(CH₂)₅₁,Tyr(Me)₂,Arg₈)-vasopressin), (Figura 10, ACEG). Sin embargo, cuando las secciones de cerebros fueron sometidas al agonista de OXTR, (Thr₄Gly₇-OT), la señal autorradiográfica desapareció casi completamente (Figura 9, BDFH).

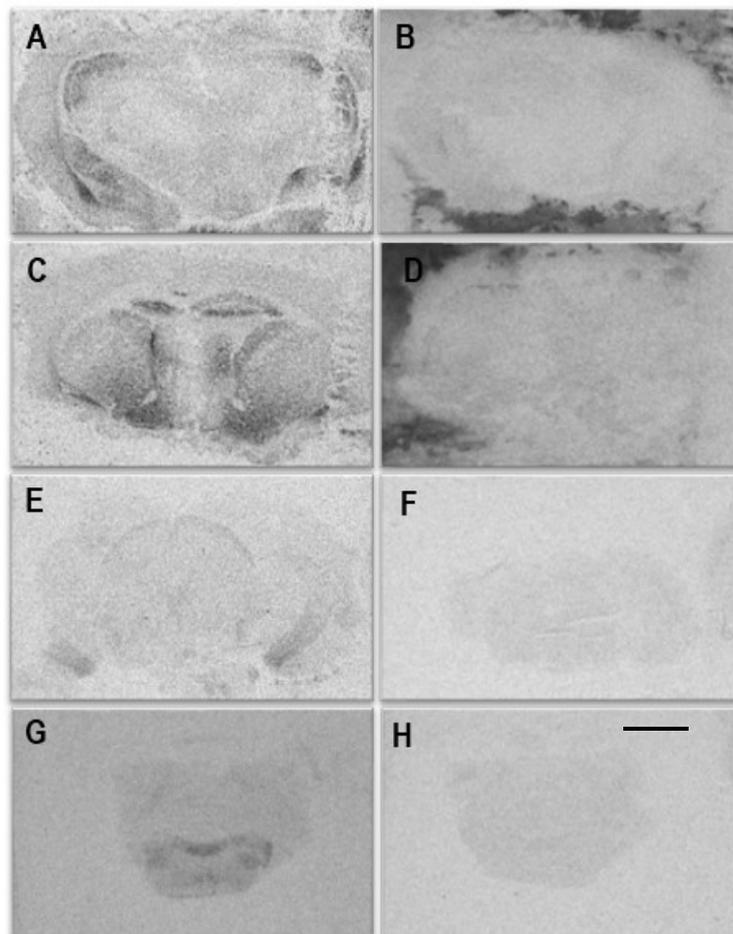


Figura 10.- Autorradiogramas de secciones de cerebros de *P. californicus* (A, B, C y D) y de *R. pumilio* (E, F, G y H), donde se ilustra la señal autorradiográfica para ¹²⁵I- OVTA, marcando los OXTR (áreas oscuras). Nótese que las imágenes de la columna izquierda (A, C, E, G) son producto del tratamiento con antagonista de V1AR; mientras que las imágenes de la columna derecha (B, D, F, H), son resultado del tratamiento con agonista de OXTR. Escala = 2mm.

Posteriormente, al analizar los valores obtenidos en la cuantificación de los OXTR, se encontró similitudes y diferencias significativas tanto inter como intraespecíficas. Por lo tanto los resultados de la cuantificación de la señal autorradiográfica para los OXTR tanto en *P. californicus* como en *R. pumilio*, serán presentados agrupando aquellas áreas donde se encontraron diferencias significativas entre especies, aquellas en las que no se encontró ninguna diferencia interespecífica y aquellas que presentaron diferencias sexuales intraespecíficas.

1.- Áreas del cerebro con diferencias interespecíficas

Se observaron diferencias significativas entre ambas especies en varias de las áreas cerebrales analizadas. *P. californicus* presentó mayor densidad de OXTR en el NAc, LS, CPu, IG, en el BNST posterior, en la mayoría de las subregiones de la Amígdala y en el Hipocampo. Los cerebros de *R. pumilio* muestran mayor densidad de OXTR que los de *P. californicus*, únicamente en el BNST anterior (Figuras 12 y 13, Tabla 1, 2 y 3).

2.- Áreas del cerebro sin diferencias significativas entre especies

El análisis de la cuantificación de la señal autorradiográfica también evidencia áreas cerebrales con similar densidad de OXTR entre especies. Tanto el To, la MeA y el VMH, no muestran diferencias significativas entre ellas. Las cuantificaciones para cada una de estas áreas se muestran entre paréntesis para *Peromyscus* y *Rhabdomys* respectivamente: To ($1125,5 \pm 159,8$ vs. $841,4 \pm 115,4$; $p=0,15$), MeA ($275,3 \pm 28,9$ vs. $204,2 \pm 48,8$; $p=0,24$) y VMH ($856,9 \pm 204,2$ vs. $659,3 \pm 108,8$; $p=0,40$).

3.- Áreas del cerebro con diferencias sexuales dentro de cada especie

El análisis de diferencias sexuales dentro de cada especie, revela que la mayoría de las áreas seleccionadas en el estudio, no presentan dimorfismo sexual respecto a la densidad de OXTR ($p>0,05$;

Tabla 1). Sin embargo, el BNST posterior en ambas especies presenta dimorfismo sexual, donde machos evidencian cantidades más altas de OXTR que hembras (Figuras 11 y 12; Tabla 1). A su vez, los machos de *R. pumilio* presentan niveles más altos de OXTR en el vLS, respecto a las hembras (Figuras 11 y 13; Tabla 1). Por otro lado, en *P. californicus* encontramos una diferencia sexual en el MPOA, donde los machos también muestran mayor densidad de OXTR que las hembras (Figuras 12 y 13; Tabla 1). Si bien no se alcanzaron valores de significancia estadística, se observa una tendencia hacia una mayor cantidad de OXTR en el VMH de los machos de *P. californicus* respecto a las hembras (Figura 13; Tabla 1).

Tabla 1 - Señal autoradiográfica ([125I]-ornithine vasotocin analogue) para el receptor de OXT

Región del Cerebro	<i>R. pumilio</i> ♀ (n)	<i>R. pumilio</i> ♂ (n)	<i>P. californicus</i> ♀ (n)	<i>P. californicus</i> ♂ (n)	Especie P (two-way ANOVA)	Sexo P (two-way ANOVA)	Especie * Sexo P (two-way ANOVA)
Núcleo Accumbens <i>core</i>	71 ± 173,2 (8)	113,2 ± 35,5 (5)	1895,9 ± 255,4 (5)	1662,8 ± 222 (7)	0,00 *	0,86	0,73
Núcleo Accumbens <i>shell</i>	44,4 ± 20 (8)	86,9 ± 17,8 (5)	1258,7 ± 304,1 (5)	1107,8 ± 179,8 (6)	0,00 *	0,84	0,65
Tubérculo olfatorio	732,6 ± 111 (8)	1016,8 ± 237,5 (5)	1123,3 ± 341,9 (5)	1127,8 ± 122,1 (6)	0,30	0,58	0,42
Septo Lateral dorsal	335,2 ± 59,9 (8)	452,9 ± 75,5 (5)	1944,7 ± 297,5 (5)	2015,8 ± 297,5 (7)	0,00 *	0,59	0,81
Septo Lateral ventral	452,9 ± 86,6 (8)	916,9 ± 164,3 (5)	1565,1 ± 253,1 (5)	1651,7 ± 173,2 (7)	0,00 *	0,55	0,04 *
Septo Lateral hipocampal	111 ± 35,5 (8)	683,8 ± 362,1 (4)	1902,5 ± 361,9 (5)	1491,9 ± 306,4 (7)	0,00 *	0,54	0,12
Indisium Griseum	44,4 ± 15,5 (8)	75,5 ± 24,4 (5)	2162,3 ± 255,3 (5)	2384,3 ± 288,6 (7)	0,00 *	0,80	0,66
Caudado Putámen	35,5 ± 122,1 (8)	26,6 ± 15,5 (5)	275,3 ± 70,5 (5)	144,3 ± 66,6 (7)	0,04 *	0,38	0,43
Bed Nucleus de la Estría Terminal anterior	799,0 ± 109,0 (8)	888,0 ± 100,0 (5)	255,0 ± 71,0 (5)	333,0 ± 113,0 (5)	0,01 *	0,97	0,99
Bed Nucleus de la Estría Terminal posterior	311,0 ± 42,0 (7)	484,0 ± 87,0 (4)	644,0 ± 222,0 (4)	1510,0 ± 289,0 (5)	0,00 *	0,01 *	0,07
Área Preóptica Media	328,6 ± 66,6 (7)	273,1 ± 64,4 (5)	179,8 ± 64,4 (5)	812,5 ± 228,7 (5)	0,27	0,02 *	0,04 *
Amígdala Basolateral	186,5 ± 37,7 (8)	135,4 ± 26,6 (4)	379,6 ± 73,3 (5)	388,5 ± 57,7 (7)	0,00 *	0,75	0,58
Amígdala Cortical	301,9 ± 62,2 (8)	135,4 ± 24,4 (4)	475,1 ± 108,8 (5)	406,3 ± 57,7 (6)	0,00 *	0,13	0,52
Amígdala Medial	233,1 ± 68,8 (8)	151 ± 46,6 (4)	257,5 ± 59,9 (5)	290,8 ± 26,6 (6)	0,19	0,69	0,36
Amígdala Central	839,2 ± 104,3 (8)	725,9 ± 106,6 (4)	1744,9 ± 290,8 (5)	1978 ± 359,6 (7)	0,00 *	0,70	0,88
Hipocampo rostral	250,9 ± 108,8 (7)	139,9 ± 17,8 (4)	1769,3 ± 348,5 (5)	1203,2 ± 153,2 (7)	0,00 *	0,13	0,35
Hipocampo dorsal	106,6 ± 33,3 (7)	95,5 ± 24,4 (5)	1110 ± 224,2 (5)	830,3 ± 142,1 (6)	0,00 *	0,27	0,40
Hipocampo ventral	199,8 ± 57,7 (7)	388,5 ± 188,7 (5)	1527,4 ± 353 (5)	1403 ± 224,2 (7)	0,00 *	0,57	0,60
Hipotálamo Ventromedial	681,5 ± 135,4 (6)	621,6 ± 204,2 (4)	501,7 ± 202 (5)	1212,1 ± 286,4 (5)	0,35	0,14	0,08

Datos expresados como Media ± ES, dpm/mg equivalente de tejido. Con letra negrita, se destacan los valores de las regiones que presentaron diferencia sexual respecto a la densidad de OXTR dentro de cada especie. Con letra cursiva y en color verde, se destacan los valores de las regiones que presentaron una tendencia hacia la significancia estadística respecto a la densidad de OXTR diferencial entre ambos sexos. Con * se destacan los valores de p que dieron significancia estadística.

Tabla 2 - Señal autoradiográfica ([125I]-ornithine vasotocin analogue) para el receptor de OXT

Región del Cerebro	<i>Rhabdomys pumilio</i> (n)	<i>Peromyscus californicus</i> (n)	Valor p	Análisis de diferencias
Núcleo Accumbens core	88,8 ± 172,9 (13)	1760,5 ± 230,9 (12)	0,0001 **	M-W
Núcleo Accumbens shell	59,9 ± 15,5 (13)	1176,6 ± 162,1 (11)	0,0001 **	M-W
Caudado putámen	31,08 ± 8,9	199,8 ± 64,4	0,0400 *	M-W
Septo Lateral dorsal	381,8 ± 48,8 (13)	1986,9 ± 204,2 (12)	0,0002 **	M-W
Septo Lateral hipocampal	301,9 ± 190,9 (12)	1662,8 ± 230,9 (12)	0,0003 **	M-W
Indisium Griseum	55,5 ± 13,3 (13)	2291 ± 193,1 (12)	0,0001 **	M-W
Bed Nucleus de la Estría Terminal anterior	833,09 ± 75,01 (13)	286,0 ± 60,0 (10)	0,001**	t-test
Amígdala Basolateral	168,7 ± 26,6 (12)	384,1 ± 42,2 (12)	0,0003 **	t-test
Amígdala Cortical	246,4 ± 46,6 (12)	437,3 ± 55,5 (11)	0,0161 *	t-test
Amígdala Central	801,4 ± 77,7 (12)	1880,3 ± 235,3 (12)	0,0002 **	t-test
Hipocampo rostral	210,9 ± 68,8 (11)	1438,6 ± 182 (12)	0,0001 **	t-test
Hipocampo dorsal	102,1 ± 206,5 (12)	956,8 ± 128,8 (11)	0,0001 **	M-W
Hipocampo ventral	279,7 ± 84,4 (12)	1454,1 ± 186,5 (12)	0,0001 **	t-test

Datos expresados como Media ±ES, dpm/mg equivalente de tejido, *p<0.05; p**<0.001. Análisis de diferencias mediante test de *U de Mann-Whitney* (M-W) o *t de student* (t), según corresponda. Con letra negrita, se destacan los valores de las regiones que presentaron mayor densidad de OXTR en una especie respecto a la otra.

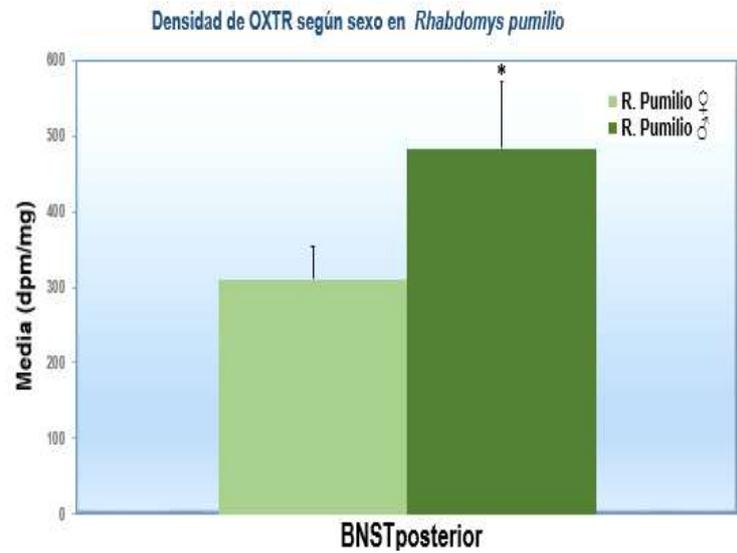
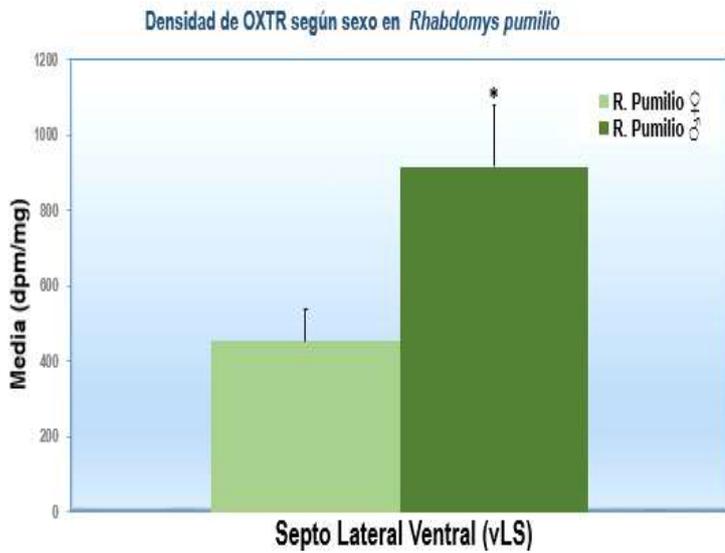


Figura 11.- Gráficas que ilustran las diferencias sexuales en *R. Pumilio*, respecto a la densidad de OXTR en el vLS y en el BNSTp. Datos expresados con Media \pm ES. $p = 0,02$ y $p = 0,04$ respectivamente. Analisis de diferencias por *t* de student.

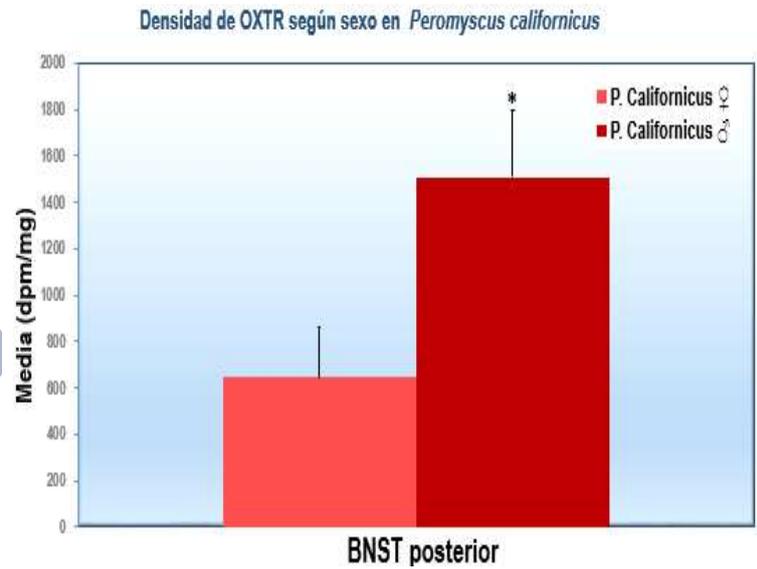
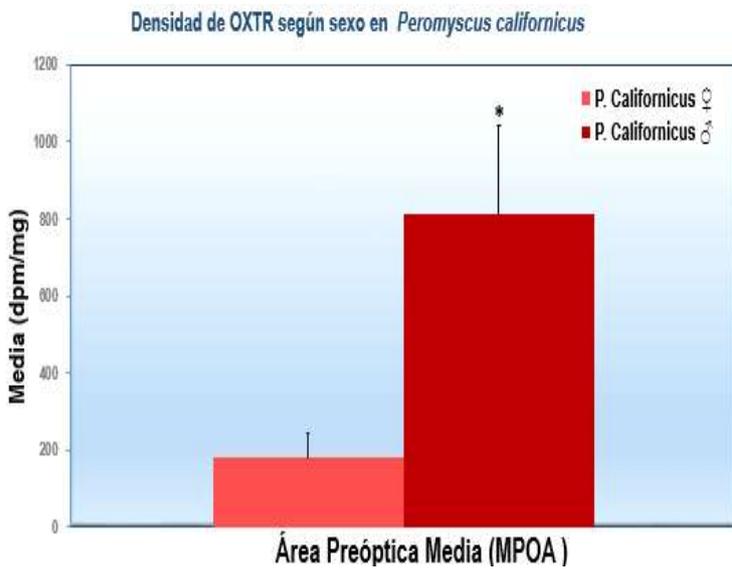


Figura 12.- Gráficas que ilustran las diferencias sexuales en *P. Californicus*, respecto a la densidad de OXTR en el MPOA y en el BNSTp. Datos expresados con Media \pm ES. $p = 0,03$ y $p = 0,04$ respectivamente. Analisis de diferencias por de *U de Mann-Whitney* (M-W) y *t* de student (*t*), respectivamente.

Tabla 3 – Resumen cualitativo de las diferencias intra e interespecíficas entre especies analizadas para los OXTR

Región del Cerebro	Comparación entre especies	Comparación entre sexos
Núcleo Accumbens <i>core</i>	> <i>P. californicus</i>	NO
Núcleo Accumbens <i>shell</i>	> <i>P. californicus</i>	NO
Tubérculo olfatorio	≈	NO
Septo Lateral dorsal	> <i>P. californicus</i>	NO
Septo Lateral ventral	> <i>P. californicus</i>	<i>R. pumilio</i> ♂ > ♀
Septo Lateral hipocampal	> <i>P. californicus</i>	NO
Indisium Griseum	> <i>P. californicus</i>	NO
Caudado Putámen	> <i>P. californicus</i>	NO
Bed Nucleus de la Estría Terminal anterior	> <i>R. pumilio</i>	NO
Bed Nucleus de la Estría Terminal posterior	> <i>P. californicus</i>	<i>P. californicus</i> ♂ > ♀ <i>R. pumilio</i> ♂ > ♀
Área Preóptica Media	≈	<i>P. californicus</i> ♂ > ♀
Amígdala Basolateral	> <i>P. californicus</i>	NO
Amígdala Cortical	> <i>P. californicus</i>	NO
Amígdala Medial	≈	NO
Amígdala Central	> <i>P. californicus</i>	NO
Hipocampo rostral	> <i>P. californicus</i>	NO
Hipocampo dorsal	> <i>P. californicus</i>	NO
Hipocampo ventral	> <i>P. californicus</i>	NO
Hipotálamo Ventromedial	≈	Tendencia en <i>P. californicus</i> ♂ > ♀

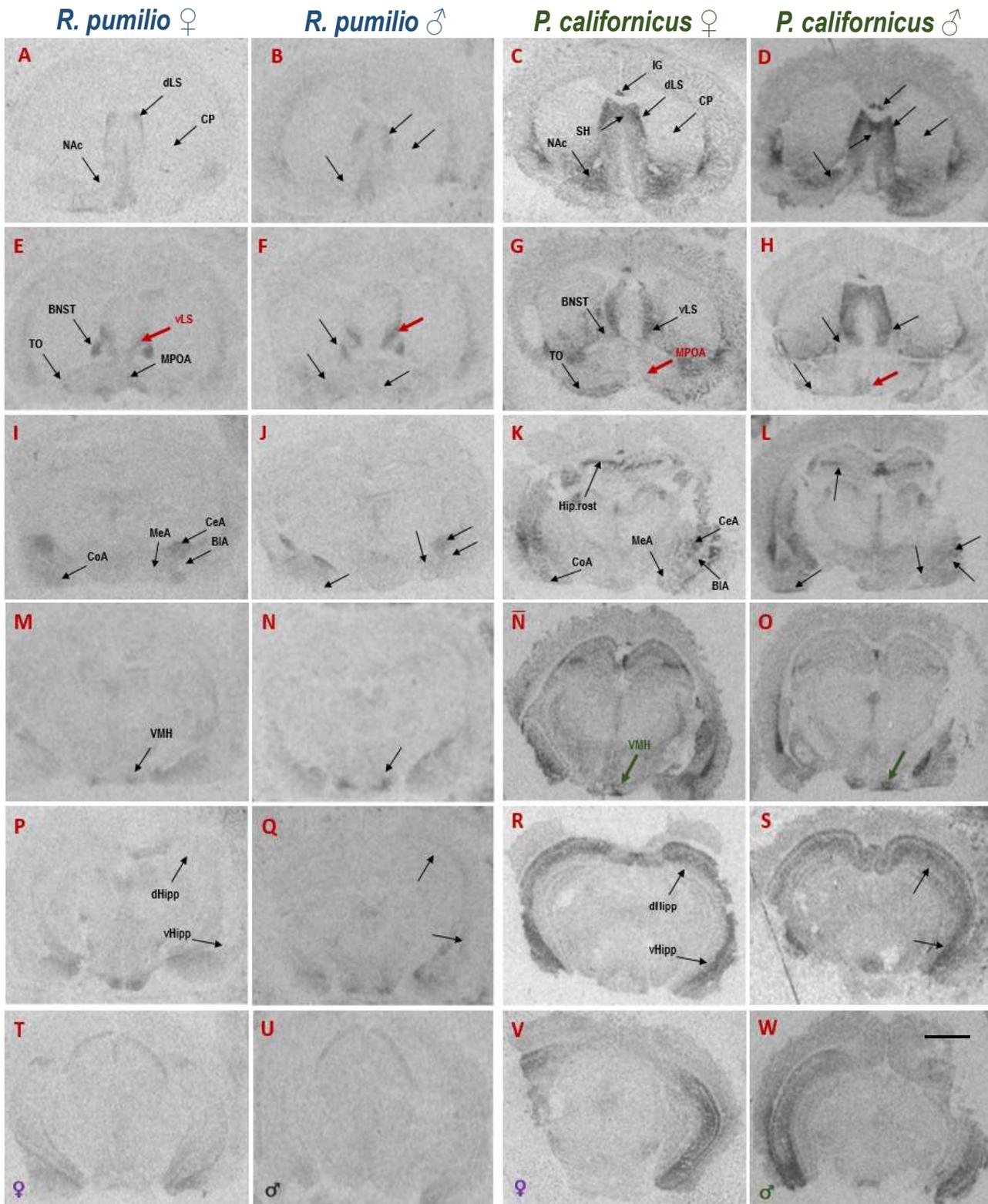


Figura 13.- Imágenes autorradiográficas que evidencia los OXTR de cerebros de dos especies distintas de roedores: *R. pumilio* (hembras: A,E,I,M,P,T y machos: B,F,J,N,Q,U) y *P. californicus* (hembras: C,G,K,N,R,V y machos: D,H,L,O,S,W). Todos los animales son adultos vírgenes sin experiencia previa con crías. Nótese que para todas las áreas indicadas, la especie *P. californicus* presenta mayores densidades de OXTR respecto a la especie *R. pumilio*, menos para el área BNST anterior (BNST), donde la última presenta mayores niveles de OXTR. Nótese también el dimorfismo sexual intraespecífico en ambas especies (señalado en rojo); machos de *Rhabdomys* con mayor cantidad de OXTR en vLS respecto a hembras (F,E respectivamente) y machos de *Peromyscus* con mayor cantidad de OXTR en MPOA respecto a hembras (H,G respectivamente), con una tendencia (señalado en verde) también en el VMH (O,Ñ respectivamente). Escala = 2mm.

Discusión

Nuestra tesis busca aportar a la discusión sobre el papel del sistema oxitocinérgico en las estrategias reproductivas y sociales de las diferentes especies. Partimos de algunas preguntas tales como: *¿La densidad de OXTR en el NAc juega un papel importante en la adaptación del animal o la especie a responder parentalmente a crías? y/o ¿La densidad de OXTR en el NAc es una adaptación para fortalecer los grupos sociales?; ¿Qué papel jugarían los OXTR en el LS?; ¿Es esta una adaptación para altos niveles de agresión y baja sociabilidad hacia sus congéneres?* Si bien existen hipótesis, todas estas preguntas aún siguen sin respuesta. Nosotros partimos del supuesto que los OXTR en el NAc, no sólo contribuirían a facilitar el comportamiento parental en individuos inexperimentados, sino que serían una adaptación del mismo (Olazábal, 2014). Es decir que los animales tendrían una preparación intrínseca a mostrarse parentales hacia crías. Sin embargo, sería también posible que los OXTR en esta región contribuyeran a la tolerancia y al establecimiento de relaciones más estables entre los miembros del grupo, por ejemplo fortaleciendo los vínculos entre progenitores, así como también tolerando la presencia de más de un macho adulto en el grupo social e individuos que cooperasen realizando diferentes actividades entre las cuales podría estar el cuidado de las crías. De esta manera la OXT en el NAc podría reducir el comportamiento antagonista dentro del grupo, resultando en una mayor estabilidad social y comportamiento cooperativo de los padres y demás individuos. Una visión alternativa o complementaria propuesta por Anacker y Beery es que la OXT, podría promover la selectividad social mediante el aumento de la agresión hacia otros individuos ajenos a su grupo (Anacker & Beery, 2013). Aunque esa hipótesis no excluye la posibilidad que la OXT promueva el comportamiento parental y la cohesión social dentro del grupo, plantea una disminución de la interacción social con individuos de otros grupos. Estudios previos han encontrado evidencia de los efectos prosociales de la OXT en machos de diferentes especies (Anacker & Beery, 2013; Bales et al., 2013; Calcagnoli et al., 2014). No obstante, todo lo anterior expuesto no excluye la posibilidad que la OXT pudiera actuar en otras áreas del cerebro,

por ejemplo el LS, en donde según el contexto, podría desempeñar un papel en la defensa del grupo contra individuos extraños (Du et al., 2017).

A continuación describiremos la contribución de nuestro trabajo a las preguntas antes planteadas y a la evaluación de estas hipótesis.

Cumplimiento de objetivos

En el presente trabajo se muestra la distribución y densidad de OXTR en los cerebros de individuos adultos vírgenes de ambos sexos, de dos especies de roedores con diferentes estrategias reproductivas y diferente organización social: *P. californicus* y *R. pumilio*. *P. californicus* es una de las pocas especies descritas hasta el momento donde se haya comprobado la presencia de monogamia con exclusividad sexual (Ribble, 1991), donde el par progenitor vive sólo con su descendencia hasta pocas semanas luego del destete; sin superposición de camadas (Svihla, 1932; McCabe & Blanchard, 1950). A su vez, es una especie donde diferentes estudios comportamentales han evidenciado comportamiento parental en contexto no reproductivo en machos adultos vírgenes sin experiencia previa con crías (Horrell et al., 2017); además de ser una especie con altos niveles de agresividad hacia individuos ajenos a su pequeño grupo familiar. Hasta el momento de nuestra investigación, sólo contábamos con un estudio autorradiográfico previo en *P. californicus* que describía la distribución de OXTR en algunas áreas cerebrales (Insel et al., 1991), sin aportar datos para la principal área de nuestro interés, el NAc. *R. pumilio* por su parte, es una especie descrita como no monógama, con bajos niveles de agresividad y formadora preferencial de grupos grandes (Schradin & Lindholm, 2011). Es una especie de la cual se desconoce si los machos o hembras vírgenes inexperimentadas muestran conducta parental en contexto no reproductivo, estudio que está en curso. No existen hasta el momento estudios autorradiográficos que describan la densidad y distribución de OXTR en los cerebros de la misma.

Nuestro objetivo principal, además de describir la distribución y densidad de OXTR detalladamente en los cerebros de estas dos especies por primera vez, es aportar evidencias a favor o en contra de las hipótesis planteadas anteriormente. Este punto será discutido en detalle más adelante.

En relación a la especificidad o selectividad de la señal, nuestros resultados muestran que la señal autorradiográfica que describimos, representa específicamente a los OXTR. Para ambas especies, mientras que los antagonistas de V1AR no desplazan la señal, el agonista de OXTR la elimina completamente. Las dosis de agonistas y antagonistas que usamos en nuestro estudio, son similares a los utilizadas para describir otras especies como ser: *prairie vole*, ratas, *meadow voles*, ratón común, tucu-tucus, del Género *Peromyscus*, entre otras (Shapiro & Insel, 1989; Winslow et al., 1993; Beery et al., 2008). Por tanto, podemos afirmar que la señal cuantificada corresponde a los OXTR presentes en las diferentes regiones cerebrales de cada especie analizada.

En términos globales del cerebro, encontramos que la especie *P. californicus* presenta niveles más altos de OXTR que la especie *R. pumilio* (Figura 13). Una excepción es la subregión del BNST anterior, en la que *R. pumilio* presenta mayores niveles de OXTR que *P. californicus* (Tabla 1, 2 y 3; Figura 13). Destacamos que en las dos áreas de mayor interés para nuestros objetivos, NAc (*core* y *shell*) y LS; *P. californicus* es la especie que presenta mayor densidad de OXTR. En relación a los dimorfismos sexuales, se ha propuesto que tienden a ser más marcados en las especies polígamas que en las monógamas (Insel et al, 1991). Sin embargo, en nuestro estudio dicha premisa no se cumplió ya que la especie polígama no presentó mayor dimorfismo sexual respecto a la densidad de OXTR, que la especie monógama (Tabla 1 y 3, Figuras 11, 12 y 13).

Anatomía comparativa para OXTR inter e intraespecífica en: *Peromyscus californicus* y *Rhabdomys pumilio*

Núcleo Accumbens

Existe evidencia convincente que sugiere que el NAc regula el comportamiento maternal y estaría implicado en el procesamiento de los estímulos relacionados a crías (Li & Fleming, 2003ab; Numan & Insel, 2003; Champagne et al., 2004; Olazábal & Morrel, 2005). Sin embargo aún no está claro cuál sería el efecto de la OXT en esta región cerebral. La neurotransmisión de OXT en el NAc podría facilitar el comportamiento maternal vía diferentes mecanismos como ser, aumento del comportamiento exploratorio, reducción de las respuestas de ansiedad y/o estrés frente a un estímulo nuevo, aumentando la saliencia del estímulo crías o aumentando la atractividad de las mismas. Los resultados obtenidos en la especie californiana refuerzan y continúan aportando evidencias que sugieren que los altos niveles de OXTR en el NAc podría facilitar el rápido despliegue de cuidado parental en contextos no reproductivos; así como también jugar un rol en el establecimiento de vínculos sociales más estables.

La distribución cerebral de OXTR en la especie *P. californicus*, fue consistente con los datos parciales publicados anteriormente (Insel et al., 1991). Para el caso del NAc, la señal de unión a los OXTR fue intensa en ambos sexos; sugiriendo apoyo a la teoría de que la presencia de OXTR en esta región, representa una adaptación para responder parentalmente a las crías, en forma rápida y en contextos no reproductivos, tanto en machos como en hembras. Debemos tener presente que estudios previos en la especie *P. californicus* mostraron que cuando los machos vírgenes e inexperimentados eran expuestos a crías, desplegaban rápidamente comportamiento parental, por tanto esta especie tendría machos alopARENTALES (Horrell et al., 2017). Si bien este resultado también apoyaría la hipótesis de su papel en la preferencia selectiva de la pareja o monogamia, la presencia de OXTR en el NAc en especies no-monógamas excluiría ese papel específico (Wang et al., 1998; Young et al., 1998; Young & Wang,

2004). Sin embargo sí apoyaría el supuesto rol de la OXT promoviendo la formación de vínculos sociales más estables, en el caso de esta especie, con su pareja reproductora y crías.

Recordemos que más especies, tanto de roedores como de primates, han evidenciado altos niveles de OXTR en el NAc, siendo este patrón correspondido con el despliegue de comportamientos aloparentales. Ejemplos de ello son los *prairie voles*, monógamos (sin exclusividad sexual), biparentales y con estudios que evidencian respuestas parentales espontáneas por parte de machos y hembras vírgenes sin experiencia previa con crías (Figura 4 y 14.; Olazábal & Young, 2006a). Las ratas desnudas eusociales *NMRs*, son otro ejemplo de especie aloparental que cuenta con la presencia de *helpers* en el nido y tiene elevados niveles de OXTR en su NAc (Figura 6 y 14.; Kalamatianos et al., 2010). Además en los machos de *mandarin voles*, especie descrita como monógama y biparental, se encontró una correlación positiva entre mayores niveles de ARNm codificante para OXTR en el NAc con una mayor calidad de comportamiento parental (Song et al., 2010; Du et al., 2017; Wang et al., 2018). Finalmente, los monos *marmosets*, son una especie que vive en grupos familiares más estables, con cuidado cooperativo de los recién nacidos y con flexibilidad sexual, es decir que si bien forman uniones de pareja, estos no tienen exclusividad sexual y despliegan cuidados aloparentales, también presentando altos niveles de OXTR en su NAc (Figura 14., Schorscher-Petcu et al., 2009). Todos estos hallazgos reportados en la bibliografía en los últimos tiempos, sumados al resultado obtenido en nuestra investigación para la especie californiana (Figura 14.) apoyan la hipótesis de que elevados niveles de OXTR en el NAc, no solo contribuyen al despliegue de conductas parentales, sino que sería una adaptación a ellas en determinadas estrategias reproductivas y sociales.

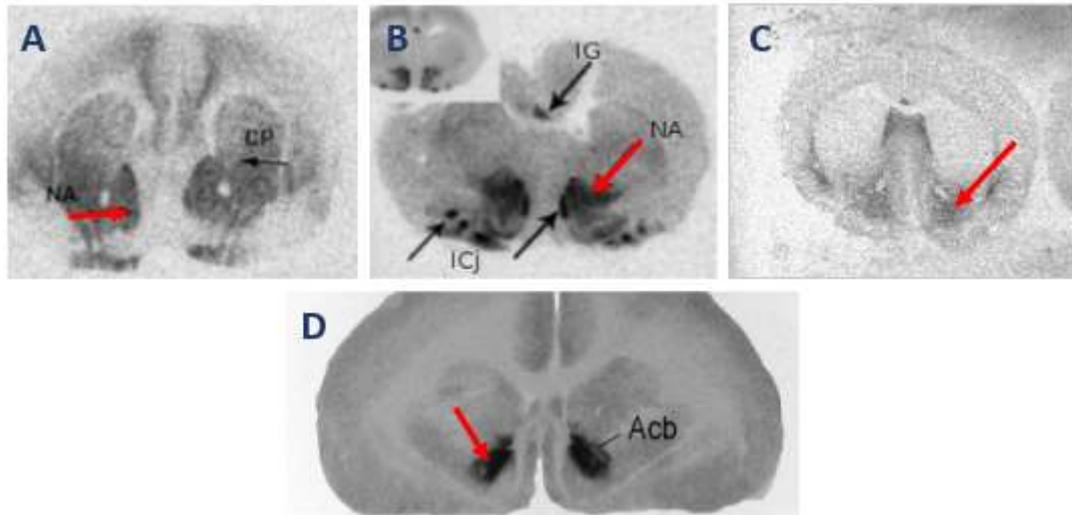


Figura 14.- Imágenes autorradiográficas que evidencian los elevados niveles de OXTR en el NAc (señalado con flecha roja) en los cerebros de: A, *prairie voles*; B, *Naked mole rats* (NMRs); C, *P. californicus* y D, *common marmosets*. Figuras A y B tomadas de "Comparative analysis of oxytocin receptor density in the nucleus accumbens: an adaptation for female and male aloparental care?". Olazábal, 2014. *J Physiol Paris*, 108:213-220. Figura C, tomada de nuestra investigación. Figura D tomada de "Distribution of vasopressin and oxytocin binding sites in the brain and upper spinal cord of the common marmoset". Schorscher-Petcu, A., Dupré, A., Tribollet, E. 2009. *Neurosci. Lett.*, 461:217-222.

Por tanto consideramos que independientemente de la estrategia reproductiva que tenga una especie (monógama / promiscua) y la estrategia social (solitaria / vida en grupos), si la especie tiene altos niveles de OXTR en el NAc, debería mostrar la capacidad intrínseca de ser parental hacia crías en contextos no reproductivos. Cabe destacar que hasta el momento la presencia de OXTR en el NAc ha demostrado ser suficiente, aunque no necesaria, para la ocurrencia de una rápida respuesta parental en contextos no reproductivos. La evidencia muestra claramente que otras especies, como las hembras del ratón común de laboratorio (CB57/Bl6), pueden responder rápidamente a las crías sin tener altos niveles de OXTR en esta región, pudiendo este comportamiento ser generado por la acción de otros agentes químicos en ésta u otras áreas del cerebro que forman parte del circuito neural que sostiene la conducta parental (Olazábal & Alsina-Llánes, 2015). *R. pumilio* por su parte, no evidencia niveles significativos de OXTR en el NAc, acorde a lo encontrado en general en otras especies promiscuas y sin vínculos sociales estables. Por otra parte, se desconoce si las hembras o machos inexperimentados de esta especie muestran conducta parental hacia crías en contextos no reproductivos. En base a nuestros hallazgos,

podríamos hipotetizar que los machos inexperimentados de la especie *R. pumilio* deberían ser principalmente infanticidas en contextos no reproductivos, dado la ausencia de OXTR en el NAc. Lo importante de destacar es que hasta ahora no se ha encontrado ninguna especie que tenga altas densidades de OXTR en el NAc y en la que los machos y hembras no muestren conducta parental en contextos no reproductivos (aloparentalidad). De encontrarse una especie con tales características nuestra hipótesis sería parcialmente refutada, como ya lo ha sido la asociación entre monogamia exclusiva y altos niveles de OXTR en el NAc (Olazábal & Young, 2006a; Kalamatianos et al., 2010; Anacker & Beery, 2013).

Caudado putámen

Por otro lado, el CPu, ha sido involucrado con el aprendizaje de respuestas maternas en ratas (Felicio et al., 1996); aunque generalmente se lo ha asociado con el control de los movimientos motores desplegados en las conductas de exploración y motivación (Graybiel et al., 1994). Varios estudios muestran que la hiperactividad puede ser inducida por manipulaciones dopaminérgicas en dicha área (Maruya et al., 2003; Zhang et al., 2001). Se desconoce el papel que la OXT tendría en esta región y si modula o no la actividad DA. Si bien encontramos una diferencia interespecífica a favor de la especie *P. californicus* respecto a la densidad de OXTR en esta región, más precisamente en el estriado medial y dorsal de los cerebros de *P. californicus* al igual que en los *prairie voles*, previos estudios han mostrado que la conducta parental se asocia únicamente a la presencia de OXTR en el NAc (Olazábal & Young, 2006b), desconociendo el rol específico que jugaría la OXT en esta área de las especies en estudio.

Septo Lateral

Otra de las áreas cerebrales en donde focalizamos la atención de nuestro estudio fue el LS. Ésta es una región que conforma el sistema límbico y que recibe inervaciones glutamatérgicas principalmente del Hipp. El LS contiene neuronas de proyección GABAérgicas que están densamente

interconectadas con el Hipp y otras áreas claves para las respuestas motivacionales (Sheehan et al., 2004). A su vez, el LS recibe inervaciones de otras regiones cerebrales involucradas con la regulación de los estados de ánimo, como ser el BNST, la Amígdala, la PFC, entre otros (Sheehan et al., 2004). Se ha asociado a esta región con la regulación del estrés y/o ansiedad (Sheehan et al., 2004). A la región dLS se la ha asociado también con la facilitación del comportamiento parental, mientras que la región ventral del mismo, se la ha asociado generalmente a la inhibición de la conducta (Sheehan et al., 2000; Olazábal et al., 2013). Es de destacar que *P. californicus*, a diferencia de las ratas africanas desnudas (*NMRs*) y de los *prairie voles* (Figura 16.; Insel & Shapiro, 1992; Olazábal & Young, 2006; Kalamatianos et al., 2010), muestra gran cantidad de OXTR en el LS (dorsal, ventral e hipocampal). Por otra parte, *R. pumilio* tiene menor densidad de OXTR en el LS, en comparación a la especie californiana. Olazábal y Young (2006) habían encontrado una correlación negativa entre la densidad de OXTR presente en el NAc y en el LS de algunas especies; especulando en ese entonces que la densidad de receptores en estas dos áreas, podrían ser el resultado de diferencias en el papel que estos jugaban en el circuito neural responsable de las respuestas aloparentales; sugiriendo que la OXT podría modular diferencialmente el comportamiento maternal y el social, actuando en diferentes niveles del circuito neural social (Olazábal & Young, 2006b). Nuestra investigación muestra que la relación de densidad de OXTR en el NAc y el LS no necesariamente sigue esta correlación negativa y que efectivamente la OXT en estas áreas podría tener roles diferentes. El NAc y el LS podrían tener diferentes funciones en el circuito neural que soporta las respuestas maternas, pero también es posible que los OXTR en el LS actuaran a nivel de otros comportamientos tales como la ansiedad, el miedo, el estrés o la agresividad.

Beery junto a otros investigadores (2008), observaron altos niveles de OXTR en el LS de una especie solitaria de tucu-tucus (*Ctenomys haigi*), al compararlos con una especie altamente social de tucu-tucus (*Ctenomys sociabilis*); hipotetizando que la baja densidad de OXTR en el LS encontrada en especies sociales, podría estar fomentando la tolerancia a la vida en grupos; como también así lo sugerían los resultados encontrados para esta región en los *prairie voles* (Figura 16.; Lacey et al., 1997;

Olazábal & Young, 2006a; Beery et al., 2008). Insel y colaboradores (1991) ya habían encontrado que *P. californicus* (especie monógama y biparental que vive en pequeños grupos semipermanentes) y *P. maniculatus* (especie promiscua y solitaria), tenían ambas alta densidad de OXTR en el LS (Figura 15., Insel et al., 1991). Sin embargo, Kalamatianos y colaboradores (2010) encontraron valores muy bajos de OXTR en el LS de dos especies de ratas africanas con estrategias sociales y reproductivas opuestas, una aloparental con vida en grupos (*NMRs*) y la otra sin comportamiento aloparental, de vida solitaria (*CMRs*), lo cuál podría sugerir que los OXTR en el LS también podrían tener un efecto suficiente pero no necesario para la promoción de la vida en grupos pequeños o solitarios (Figura 6 y 16.; Kalamatianos et al., 2010).

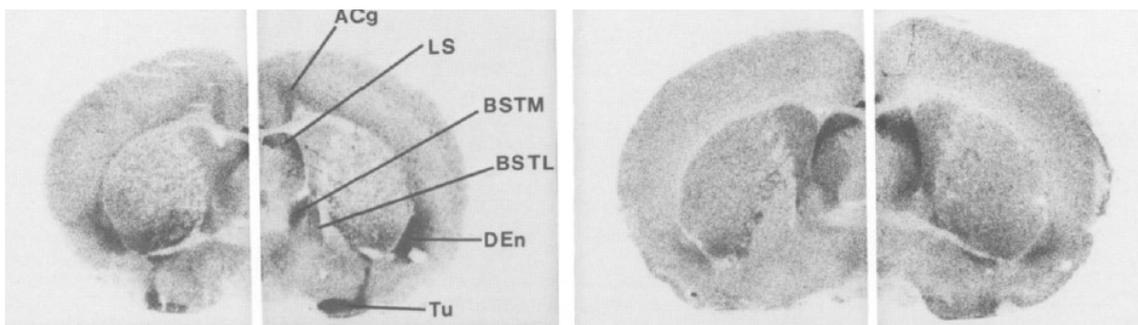


Figura 15.- Autorradiogramas de unión a (125 I)-OTA en cerebros de *P. maniculatus* (izquierda, hembra y macho respectivamente) y de *P. californicus* (derecha, hembra y macho respectivamente). Nótese la densidad de OXTR en el LS que es menor en *P. maniculatus* respecto a la evidenciada en *P. californicus*. Figura tomada de "The comparative distribution of forebrain receptors for neurohypophyseal peptides in monogamous and polygamous mice". Insel, Gelhard y Shapiro. Neuroscience Vol. 43, No. 2/3, pp. 623-630, 1991.

Por lo tanto la presencia de altos niveles de OXTR en el LS podría estar asociada a la forma de vida solitaria o de pequeños grupos. Es posible que los OXTR en el LS hagan a una especie más propensa a la territorialidad y/o agresividad a conspecíficos y de esa forma influir en la estructura social de la misma. Debemos también tener presente que existen diferentes contextos de agresión como por ejemplo; intra e interespecíficos, dentro y fuera de un grupo, dependiente del sexo o la experiencia sexual, dependiente de la edad, del ciclo hormonal, por recursos disponibles, por territorio, por protección de parejas y/o crías, etc. La evidencia sugiere que los OXTR en el LS podrían influir sobre la agresión

intraespecífica, territorial, entre grupos y en defensa de recursos (incluyendo acceso a pareja sexual). Un estudio de Bester-Meredith junto a otros colaboradores (1999), evaluó los parámetros de territorialidad y/o agresión entre dos especies del género *Peromyscus*: *P. californicus*, monógama con cuidado parentales versus *P. leucopus*, promiscua con mínimos cuidados parentales. Dicho estudio reveló que los machos vírgenes de la especie *P. californicus*, atacaban significativamente con menor latencia a los intrusos respecto a lo que sucedía en la especie *P. leucopus*; un patrón similar ocurría en un test de agresión neutral, donde no eran ni intrusos ni residentes. Esto sugirió altos niveles de territorialidad y agresividad en la especie *P. californicus* (Bester-Meredith et al., 1999). Por ejemplo, si comparamos a *P. californicus* con los *prairie voles*, ambas especies son consideradas monógamas (aunque la primera es la única que tendría exclusividad sexual); ambas muestran altos niveles de cuidado biparental; ambas muestran cuidados alopARENTALES fuera de contexto reproductivo y ambas tienen altos niveles de OXTR en el NAc; pero difieren en la densidad de OXTR en el LS, entre otras áreas. Si *P. californicus* es una especie muy territorial y agresiva, quizás los OXTR en el LS influyen en su aislamiento social, acentuando eventualmente el vínculo con su pareja y/o aislando a la pareja de otros posibles competidores (Gubernick & Alberts, 1987; Ribble & Salvioni, 1990; Bester-Meredith et al., 1999). Pocos son los estudios de agresión en *prairie voles* realizados en el laboratorio, pero un estudio de campo utilizando técnicas de testeado de agresión, sugirió que los machos eran bastante menos agresivos al compararlos con los de la especie polígama *meadow voles* (Hofmann et al., 1984). Cabe destacar que la densidad de OXTR en el LS del *prairie voles*, es muy baja respecto a la alta densidad de OXTR que presenta el LS de la especie *meadow voles*, ésta última con similares niveles que *P. californicus* (Figura 16.; Olazábal & Young, 2006b; Anacker & Beery, 2013). El ratón común (*Mus musculus*), también presenta altas densidades de OXTR en el LS (Figura 16.; Olazábal & Young, 2006a), consistente con su alta territorialidad, en donde generalmente un macho dominante dirige un grupo con varias hembras e individuos jóvenes. Sólo el macho dominante se aparearía con las hembras y cuando un macho alcanza su madurez sexual, a menudo se enfrenta con el macho dominante de su grupo (Wilson et al., 2005). Si dos o más machos

son encerrados juntos en una jaula, frecuentemente se vuelven agresivos, a no ser que hayan sido criados juntos en cautividad desde su nacimiento (Wilson et al., 2005; Kelliher & Wersinger, 2009). Sería interesante también estudiar en las diferentes especies, si existe variación respecto a la densidad de OXTR en el LS en respuesta a esteroides gonadales y en caso afirmativo, conocer si esto conlleva a cambios en el comportamiento agresivo del individuo. En caso de que se encontrase un aumento de la agresividad en concordancia con un aumento de estos receptores, se estaría aportando mayor evidencia a favor de la función de los mismos en esta región cerebral.

Al comparar machos y hembras, encontramos que los machos de *R. pumilio*, similar al ratón común de laboratorio (CB57/Bl6), (Olazábal & Alsina-Llánes, 2015), tenían mayor densidad de OXTR en el vLS respecto a las hembras. Quizás la mayor densidad de OXTR presente en la parte ventral del septo en los machos, represente mayor agresividad a sus congéneres o un mecanismo para que en determinados contextos fisiológicos se contraresta la inhibición a desplegar conducta parental (Sheehan et al., 2000; Olazábal et al., 2013). La mayor densidad de OXTR a nivel ventral, podría ser la responsable de la elevada territorialidad y/o agresividad de los machos vista en los diferentes estudios de campo realizados por Schradin y demás investigadores (Schradin, 2008; Schradin et al., 2010; Schoepf & Schradin, 2012, 2013). Sin embargo y de acuerdo con los bajos niveles de OXTR globales en el LS que presenta esta especie, los individuos de la especie *R. pumilio* serían muy tolerantes y amigables entre animales de su mismo grupo, siendo agresivos con individuos (especialmente con machos adultos) de otros grupos (Schradin, 2008; Schradin et al., 2010; Schoepf & Schradin, 2012, 2013). Notesé que si bien existe agresividad hacia machos adultos de otros grupos, los machos progenitores no serían tan efectivos al proteger su harem de hembras, ya que el estudio realizado por Schradin y otros investigadores (2010), reveló un alto porcentaje de paternidad múltiple en la descendencia de los diferentes grupos producto de machos reproductores vecinos (Schradin et al., 2010). Por tanto, al igual que en el ratón californiano, los OXTR en el LS podrían contribuir al despliegue de su territorialidad y/o agresividad contra individuos que no pertenezcan a su grupo, ya sea por motivos de preservar a su harém de hembras, por motivos de

proteger a su descendencia y/o en pro de proteger sus recursos; pero su menor densidad respecto a la especie californiana, podría estar indicando también su menor efectividad a la hora de la defensa y quizás una menor agresividad.

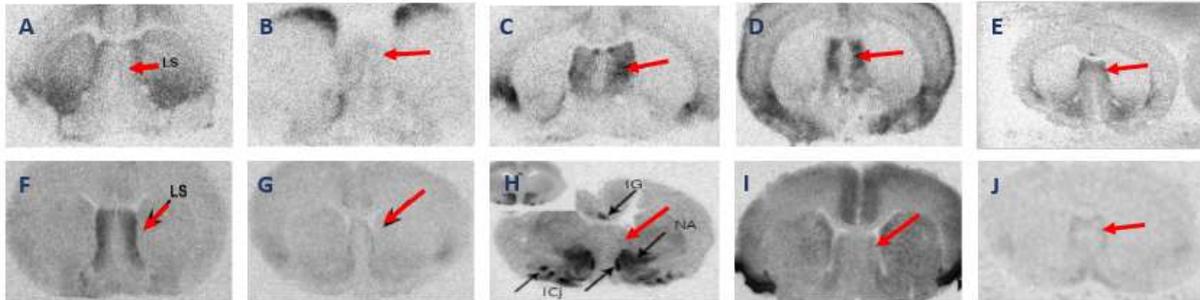


Figura 16.- Imágenes autorradiográficas que evidencian los niveles de OXTR en el LS (señalado con flecha roja) en los cerebros de las diferentes especies: A, *prairie voles*; B, ratas; C, meadow voles; D, ratón común; E, *P. californicus*; F, *C. haigi*; G, *C. sociabilis*; H, *Naked mole rats* (NMRs); I, *Cape mole rats* (CMRs); J, *R. pumilio*. Figuras A, B, C y D tomadas de "Species and individual differences in juvenile female alloparental care are associated with oxytocin receptor density in the striatum and the lateral septum" Olazábal, D. & Young, L. 2006a. *Horm Behav.*, 49:681-687. Figura E y J, tomadas de nuestra investigación. Figura F y G tomadas de "Oxytocin and vasopressin receptor distributions in a solitary and a social species of tuco-tuco (*Ctenomys haigi* and *Ctenomys sociabilis*)". Beery, A., Lacey, E., Francis, D. 2008. *J. Comp. Neurol.*, Apr 20; 507(6):1847-59. Figura H e I tomadas de "Telencephalic binding sites for oxytocin and social organization: a comparative study of eusocial naked mole-rats and solitary cape mole-rats". Kalamatianos, T., Faulkes, C., Oosthuizen, M., Poorun, R., Bennett, N., Coen, C. 2010. *J. Comp. Neurol.* 518:1792-1813.

Un estudio reciente de Menon junto a otros investigadores (2018), encontraron que la señalización de OXTR en el LS, también podría estar relacionada al miedo social. Inyecciones de OXT y sobreexpresión de su receptor en el LS, disminuían la expresión de miedo social, mientras que la administración de antagonistas para OXTR en el LS, aumentaba la expresión del miedo social en hembras lactantes de ratón. Por lo tanto, estos investigadores concluyeron que las neuronas oxitocinérgicas que proyectan al LS (más precisamente la subregión dorsal) suprimían el miedo social en hembras de ratón (Zoicas et al., 2014; Menon et al., 2018). Ellos también sugieren que la OXT excitaría a las neuronas GABAérgicas (neuronas predominantes del LS), donde mayormente se encuentran presentes los OXTR (Menon et al., 2018). Las neuronas GABAérgicas del LS podrían directa o indirectamente, por ejemplo, a través del LS medial y la Banda Diagonal, proyectar a regiones cerebrales que orquestan el procesamiento y expresión del miedo social, como el Hipotálamo, Amígdala o vHipp

(Menon et al., 2018). De esta forma, la disminución del miedo social podría redundar en un aumento de la agresividad. Sin embargo, debemos tener en cuenta que las manipulaciones en agudo (en particular la sobreexpresión de receptores) no son comparables a los procesos que ocurren en un individuo a lo largo del desarrollo, en el que la activación de los receptores se da de forma "crónica". De esta forma las diferencias interespecíficas surgirían mayormente de las diferencias genéticas y de los procesos programados que ocurren durante el desarrollo.

Concluyendo todos estos hallazgos, podríamos hipotetizar que los OXTR en el LS, podrían disminuir el miedo social y en contraparte aumentar así la agresividad contra otros individuos de la misma u otra especie. Así los niveles de OXTR que presenta una especie en el LS podrían estar asociados a la territorialidad y/o agresividad de los individuos para con sus congéneres y a la tolerancia de éstos frente a la vida en grupos y la cohabitación. Cuanto menor sea la territorialidad y cantidad de individuos en el grupo, menor la densidad de OXTR en el LS; contrariamente, cuanto mayor sea esa densidad de OXTR en el LS, mayor territorialidad y mayor preponderancia a la vida solitaria o a la vida en pequeños grupos. Por ejemplo, para el caso de *P. californicus*, si bien es una especie que vive en grupos, éstos son pequeños, semipermanentes y solamente consisten en la pareja progenitora y su descendencia hasta poco después del destete, siendo los machos muy agresivos contra individuos ajenos a su grupo; estas dos características (pequeños grupos y agresión) podrían estar justificando la presencia de altas densidades de OXTR en esta región. En contraparte, la especie *R. pumilio* puede formar grupos grandes familiares por largos períodos. La presencia de OXTR en el LS de esta especie (aunque en bajos niveles) podría ser un balance entre la adaptación a la vida en grandes grupos, donde esperaríamos baja densidad de OXTR en LS (cohabitando un gran número de individuos familiares, con ínfima agresión intragrupal) en combinación con una cierta agresividad hacia individuos de otros grupos. Sería de gran aporte analizar más especies de roedores que vivan en grupos y analizar el comportamiento entre individuos emparentados de su propio grupo y entre individuos de diferentes grupos, observando en

particular los sustratos neurobiológicos para la formación y mantención de relaciones sociales entre adultos fuera de un contexto reproductivo.

Hipotálamo Ventromedial

Enfoques optogenéticos han revelado también que la vía GABAérgica, LS-VMH, estaría involucrada en el dimorfismo sexual de comportamientos y en el control de la agresión inter - sexual en machos (Yang et al., 2013; Wong et al., 2016). Tanto la agresión como el comportamiento sexual tienen fuertes componentes sociales, que requieren motivación social y desinhibición social para acercarse a un conspecífico. Por lo tanto, las proyecciones LS-VMH entre otras, podrían mediar los efectos reductores del miedo social producto de la señalización OXTR-LS (Yang et al., 2013; Anthony et al., 2014, Menon et al., 2018). El silenciamiento artificial del VMH abole la ocurrencia de ataques entre machos de ratón; mientras que su estimulación optogenética provoca un ataque inmediato hacia otros machos, hembras e incluso hacia objetos inanimados (Lin et al., 2011; Yang et al., 2013; Lee et al., 2014). Grabaciones crónicas *in vivo*, han demostrado que las células del VMH se encuentran naturalmente activadas durante encuentros agresivos entre machos (Falkner et al., 2014). Estudios realizados por Wong junto a otros investigadores (2016), mostraron que inhibiciones, tanto farmacológicas como optogenéticas de la población celular del VMH suprimían significativamente la agresión pero no afectaban el comportamiento sexual (Lin et al., 2011; Lee et al., 2014; Wong et al., 2016).

Ambas especies analizadas en nuestra investigación presentan alta densidad de OXTR en el VMH. A su vez, la especie californiana revela una tendencia a tener mayores valores de OXTR en machos (Figura 13.). En base a estos hallazgos, podemos hipotetizar que la OXT podría actuar en conjunto sobre el LS y el VMH, para modular la tolerancia entre individuos, modificando el miedo social y la agresividad. Sin embargo nos surgen nuevas preguntas: *¿Bastará conocer la densidad de OXTR en el LS y el VMH para especular sobre las conductas agresivas de una especie o debemos tomar en cuenta otras áreas*

de distribución de OXTR como ser la CeA, el BNST, o el propio NAc para aumentar la capacidad predictiva de nuestro análisis?.

Amígdala

El LS y la Amígdala también han sido asociados a la regulación de la ansiedad social y la territorialidad y/o agresión, parámetros que podrían estar determinando la estrategia social como mencionamos anteriormente (Anacker & Beery, 2013). La OXT por tanto, podría también regular la agresión y quizás las emociones negativas hacia otros individuos, jugando un papel muy importante en la mantención de la vida grupal, no solo influyendo en los comportamientos prosociales; sino que también afectando los comportamientos sociales agonísticos que pueden solidificar la cohesión grupal y proteger al grupo de intrusos. Varios estudios han propuesto que la acción de la OXT en ciertas subregiones de la Amígdala (CoA y MeA), es crítica también para el reconocimiento social (Insel, 1992; Numan & Sheehan, 1997; Bosch et al., 2005; Choleris et al., 2007). En nuestro estudio, ambas especies muestran bajos niveles de OXTR en estas dos subregiones, aunque existe una mayor densidad de OXTR en la CoA en la especie californiana. Esta pequeña diferencia no parecería ser esencial en la generación de las importantes diferencias comportamentales observadas en estas dos especies.

En relación a las subregiones BLA y CeA de la Amígdala, éstas se han asociado a la regulación del estrés y al comportamiento maternal (Francis et al, 2002; Numan et al., 2010). Estudios comparativos dentro del Género *Ctenomys* (tucu-tucus), entre una especie social y otra solitaria, sugirieron que altos niveles de OXTR en la CeA podían ser responsables de la tolerancia social en los individuos de vida grupal (Beery et al., 2008). A su vez, esta conclusión era consistente con la mayor densidad de OXTR encontrada en la CeA de las ratas africanas desnudas eusociales (*NMRs*) al compararlas con la especie solitaria (*CMRs*), (Kalamatianos et al., 2010). Sin embargo nuestros hallazgos no concuerdan con dicha hipótesis, ya que los niveles de OXTR en la CeA de la especie comunal *R. pumilio*, fue bastante menor que la encontrada en la especie *P. californicus*. No obstante la presencia de OXTR en esta subregión

podría estar también afectando el comportamiento social a través de la modulación del eje Hipotalámico – pituitario – adrenal (HPA). Por ejemplo, las ratas altamente maternales que mostraban bajos niveles de estrés, tenían mayor densidad de OXTR en la CeA que las ratas que mostraban mayores niveles de estrés (Francis et al., 2002). En otro estudio utilizando ratones *Knockout* para OXT, éstos desplegaron mayores conductas de ansiedad y liberaron mayores niveles de corticosterona en respuesta a agentes estresores, que su contraparte *wild-type* (Amico et al., 2004). En el ratón común y en la rata, la región CeA fue también relacionada con comportamientos de protección maternal, inhibición del miedo y estrés social (Gammie et al., 2004; Bosch et al., 2005; Hauber et al., 2005; Debiec, 2005). A su vez, se han realizado más estudios que sugieren que la OXT también podría jugar un rol en lo que respecta a la agresión maternal e intersexual (Campbell, 2008). Infusiones de antagonistas de OXTR en la CeA, aumenta el comportamiento agresivo maternal en ratas (Lubin et al., 2003); mientras que la infusión de OXT disminuiría esa agresión (Consiglio et al., 1996). Ragnauth junto otros investigadores (2005), encontraron evidencias que las hembras de ratón *Knockout* para OXT, desplegaban un aumento en la tendencia al inicio de interacciones agresivas, sugiriendo nuevamente que la OXT actuando en esta subregión de la Amígdala, podría estar facilitando el comportamiento social y reduciendo las tendencias agresivas (Ragnauth et al., 2005).

Por todo lo anterior podemos concluir e hipotetizar que la alta densidad de OXTR en la CeA de la especie *P. californicus*, podría estar disminuyendo el estrés y/o ansiedad que generan las crías. Recordemos que macho y hembra progenitores conviven solo con su descendencia por poco tiempo, primando la vida en pareja solitaria; por tanto en este caso la acción de la OXT sobre los receptores en esta subregión, podrían estar disminuyendo las respuestas naturales agresivas de la especie, disminuyendo el estrés de la interacción con las crías y promoviendo los cuidados parentales. Si bien la densidad de OXTR en la CeA de *R. pumilio* es bastante menor a la encontrada en *P. californicus*, se destaca su densidad a nivel global cerebral. En esta especie, la presencia de OXTR en esta subregión podría estar más dirigido al aumento de la tolerancia social y disminución de la agresión intragrupal,

producto de una disminución del estrés generado por la gran cantidad de individuos en su grupo; al igual que lo visto en otras especies altamente sociales y formadoras de grandes grupos como ser *Ctenomys sociabilis* y las ratas africanas *NMRs* (Beery et al., 2008; Kalamatianos et al., 2010).

Bed nucleus de la Estría Terminal

En relación a la especie *R. pumilio*, es interesante destacar la presencia de altas densidades de OXTR en el BNST anterior, tanto a nivel global cerebral como a nivel comparativo con la especie californiana. El BNST es una estructura límbica altamente heterogénea y compleja asociada con las funciones autonómicas, neuroendocrinas y conductuales (Crestani et al., 2009). Junto a la Amígdala, son áreas involucradas en el procesamiento de señales olfativas en roedores (y visuales en humanos), orquestando las respuestas emocionales y conductuales a la ansiedad y miedo; teniendo una fuerte influencia en la expresión de una variedad de comportamientos sociales (Bressler & Baum, 1996; Ferguson et al., 2002; Adolphs & Spezio, 2006; Davis et al., 2004; Coria-Avila et al., 2014). El BNST juega un papel importante en los estados de miedo sostenidos y en las conductas sociales (Davis et al., 2004; Coria-Avila et al., 2014), que comprenden comportamientos agresivos (Nelson & Trainor, 2007), iniciación del apareamiento (Coria-Avila et al., 2014) y vinculación parental (Frazier, 2006; Coria-Avila et al., 2014); debido a su diversidad anatómica, conectividad y diversidad de receptores (Lebow & Chen, 2016). Estos comportamientos o estados se procesan, entre otros, a través de conexiones a la Amígdala (Dong et al., 2001; Davis et al., 2004), rafe dorsal, VTA (Davis et al., 2004) y PFC medial (Radley & Sawchenko, 2011).

Por otra parte, ciertos estudios sugirieron que las conexiones del BNST con el LS (Dong et al., 2001; 2006), permitirían la coordinación de los comportamientos reproductivos como parte de la red social de comportamiento. Otras tantas investigaciones han revelado al BNST jugando un papel clave en la expresión de respuestas similares a la ansiedad (Walker et al., 2003; Davis et al. 2009). En roedores, el BNST sería un centro de integración de información con valencia negativa o estados

similares a la ansiedad mediados principalmente por la acción del factor liberador de corticotropina (CRF). Dicha región proyecta a la CeA, provocando que esta subregión libere CRF, activando el eje hipotalámico-pituitario-suprarrenal, HPA (Dong et al., 2001; Davis et al., 2009). Investigaciones previas han sugerido que el BNST regula el miedo sostenido, referido como "ansiedad", a diferencia de la CeA que regularía el miedo fásico u inmediato, referido generalmente como "miedo" (Davis et al., 2009). Estudios de condicionamiento de miedo han indicado que la acción del BNST estaría relacionada con la capacidad de diferenciar entre contextos seguros y no seguros, lo que sugeriría que la actividad del BNST dependería de recordatorios contextuales que no predicen una amenaza inmediata, sino que causan un estado sostenido de aprehensión (Davis et al., 2009). Un estudio previo de Blanchard (1993) sobre comportamientos defensivos y de ansiedad en roedores, sugirió que la ansiedad se puede dividir en una amenaza inmediata, por ejemplo, la presencia de un depredador y las amenazas previas o posteriores al encuentro, por ejemplo, la aprensión de volver a encontrar un depredador (Blanchard et al., 1993). Se hipotetiza que el BNST tiene la capacidad de mediar las respuestas de ansiedad a largo plazo, donde se produce un desafío o la recuperación de un desafío a la homeostasis.

El BNST y en particular sus regiones medial y posterior, están directamente vinculadas a la regulación de comportamientos que incluyen agresión, defensa, comunicación social, apareamiento y cuidado parental y tienen una alta concentración de receptores de estrógenos y andrógenos. Estudios comparativos previos entre *P. maniculatus* (polígama) y *P. californicus*, revelaron un mayor dimorfismo sexual para un mayor número de áreas en *P. maniculatus* y sólo una región cerebral, el BNST posterior, mostró dimorfismo sexual a favor de machos en *P. californicus* (Insel et al., 1991). La subregión posterior del BNST en varias especies exhibe un fuerte dimorfismo sexual tanto a nivel anatómico como neuroquímico. El BNST contiene neuronas que responden a esteroides y a su vez, la subregión posterodorsal es más grande en machos que en hembras, en varias especies de roedores como ser ratas y cobayos (Hines et al., 1985; del Abril et al., 1987; Allen & Gorski 1990). Nuestro estudio para el caso de *P. californicus* es consistente con los hallazgos previos que había informado Insel y demás

colaboradores (1991) donde los machos presentan mayores niveles de OXTR que las hembras en esta subregión posterior. Igual hallazgo fue encontrado en *R. pumilio*. De esta manera, la OXT actuando a este nivel podría jugar un papel importante en inducir o compensar diferencias de comportamiento (agresividad, cuidado parental, etc) entre machos y hembras.

Por otro lado la subregiones anteriores del BNST serían menos susceptibles a las fluctuaciones de las hormonales gonadales (Nelson & Trainor, 2007; Goodson et al., 2009; Coria-Avila et al., 2014). Un estudio bastante reciente de Calcagnoli junto a otros investigadores (2014) realizado en ratas (*Groningen*) macho de tipo salvaje, encontraron variaciones en la densidad de OXTR en el BNST anterior, asociadas a diferentes niveles de agresión. Los animales excesivamente agresivos (a diferencia de los de mediana y nula agresividad), mostraban una mayor densidad de OXTR en esta área cerebral y una menor transcripción de ARNm de OXT en el PVN (Calcagnoli et al., 2014). Debido a este estudio, los autores propusieron que la regulación de los comportamientos agresivos podría estar modulada por la relación negativa de una menor síntesis de OXT a nivel central, compensada por un aumento en la densidad de sus receptores en los individuos que son intrínsecamente más agresivos.

La alta densidad de OXTR encontrada en esta área en la especie *R. pumilio*, podría mostrar una diferencia importante con el ratón californiano ya sea en la respuesta a la ansiedad, agresión y/o estrés que redunde en una menor ansiedad, estrés y agresividad hacia a individuos de su grupo familiar. La OXT podría estar actuando también a este nivel propiciando la comunicación social, el apareamiento con más de una hembra y el cuidado parental (Kalamatianos et al., 2010). Debemos mencionar de todas formas que todos estos comportamientos sociales expresados por una especie y/o individuo, son consecuencia de muchas áreas cerebrales interconectadas y por lo tanto cuando realizamos hipótesis es con el objetivo de entender su aporte a este sistema complejo.

Área Preóptica Media

El MPOA es un componente esencial del circuito neural que regula el comportamiento maternal y sexual (Numan et al., 1977; Rosenblatt & Ceus, 1998; Numan & Insel, 2003). Si bien, hasta el momento no existe evidencia que la variabilidad en el cuidado parental esté asociada a la densidad de OXTR en esta región (Olazábal & Young, 2006ab), es importante destacar que en ratas y ratones de laboratorio se han encontrado diferencias sexuales respecto a la densidad de OXTR en esta región, probablemente como consecuencia de la acción de las hormonas gonadales. Desconocemos cuál es la importancia de esta diferencia sexual. En ratas, los machos tienen mayores niveles de OXTR en el MPOA respecto a las hembras, similar en el ratón de laboratorio (Dumais et al., 2013; Alsina-Llanes et al., 2015). En la especie *P. californicus*, encontramos también diferencias sexuales en los niveles de OXTR del MPOA (machos > hembras; Figura 12.). Esta diferencia sexual en la especie californiana, podría ser consecuencia de la acción de las hormonas gonadales y de la OXT durante el desarrollo, generando cambios a largo plazo que eventualmente diferencien o asemejen el comportamiento de machos y hembras en determinados contextos reproductivos y sociales. Por ejemplo, para el caso de las ratas, las hembras muestran significativamente menor densidad de OXTR respecto a machos, para la mayoría de las áreas analizadas por Dumais y otros colaboradores (2013) en sus estudios, entre ellas el LS medial, BNSTposterior, MPOA, MeA, Hipp CA1, VMH. Para el caso de las ratas hembras, estos autores sugirieron que dicha diferencia con machos, respecto a las densidades de OXTR, podría ser una respuesta compensatoria frente a una mayor síntesis y/o liberación de OXT (Dumais et al., 2013). Por tanto, podría ser que la significancia funcional de determinados niveles de OXTR, responda a la liberación específica de OXT durante diferentes comportamientos sociales específicos. Sin embargo, la densidad de estos receptores en las diferentes áreas y entre los diferentes sexos, es especie específica, ya que hay especies como ser *praire voles* que no presenta dimorfismo sexual respecto a los OXTR cerebrales (Bales et al., 2007; Olazabal & Young, 2009).

Por otra parte, tanto el MPOA como el BNST reciben inputs del PVN que facilitarían la conducta parental. Los estrógenos, la prolactina y OXT sabemos que actúan en el MPOA y en el BNST ventral, para facilitar la conducta parental (Bridges et al., 1996). En base a lo discutido anteriormente, podemos hipotetizar que la mayor densidad de OXTR en el MPOA encontrada en los machos de *Peromyscus* analizados, podrían ser mayores a los encontrados en las hembras para maximizar la acción de OXT liberada en diferentes contextos reproductivos y sociales; mientras que en las hembras, dicha función podría estar dada por un aumento en la liberación de OXT en respuesta a cambios hormonales de su ciclo estrogénico, logrando igual efecto a menor densidad de receptores. Sería interesante también comparar si la inervación oxitocinérgica es diferente en machos y hembras. Todo lo anterior, en pro de contribuir al circuito neural que sustenta el comportamiento parental. Nótese que dicha especie no solo es biparental, sino que ha demostrado tener machos aloparentales en contexto no reproductivo.

Indisium griseum

Los cerebros de *P. californicus* a diferencia de los de *R. pumilio*, a su vez también revelaron alta concentración de OXTR en una región cerebral bastante poco estudiada, el IG, una porción de la continuación anterior del Hipp. El hallazgo y la descripción de este tipo de receptores, ya había sido vista en dos especies de tucu-tucus, *C. sociabilis* y *C. haigi*, para la porción anterior del IG y en *Syrian hamsters* para la porción dorsal posterior del IG (Beery et al., 2008). Años más tarde, Kalamatianos junto a otros investigadores (2010) también describieron altos niveles de OXTR en esta región (dorsal posterior) en los cerebros de las ratas africanas eusociales, *NMRs* (Kalamatianos et al., 2010). En el año 2016, Chappell junto a otros investigadores, encontraron también similar patrón en el IG de los *Taiwan voles* (Chappell et al., 2016). Si bien Insel junto a otros investigadores (1991), ya habían encontrado alta densidad de OXTR en el IG dentro del Género *Peromyscus*, tanto para *californicus* como para *maniculatus*, no lo destacaron ni concluyeron nada sobre su hallazgo y funcionalidad; por lo que esta área no fue tomada en cuenta en la discusión de los artículos posteriores de Beery ni de Kalamatianos

(Figura 14.; Insel et al., 1991). *P. californicus* se suma entonces a las especies descritas a la fecha con OXTR en esta región cerebral (Figura 15 y 17.). La funcionalidad del IG aún permanece incierta. Estudios histoquímicos en ratas y ratones evidenciaron que dicha área recibe proyecciones directas del bulbo olfatorio principal y podría ser relevante en el procesamiento de señales olfativas (Wyss & Sripanidkulchai, 1983; Adamek et al., 1981). De esta manera la OXT actuando a este nivel podría estar modulando el procesamiento de las mismas. También hay evidencia que proyecciones desde esta región hacia el PVN estarían involucradas en la liberación de OXT en conejos (Woods et al., 1969).

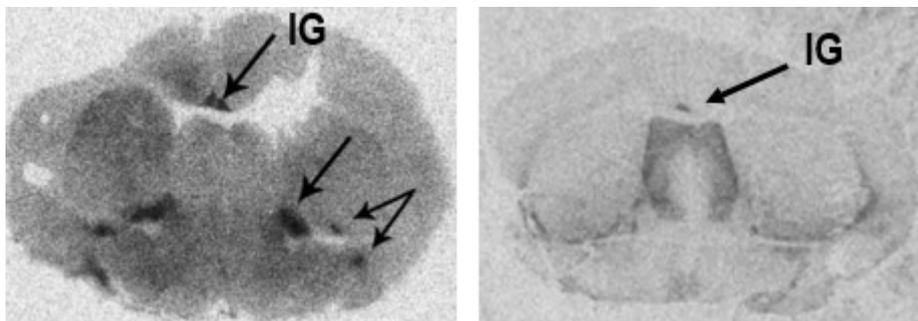


Figura 17.- Autorradiogramas de unión a (125 I)-OTA en cerebros de *Naked Mole-Rat* (izquierda) y de *P. californicus* (derecha). Nótese la señal autorradiográfica de OXTR en el IG de ambas especies. Figura de la izquierda tomada de "Telencephalic Binding Sites for Oxytocin and Social Organization: A Comparative Study of Eusocial Naked Mole-Rats and Solitary Cape Mole-Rats". Kalamatianos et al., 2010. The Journal of Comparative Neurology, Research Article, 2010. Figura de la derecha, resultados propios de la presente tesis.

La información sobre la identidad del conoespecífico proviene de señales olfativas de la orina, secreciones de la piel, tracto reproductivo o glándulas de olor especializadas (Mykytowycz & Goodrich, 1974; Natynczuk & Macdonald, 1994; Stopka et al., 2007). El reconocimiento de las señales olfativas sociales depende de un sistema olfativo principal intacto, ya que las lesiones del bulbo olfativo principal (MOB) o la anosmia inducida químicamente, afectan el reconocimiento individual en roedores (Dantzer et al., 1990; Popik et al., 1991; Sanchez Andrade & Kendrick, 2009). Los mecanismos por los cuales la OXT actúa sobre los circuitos olfativos aún no se conocen bien (Insel, 2010; Kendrick et al., 1992; Numan & Insel, 2003; Yu et al., 1996). El sistema olfativo principal se usa para el procesamiento de información

social y no social (Numan & Insel, 2003; Sanchez-Andrade & Kendrick, 2009). Oettl junto a otros investigadores (2016), sugirieron que la OXT podría provocar en el sistema olfativo principal, un estado específico para el procesamiento de señales de olor social (Oettl et al., 2016). De esta manera, los elevados niveles de OXTR encontrados en el Tubérculo olfatorio de ambas especies de nuestro estudio, justificarían su presencia modulando el procesamiento de estas señales. Recordemos que esta área cerebral forma parte de la vía mesocorticolímbica del sistema motivacional, por tanto no podemos descartar un posible rol de la OXT actuando también a este nivel para modular las salidas al sistema.

Hipocampo

Finalmente, encontramos que la especie *P. californicus* tiene niveles muy superiores de OXTR en el Hipp para todas las diferentes subregiones analizadas (rHipp, vHipp y dHipp) respecto a *R. pumilio*. Esta región es crítica para la memoria espacial y evaluación y/o seguimiento de señales somato-sensoriales proximales y distales (Martin & Clark, 2007). Existe evidencia de que la señalización oxitocinérgica en el Hipp mejora el aprendizaje y la memoria espacial en el ratón; asociándose esto con cambios en la función sináptica de la capa CA1 (incluida en la subregión que referimos como rHipp en nuestro estudio) más precisamente (Tomizawa et al., 2003). Podríamos hipotetizar que altos niveles de OXTR en esta región, podría reflejar diferencias en las habilidades espaciales con que cuenta determinada especie. Por ejemplo se encontraron niveles elevados de estos receptores en la subcapa CA1 de las *NMRs*, que sabemos que viven en complejas madrigueras; no encontrándose alta densidad de ellos en la especie solitaria *CMRs* (Le Comber et al., 2002; Kalamatianos et al., 2010). Otros estudios comparativos realizados con las *CMRs* y otra especie social de ratas africanas, *Damaraland mole-rats*, reveló que esta última usa también un sistema complejo de madrigueras similares a las *NMRs*, evidenciando que las especies que habitan en sistemas complejos de madrigueras deben desplegar una mayor capacidad de aprendizaje y memoria espacial (Costanzo et al, 2009). Es por ello que Kalamatianos y demás colaboradores (2010), hipotetizaron que una alta densidad de OXTR en esta subcapa CA1,

podría reflejar distintas presiones selectivas sobre el desarrollo de ciertas habilidades espaciales. Recordemos que una de nuestras especies de estudio, *P. californicus*, que también cuenta con elevado nivel de OXTR en esta región, es una especie que si bien puede vivir en agujeros y grietas naturales, también pueden usar madrigueras de otros animales como ser de ratas, teniendo a su vez, tanto machos como hembras, amplios rangos de distribución, justificando la necesidad de un elevado desarrollo de percepciones espaciales (McCabe & Blanchard, 1950). Por el contrario, la especie *R. pumilio*, que vive en grandes grupos, habita nidos superficiales dentro de arbustos y tiene rangos de distribución más pequeños, pudiendo justificar la ausencia de OXTR en dicha región (Schradin et al., 2012; Schradin, 2013).

Por otra parte, ciertos estudios en ratas sugirieron otra funcionalidad extra para el Hipp. Al administrar centralmente OXT en ratas, los investigadores evidenciaron una reducción en la expresión de *c-Fos* en todas las subcapas del Hipp, en respuesta a diferentes inducciones de estrés (Windle et al., 2004). De esta manera entonces, la diferencia de densidades de OXTR en el Hipp de las diferentes especies, podría estar reflejando también diferencias en la regulación de las respuestas al estrés.

Conclusiones generales y perspectivas

En resumen, la OXT es un péptido que está involucrado en la sociabilidad a múltiples niveles, regulando el comportamiento individual y dando forma a cierta estrategia reproductiva y social predominante de la especie. La OXT actúa en el cerebro durante el desarrollo, de una manera especie-específica, contribuyendo a configurar diferentes estrategias reproductivas y sociales de las especies y aportando fuentes de variabilidad en el comportamiento dentro de una especie. Entre sus múltiples funciones fisiológicas y neuronales se incluye la promoción del comportamiento parental de múltiples formas. La OXT promovería el comportamiento parental actuando en diferentes regiones cerebrales (principalmente el MPOA, VTA, NAc, MeA o CeA, y PFC) que forman el sustrato neural que promueve la conducta en las diferentes especies. Aunque el mecanismo neurofisiológico que media la acción de la

OXT en aquellas regiones del cerebro aún no son bien comprendidos, la evidencia apoya la idea que la OXT actúa en el NAc u otros sitios que forman parte del circuito neural que regula la recompensa haciendo más atractivas a las crías. Los resultados de nuestra investigación para la especie *P. californicus* siguen aportando evidencias a favor de la hipótesis que sostiene que altos niveles de OXTR en el NAc se correlacionaría positivamente con una mayor preponderancia a ser parentales en contextos no reproductivos en individuos inexperimentados y a la promoción de vínculos sociales más estables.

Por otra parte, la OXT estaría actuando sobre otras áreas cerebrales como el LS, la Amígdala y el BNST entre otras, afectando la respuesta a estímulos sociales (miedo, estrés, agresión). Más precisamente el LS y la CeA serían particularmente importantes para modular la ansiedad social, la territorialidad y/o agresión, que podrían estar determinando el tipo de estrategia social que van a desarrollar (vida solitaria o en grupos grandes). Para entender mejor el papel de los OXTR en áreas como el LS y el BNST, es necesario también realizar estudios que evalúen diferentes tipos de agresión (como por ejemplo test de residente / intruso) en las mismas condiciones pero en diferentes especies.

A través de esta tesis, en base a nuestros hallazgos y a recopilaciones de datos publicados de otras investigaciones, proponemos un "Modelo predictivo" que nos permita inferir el comportamiento hacia crías por parte de individuos vírgenes inexperimentados y su estrategia reproductiva y social, a partir de conocer la densidad de OXTR presentes en el NAc y LS de la misma (Figura 18).

Varias preguntas quedan aún por responder en relación al papel de la OXT en el comportamiento y a sus mecanismos de acción. Es necesario realizar más estudios conductuales en cautiverio que evalúen el comportamiento social, incluyendo la respuesta intrínseca a las crías en individuos adultos inexperimentados, en aquellas especies en las que se ha estudiado la distribución de OXTR en el cerebro, para poder así entender mejor las diferencias entre las especies. La información sobre el comportamiento de las diferentes especies es aún muy incompleta y la mayoría de los estudios que describen a ciertas especies como aloparentales, en general, estudian individuos que interaccionan con

crías en contextos reproductivos, es decir, con las madres lactantes presentes durante el test o con individuos que ya cuentan con experiencia parental previa.

Futuros estudios deberán también investigar las adaptaciones neuronales promovidas por la acción crónica y aguda de la OXT, así como su interacción con la DA y otros sistemas neuroquímicos como la AVP. Parece evidente que más estudios comparativos sobre agresividad y otros comportamientos sociales y reproductivos pueden contribuir a entender mejor el papel de la OXT, AVP y otros péptidos en el cerebro. Sería importante conocer la interacción del sistema OXT con otros péptidos o neurotransmisores clásicos que median los comportamientos sociales (Insel & Shapiro, 1992; Young, 1999).

En la última década esta área de estudio ha atraído un enorme interés, siendo probable el aumento de líneas de investigación que continúen contribuyendo a mejorar nuestra comprensión sobre el papel de OXT en la conducta parental, en el comportamiento social y otras funciones fisiológicas.

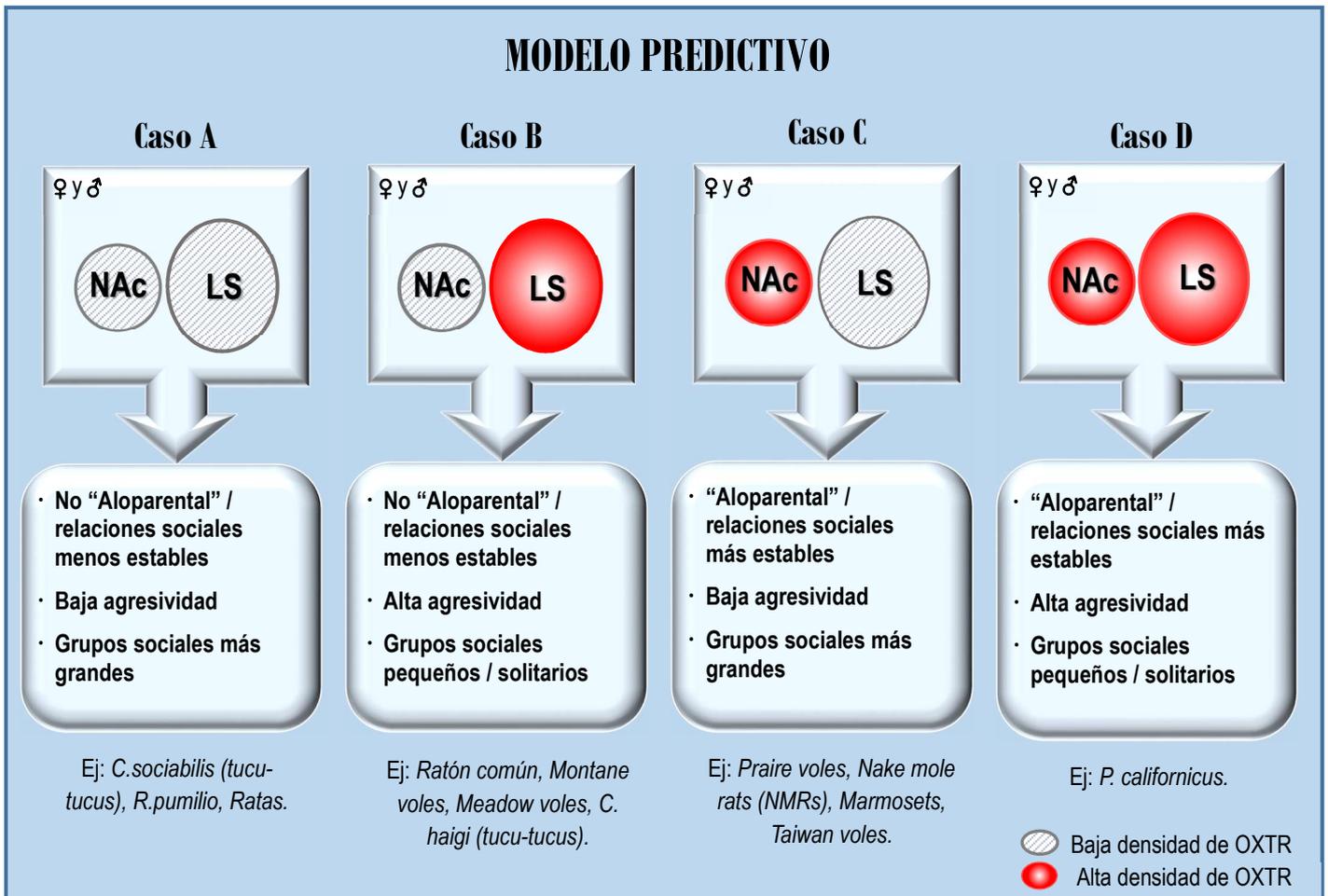


Figura 18.- Modelo Predictivo del comportamiento parental y social de la especie basado en la densidad de OXTR en el NAc y LS (Casos A, B, C y D).

Referencias

- Adamek, G. & Shipley, M.** 1981. Connections of the main olfactory bulb (MOB) in mice. *Abstr. SOC. Neurosci.*, 7:731.
- Adolphs, R. & Spezio, M.** 2006. Role of the amygdala in processing visual social stimuli. *Progress in Brain Research*, 363–378.
- Akther, S., Korshnova, N., Zhong, J., et al.** 2013. CD38 in the nucleus accumbens and oxytocin are related to paternal behavior in mice. *Mol. Brain.*, 6:41.
- Alcaro, A., Huber, R., Panksepp, J.** 2007. Behavioral functions of the mesolimbic dopaminergic system: An affective neuroethological perspective. *Brain Research Reviews*, Dec, 56(2) 283-321.
- Allen, L. & Gorski, R.** 1990. Sex difference in the bed nucleus of the stria terminalis of the human brain. *The Journal of Comparative Neurology*, 302(4), 697–706.
- Alsina-Llanes, M. & Olazábal, D.** 2018. Do sires and juvenile male mice (C57BL/6) contribute to the rearing of the offspring? *Acta ethologica*.
- Alsina-Llanes, M., De Brun, V., Olazábal, D.** 2015. Development and expression of maternal behavior in naïve female C57BL/6 mice. *Dev. Psychobiol.*, 57:189-200.
- Amico, J., Vollmer, R., Karam, J., Lee, P., Li, X., Koenig, J., McCarthy, M.** 2004. Centrally administered oxytocin elicits exaggerated grooming in oxytocin null mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 78(2), 333–339.
- Anacker, A. & Beery, A.** 2013. Life in groups: the role of oxytocin in mammalian sociality. *Front. Behav. Neurosci.*, 7, 185.
- Anthony, T., Dee, N., Bernard, A., Lerchner, W., Heintz, N., Anderson, D.** 2014. Control of stress-induced persistent anxiety by an extra-amygdala septohypothalamic circuit. *Cell* 156, 522–536.
- Bakermans-Kranenburg, M. & Van Ljzendoorn, M.,** 2008. Oxytocin receptor (OXTR) and serotonin transporter (5-HTT) genes associated with observed.
- Bales, K., Perkeybile, A., Conley, O., et al.** 2013. Chronic intranasal oxytocin causes long-term impairments in partner preference formation in male prairie voles. *Biol. Psychiatry*, 74:180-188.
- Bales, K., Van Westerhuyzen, J., Lewis-Reese, A., Grotte, N., Lanter, J., Carter, C.** 2007. Oxytocin has dose-dependent developmental effects on pair-bonding and alloparental care in female prairie voles. *Horm. Behav.*, 52:274–279.
- Barberis, C., Cotte, N., Balestre, M., Aumelas, A., Mahé, E., Phalipou, S., Morin, D., Hibert, M., Manning, M., Durroux, T., Mouillac, B.** 2000. Conserved aromatic residues in the transmembrane region VI of the V1a vasopressin receptor differentiate agonist vs antagonist ligand binding. *Eur. J. Biochem.*, Jul; 267(13):4253-63.
- Barberis, C., Peter, J., Burbach, H., Adan, R., Lolait, S., Van Leeuwen, W., Mezey, E., Palkovits, M.** 1995. Molecular neurobiology and pharmacology of the vasopressin/oxytocin receptor family. *Cell Mol. Neurobiol.* Oct, 15(5):573-95.
- Barbosa, M., & Da Silva, M.** 2013. Alloparental responsiveness to newborns by nonreproductive, adult male, common marmosets (*Callithrix jacchus*). *American Journal of Primatology*, 75, 145–152.
- Beery, A., Lacey, E., Francis, D.** 2008. Oxytocin and vasopressin receptor distributions in a solitary and a social species of tuco-tuco (*Ctenomys haigi* and *Ctenomys sociabilis*). *J. Comp. Neurol.*, Apr 20; 507(6):1847-59.
- Beery, A., Lacey, E., Francis, D.** 2008. Oxytocin and vasopressin receptor distributions in a solitary and a social species of tuco-tuco (*Ctenomys haigi* and *Ctenomys sociabilis*). *The Journal of Comparative Neurology*, 507(6), 1847–1859.

- Bester-Meredith, J. & Marler, C.** 2012. Naturally occurring variation in vasopressin immunoreactivity is associated with maternal behaviour in female *Peromyscus* mice. *Brain Behav Evol.*, 80:244-253.
- Birkhead, T. & Moller, A.** 1996. Monogamy and sperm competition in birds. In *Partnerships in Birds: The Study of Monogamy*, (ed. Black, J.), pp. 323–43. Oxford: Oxford University Press.
- Black, J.** 2001. Fitness consequences of long-term pair bonds in barnacle geese: monogamy in the extreme. *Behavioural Ecology*, 12, 640–5.
- Blanchard, D., Sakai, R., McEwen, B., Weiss, S., Blanchard, R.** 1993. Subordination stress: Behavioral, brain, and neuroendocrine correlates. *Behavioural Brain Research*, 58(1-2), 113–121.
- Bosch, O. & Neumann, I.** 2012. Both oxytocin and vasopressin are mediators of maternal care and aggression in rodents: from central release to sites of action. *Horm. Behav.*, 61:293-303.
- Bosch, O., Krömer, S., Brunton, P., Neumann, I.** 2004. Release of oxytocin in the hypothalamic paraventricular nucleus, but not central amygdala or lateral septum in lactating residents and virgin intruders during maternal defence. *Neuroscience*, 124:439-448.
- Bosch, O., Meddle, S., Beiderbeck, D., Douglas, A., Neumann, I.** 2005. Brain oxytocin correlates with maternal aggression: link to anxiety. *J. Neurosci.*, 25:6807–6815.
- Bray, O., Kennelly, J., Guarino, J.** 1975. Fertility of eggs produced on territories of vasectomized red-winged blackbirds. *The Wilson Bulletin.*, 87:187–195.
- Bressler, S. & Baum, M.** 1996. Sex comparison of neuronal fos immunoreactivity in the rat vomeronasal projection circuit after chemosensory stimulation. *Neuroscience*, 71(4), 1063–1072.
- Bridges, R. & Scanlan, V.** 2005. Maternal memory in adult, nulliparous rats: effects of testing interval on the retention of maternal behavior. *Dev. Psychobiol.*, 46:13-18.
- Bridges, R.** 1996. Biochemical basis of parental behavior in the rat. Advance in the study of behavior. In: *Parental Care: Evolution, Mechanisms, and Adaptive Significance* (Rosenblatt, J. & Snowdon, C., eds.) vol. 25. 215-242, San Diego, CA: Academic Press.
- Bridges, R.** 1984. Quantitative analysis of the roles of dosage, sequence, and duration of estradiol and progesterone exposure in the regulation of maternal behavior in the rat. *Endocrinology*, Mar, 114(3):930-40.
- Bridges, R., Mann, P., Coppeta, J.** 1999. Hypothalamic involvement in the regulation of maternal behaviour in the rat: inhibitory roles for the ventromedial hypothalamus and the dorsal/anterior hypothalamic areas. *J. Neuroendocrinol.*, 11:259-266.
- Bridges, R., Zarrow, M., Goldman, B., Denenberg, V.** 1974. A developmental study of maternal responsiveness in the rat. *Physiol Behav.*, 12:149-151.
- Broad, K., Lévy, F., Evans, G., Kimura, T., Keverne, E., Kendrick, K.** 1999. Previous maternal experience potentiates the effect of parturition on oxytocin receptor mRNA expression in the paraventricular nucleus. *Eur. J. Neurosci.*, 11:3725-3737.
- Brooks, R. & Schwarzkopf, L.** 1983. Factors affecting incidence of infanticide and discrimination of related and unrelated neonates in male *Mus musculus*. *Behav. Neural Biol.*, 37:149-161.
- Brunelli, S., Shindlecker, R., Hofer, M.** 1985. Development of maternal behaviors in prepubertal rats at three ages: age-characteristic patterns of responses. *Dev. Psychobiol.*, Jul, 18(4):309-26.

- Calcagnoli, F., Meyer, N., de Boer, S., Althaus, M., Koolhaas, J.** 2014. Chronic enhancement of brain oxytocin levels causes enduring anti-aggressive and prosocial explorative behavioural effects in male rats. *Horm. Behav.*, 65:427-433.
- Caldeyro-Barcia, R., Poseiro, J.** 1959. Oxytocin and contractility of the pregnant human uterus. *Ann N Y Acad Sci.*, 75:813-830.
- Caldwell, J., Brooks, P., Jirikowski, G., Barakat, A., Lund, P., Pedersen, C.** 1989. Estrogen alters oxytocin mRNA levels in the preoptic area. *J. Neuroendocrinol.*, 1:273-278.
- Campbell, A.** 2008. Attachment, aggression and affiliation: The role of oxytocin in female social behavior. *Biological Psychology*, 77(1), 1–10.
- Campbell, P., Ophir, A., Phelps, S.** 2009. Central vasopressin and oxytocin receptor distributions in two species of singing mice. *J Comp Neurol.* Oct, 1:516(4):321-33.
- Carleton, M.** 1989. Systematics and evolution. In: *Advances in the Study of Peromyscus (Rodentia)*, (ed. Kirkland G. & Layne J.), pp. 7-141. Lubbock, Texas. Texas Tech University Press.
- Carter, C., DeVries, A., Getz, L.** 1995. Physiological substrates of mammalian monogamy: the prairie vole model. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 19:303–314.
- Cassoni, P., Sapino, A., Fortunati, N., Munaron, L., Chini, B., Bussolati, G.** 1997. Oxytocin inhibits the proliferation of MDA-MB231 human breast-cancer cells via cyclic adenosine monophosphate and protein kinase A. *Int. J. Cancer*, Jul 17; 72(2):340-4.
- Champagne, F., Chretien, P., Stevenson, C., Zhang, T., Gratton, A., Meaney, M.** 2004. Variations in nucleus accumbens dopamine associated with individual differences in maternal behavior in the rat. *J. Neurosci.*, 24:4113–23.
- Champagne, F., Diorio, J., Sharma, S., Meaney, M.** 2001. Naturally occurring variations in maternal behavior in the rat are associated with differences in estrogen-inducible central oxytocin receptors. *Proc Natl Acad Sci USA.*, 98:12736-12741.
- Chappell, A., Freeman, S., Lin, Y., LaPrairie, J., Inoue, K., Young, L., Hayes, L.** 2016. Distributions of oxytocin and vasopressin 1a receptors in the Taiwan vole and their role in social monogamy. *Journal of Zoology*, 299(2), 106–115.
- Cho, M., DeVries, A., Williams, J., Carter, C.** 1999. The effects of oxytocin and vasopressin on partner preferences in male and female prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Behav Neurosci.* Oct, 113(5):1071-9.
- Choate, T.** 1972. Behavioural studies on some Rhodesian rodents. *Zoologica Africana*, 7, 103–118.
- Choleris, E., Little, S., Mong, J., Puram, S., Langer, R., Pfaff, D.** 2007. Microparticle-based delivery of oxytocin receptor antisense DNA in the medial amygdala blocks social recognition in female mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104:4670–4675.
- Consiglio, A. & Lucion, A.** 1996. Lesion of hypothalamic paraventricular nucleus and maternal aggressive behavior in female rats. *Physiology and Behavior*, 59, 591–596.
- Coria-Avila, G., Manzo, J., Garcia, L., Carrillo, P., Miquel, M., Pfaus, J.** 2014. Neurobiology of social attachments. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 43, 173–182.
- Costanzo, M., Bennett, N., Lutermann, H.** 2009. Spatial learning and memory in African mole-rats: The role of sociality and sex. *Physiol Behav.*, 96:128–134.
- Cranford, J.** 1982. The effect of woodrat houses on population density of *Peromyscus*. *Journal of Mammalogy* 63: 663-666.
- Crestani, C., Alves, F., Tavares, R., Correa, F.** 2009. Role of the bed nucleus of the stria terminalis in the cardiovascular responses to acute restraint stress in rats. *Stress* 12, 268–278.

- Dantzer, R., Tazi, A., Bluthé, R. 1990. Cerebral lateralization of olfactory-mediated affective processes in rats. *Behav. Brain Res.*, 40:53–60.
- Davis, E., Marler, C. 2004. C-fos changes following an aggressive encounter in female California mice: A synthesis of behavior, hormone changes and neural activity. *Neuroscience*, 127, 611–624.
- Davis, M., Walker, D., Miles, L., Grillon, C. 2009. Phasic vs Sustained Fear in Rats and Humans: Role of the Extended Amygdala in Fear vs Anxiety. *Neuropsychopharmacology*, 35(1), 105–135.
- De Jong, T., Harri, B., Perea-Rodriguez, J., Saltzman, W. 2013. Physiological and neuroendocrine responses to chronic variable stress in male California mice (*Peromyscus californicus*): influence of social environment and paternal state. *Psychoneuroendocrinology*, 38, 2023–2033.
- De Kloet, E., Voorhuis, D., Boschma, Y., Elands, J. 1986. Estradiol modulates density of putative 'oxytocin receptors' in discrete rat brain regions. *Neuroendocrinology.*, 44:415-421.
- De Vries, G. 2008. Sex differences in vasopressin and oxytocin innervation of the brain. *Prog Brain Res.*, 170:17-27.
- Dębiec, J. 2005. Peptides of love and fear: vasopressin and oxytocin modulate the integration of information in the amygdala. *BioEssays*, 27(9), 869–873.
- Del Abril, A., Segovia, S., Guillamon A. 1987. The bed nucleus of the stria terminalis in the rat: Regional sex differences controlled by gonadal steroids early after birth. *Dev. Brain Res.*, 32:295-300.
- Delville, Y., Mansour, K., Ferris, C. 1996. Serotonin blocks vasopressin-facilitated offensive aggression: interactions within the ventrolateral hypothalamus of golden hamsters. *Physiol Behav.*, 59:813-816.
- Díaz-Muñoz, S., Bales, K. 2016. "Monogamy" in primates: variability, trends, and synthesis: introduction to special issue on primate monogamy. *Am. J. Primatol.*, 78:283-287.
- Dong, H., & Swanson, L. 2006. Projections from the bed nucleus of the stria terminalis, anteromedial area: cerebral hemispheric integration of neuroendocrine, autonomic, and behavioral aspects of energy balance. *J. Comp. Neurol.* 494:142–178
- Dong, H., Petrovich, G., Watts, A., Swanson, L. 2001. Basic organization of projections from the oval and fusiform nuclei of the bed nuclei of the stria terminalis in adult rat brain. *J. Comp. Neurol.*, 436:430 –455
- Du, P., He, Z., Cai, Z., et al. 2017. Chronic central oxytocin infusion impairs sociability in mandarin voles. *Pharmacol Biochem Behav.*, 161:38-46.
- Dumais, K., Bredewold, R., Mayer, T., Veenema, A. 2013. Sex differences in oxytocin receptor binding in forebrain regions: correlations with social interest in brain region-and sex-specific ways. *Horm Behav.*, 64:693-701.
- Eisenberg, J. 1963. The intraspecific behavior of some cricetine rodents of the genus *Peromyscus*. *American Midland Naturalist*, 69, 240–6.
- Elands, J., Barberis, C., Jard, S. 1988. [3H]-[Thr4,Gly7]OT: a highly selective ligand for central and peripheral OT receptors. *Am. J. Physiol.*, Jan, 254(1 Pt 1):E31-8.
- Fahrbach, S., Morrell, J., Pfaff, D. 1984. Oxytocin induction of short-latency maternal behavior in nulliparous, estrogen-primed female rats. *Horm Behav.*, 18:267-286.
- Fahrbach, S., Morrell, J., Pfaff, D. 1985. Possible role for endogenous oxytocin in estrogen-facilitated maternal behavior in rats. *Neuroendocrinology*, Jun, 40(6):526-32.
- Fahrbach, S., Morrell, J., Pfaff, D. 1986. Possible role for endogenous oxytocin in estrogen-facilitated maternal behavior in rats. *Neuroendocrinology*, 40:526-532.

- Fahrenholz, F., Boer, R. 1985. Photoaffinity labeling of the V1 vasopressin receptor in plasma membranes from rat liver. *J. Biol. Chem.*, Dec, 5, 260(28):15051-4.
- Falkner, A., Dollar, P., Perona, P., Anderson, D., Lin, D. 2014. Decoding ventromedial hypothalamic neural activity during male mouse aggression. *J. Neurosci.*, 34, 5971–5984.
- Febo, M. 2011. A bold view of the lactating brain: functional magnetic resonance imaging studies of suckling in awake dams. *J. Neuroendocrinol.*, 23:1009-1019.
- Febo, M., Numan, M., Ferris, C. 2005. Functional magnetic resonance imaging shows oxytocin activates brain regions associated with mother-pup bonding during suckling. *J. Neurosci.*, 25:11637-11644.
- Felicio, L., Florio, J., Sider, L., Cruz-Casallas, P., Bridges, R. 1996. Reproductive experience increases striatal and hypothalamic dopamine levels in pregnant rats. *Brain Res. Bull.*, 40 (4), 253–256.
- Ferguson, J., Young, L., Insel, T. 2002. The Neuroendocrine Basis of Social Recognition. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 23(2), 200–224.
- Fleischer, S. & Slotnick, B. 1978. Disruption of maternal behavior in rats with lesions of the septal area. *Physiol Behav.* Aug, 21(2):189-200.
- Fleming, A., Corter, C., Franks, P., Surbey, M., Schneider, B., Steiner, M. 1993. Postpartum factors related to mother's attraction to newborn infant odors. *Dev Psychobiol.*, 26:115-132.
- Fleming, A., Rosenblatt, J. 1974. Olfactory regulation of maternal behavior in rats. II. Effects of peripherally induced anosmia and lesions of the lateral olfactory tract in pup-induced virgins. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 86:233-246.
- Fleming, A., Ruble, D., Krieger, H., Wong, P. 1997. Hormonal and experiential correlates of maternal responsiveness during pregnancy and the puerperium in human mothers. *Horm Behav.*, 31:145-158.
- Francis, D., Diorio, J., Plotsky, P., Meaney, M. 2002. Environmental Enrichment Reverses the Effects of Maternal Separation on Stress Reactivity. *The Journal of Neuroscience*, 22(18), 7840–7843.
- Franklin, k & Paxinos. 2008. Mouse Brain Atlas. *Compact 3rd edition*.
- Freeman, S. & Young, L. 2013. Oxytocin, vasopressin and the evolution of mating systems in mammals. In: *Oxytocin, Vasopressin and Related Peptides in the Regulation of Behavior* (Choleris, E., Pfaff, D., Kavaliers, M. Eds.), pp. 128-147. Cambridge University Press.
- Gammie, S., Negron, A., Newman, S., Rhodes, J. 2004. Corticotropin-releasing factor inhibits maternal aggression in mice. *Behav. Neurosci.*, 118:805–814.
- Gandelman, R. 1973. The development of cannibalism in male Rockland-Swiss mice and the influence of olfactory bulb removal. *Dev. Psychobiol.*, 6:159-164.
- Gandelman, R., Paschke, R., Zarrow, M., Denenberg, V. 1970. Care of young under communal conditions in the mouse (*Mus musculus*). *Dev. Psychobiol.*, 3:245-250.
- Geisler, S., Derst, C., Veh, R., Zahm, D. 2007. Glutamatergic afferents of the ventral tegmental area in the rat". *Journal of Neuroscience*, May, 27(21) 5730-43.
- Ghazizadeh, A., Ambroggi, F., Odean, N., Fields, H. 2012. Prefrontal cortex mediates extinction of responding by two distinct neural mechanisms in accumbens shell. *J. Neurosci.*, 32:726-737.
- Gimpl, G. & Fahrenholz, F. 2001. The oxytocin receptor system: structure, function, and regulation. *Physiol. Rev.* 81, 629–683.

- Gimpl, G., Wiegand, V., Burger, K., Fahrenholz, F.** 2002. Cholesterol and steroid hormones: modulators of oxytocin receptor function. *Prog. Brain Res.*, 139, 43–55. doi: 10.1016/S0079-6123(02)39006-X.
- González-Mariscal, G., Melo, A., Jiménez, P., Beyer, C., Rosenblatt, J.** 1996. Estradiol, progesterone, and prolactin regulate maternal nest-building in rabbits. *J. Neuroendocrinol.* Dec, 8(12):901-7.
- Goodson, J., Kabelik, D., Schrock, S.** 2009. Dynamic neuromodulation of aggression by vasotocin: influence of social context and social phenotype in territorial songbirds. *Biology Letters*, 5(4), 554–556.
- Graybiel, A., Aosaki, T., Flaherty, A., Kimura, M.** 1994. The basal ganglia and adaptive motor control. *Science* 265, 1826–1831.
- Greenwood, P.** 1980. Mating systems, philopatry and dispersal in birds and mammals. *Animal Behaviour* 28: 1140-1162.
- Greenwood, P.** 1983. Mating systems and the evolutionary consequences of dispersal. in: *The ecology of animal movement* (Swingland, I. & Greenwood, P. editors.) Pages 116-131., Oxford, England. Clarendon Press.
- Grinnell, J. & Orr, R.** 1934. Systematic review of the californicus group of the rodent genus *Peromyscus*. *Journal of Mammalogy*. 15:21 0-220.
- Gubernick, D. & Alberts, J.** 1987. The biparental care system of the California mouse, *Peromyscus californicus*. *J. Comp. Psychol.*, 101, 169–177.
- Gubernick, D. & Alberts, J.** 1987. The biparental care system of the California mouse, *Peromyscus californicus*. *Journal of Comparative Psychology*. 101:169-177.
- Gubernick, D. & Alberts, J.** 1989. Postpartum maintenance of paternal behaviour in the biparental California mouse, *Peromyscus californicus*. *Animal Behaviour*, 37:656- 664.
- Haggerty, T., Morton, E., Fleischer, R.** 2001. Genetic monogamy in Carolina Wrens (*Throthorus ludovicianus*). *The Auk*, 118, 215–19.
- Hauber, M. & Lacey, E.** 2005. Bateman's Principle in Cooperatively Breeding Vertebrates: The Effects of Non-breeding Alloparents on Variability in Female and Male Reproductive Success. *Integr Comp Biol.*, Nov, 45(5):903-14.
- Hikosaka, O., Bromberg-Martin, E., Hong, S., Matsumoto, M.** 2008. New insights on the subcortical representation of reward. *Current Opinion in Neurobiology*. Apr, 18(2) 203-8.
- Hill, D., Pillay, N., Schradin, C.** 2015. Alternative reproductive tactics in female striped mice: heavier females are more likely to breed solitarily than communally. *J Anim Ecol.*, Nov;84(6):1497-508. doi: 10.1111/1365-2656.12431. Epub 2015 Sep
- Hines, M., Dams, F., Coquelin, R., Goy, Gorski, R.** 1985. Sexually dimorphic regions in the medial preoptic area and bed nucleus of the stria terminalis of the guinea pig brain: A description and an investigation of their relationship to gonadal steroids in adulthood. *J. Neurosci.*, 5:40-47.
- Hofmann J., Getz L., Gavish, L.** 1984. Home range overlap and nest cohabitation of male and female prairie voles. *The American Midland Naturalist*, 112:314-319.
- Horrell, N., Perea-Rodriguez, J., Harris, B., Saltzman, W.** 2017. Effects of repeated pup exposure on behavioral, neural, and adrenocortical responses to pups in male California mice (*Peromyscus californicus*). *Hormones and Behavior*, 90, 56–63.
- Hu, Z., Cooper, M., Crockett, D., Zhou, R.** 2004. Differentiation of the midbrain dopaminergic pathways during mouse development. *Journal of Comparative Neurology*, Aug; 476(3) 301-11.
- Ikemoto, S.** 2007. Dopamine reward circuitry: Two projection systems from the ventral midbrain to the nucleus accumbens-olfactory tubercle complex. *Brain Research Reviews*, Nov, 56(1) 27-78.

- Insel, T. & Shapiro, L.** 1992. Oxytocin receptor distribution reflects social organization in monogamous and polygamous voles. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89(13):5981-5985.
- Insel, T.** 1992. Oxytocin and the neurobiology of attachment. *Behav. Brain Sci. Sep*; 15(3):515-6.
- Insel, T.** 2010. The challenge of translation in social neuroscience: a review of oxytocin, vasopressin, and affiliative behavior. *Neuron.*, 65:768–779.
- Insel, T., Gelhard, R., Shapiro, L.** 1991. The comparative distribution of forebrain receptors for neurohypophyseal peptides in monogamous and polygamous mice. *Neuroscience*, 43(2-3), 623–630.
- Insel, T. & Harbaugh, C.** 1989. Lesions of the hypothalamic paraventricular nucleus disrupt the initiation of maternal behavior. *Physiol. Behav.*, May;45(5):1033-41.
- Kalamatianos, T., Faulkes, C., Oosthuizen, M., Poorun, R., Bennett, N., Coen, C.** 2010. Telencephalic binding sites for oxytocin and social organization: a comparative study of eusocial naked mole-rats and solitary cape mole-rats. *J. Comp. Neurol.* 518:1792-1813.
- Keane, B.** 1990. Dispersal and inbreeding avoidance in the white-footed mouse, *Peromyscus leucopus*. *Animal Behav.*, 40:143-152.
- Keebaugh, A. & Young, L.** 2011. Increasing oxytocin receptor expression in the nucleus accumbens of pre pubertal female prairie voles enhances alloparental responsiveness and partner preference formation as adults. *Horm Behav.*, 60:498-504.
- Keller, M., Perrin, G., Meurisse, M., Ferreira, G., Lévy, F.** 2004. Cortical and medial amygdala are both involved in the formation of olfactory offspring memory in sheep. *Eur. J. Neurosci.*, 20:3433-3441.
- Kelliher, K. & Wersinger, S.** 2009. Olfactory regulation of the sexual behavior and reproductive physiology of the laboratory mouse: effects and neural mechanisms. *ILAR J.* 50 (1): 28-42.
- Kendrick, K.** 2013. Oxytocin regulation of sheep and maternal behavior, Chapter 10. In: *Oxytocin, Vasopressin, and Related Peptides in the Regulation of Behavior* (Choleris, E., Pfaff, D., Kavaliers, M.), pp.183-192, eds: New York, NY: Cambridge University Press.
- Kendrick, K., Keverne, E., Baldwin, B.** 1987. Intracerebroventricular oxytocin stimulates maternal behaviour in the sheep. *Neuroendocrinology*, 46:56-61.
- Kendrick, K., Keverne, E., Chapman, C., Baldwin, B.** 1988. Intracranial dialysis measurement of oxytocin, monoamine and iruc acid release from the olfactory bulb and substantia nigra of sheep during parturition, suckling, separation from lambs and eating. *Brain Res.*, 439:1-10.
- Kendrick, K., Keverne, E., Hinton, M., Goode, J.** 1992. Oxytocin amino acid and monoamine release in the region of the medial preoptic area and bed nucleus of the stria terminalis of the sheep during parturition and suckling. *Brain Res.*, 569:199-209.
- Kirkland, G. & Layne, J.** 1989. Advances in the study of *Peromyscus*. *Texas Tech. Univ. Press*. Lubbock, Texas, 366 pp.
- Kiss, A. & Mikkelsen, J.** 2005. Oxytocin--anatomy and functional assignments: a minireview. *Endocr Regul.* Sep, 39(3):97-105.
- Kosfeld, M., Heinrichs, M., Zak, P., Fischbacher, U., Fehr, E.** 2005. Oxytocin increases trust in humans. *Nature*. Jun 2; 435(7042):673-6.
- Kuroda, K.** 2011. Neurobiological basis of parent-infant relationship. Preface. *Prog. Neuropsychopharmacol Biol. Psychiatry*. Jul 1;35(5):1165-6.

- Lacey, E., Braude, S., Wieczorek, J. 1997. Burrow sharing by colonial tuco-tucos (*Ctenomys sociabilis*). *J. Mammal*, 78:556–562.
- Lack, D. 1968. Ecological adaptations for breeding in birds. *London: Methuen*.
- Lammel, S., Hetzel, A., Haeckel, O., Jones, I., Liss, B., Roeper, J. 2008. Unique properties of mesoprefrontal neurons within a dual mesocorticolimbic dopamine system. *Neuron*, Mar; 57(5) 760-73.
- Landgraf, R. & Neumann, I. 2004. Vasopressin and oxytocin release within the brain: a dynamic concept of multiple and variable modes of neuropeptide communication. *Front. Neuroendocrinol.*, 25:150-176.
- Le Comber, S., Spinks, A., Bennett, N., Jarvis, J., Faulkes, C. 2002. Fractal dimension of African mole-rat burrows. *Canadian Journal of Zoology*, 80(3), 436–441.
- Leblond, C. 1938. Extra-Hormonal Factors in: *Maternal Behavior Experimental Biology and Medicine*. Vol 38, Issue 1, pp. 66-70.
- Lee, A., Clancy, S., Fleming, A. 1999. 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.*, 10:15-31.
- Lee, G. & Gammie, S. 2009. GABA(A) receptor signaling in the lateral septum regulates maternal aggression in mice. *Behav Neurosci.*, 123:1169-1177.
- Lee, H., Kim, D., Remedios, R., Anthony, T., Chang, A., Madisen, L., Zeng, H., Anderson, D. 2014. Scalable control of mounting and attack by *Esr1+* neurons in the ventromedial hypothalamus. *Nature*, 509, 627–632.
- Leng, G. & Ludwig, M. 2008. Neurotransmitters and peptides: whispered secrets and public announcements. *J. Physiol.*, 586:5625-5632.
- Lévy, F., Poindron, P., Le Neindre, P. 1983. Attraction and repulsion by amniotic fluids and their olfactory control in the ewe around parturition. *Physiol Behav.*, 31:687-692.
- Li, J., Li, H., Shou, X., Xu, X., Song, T., Han, S., Zhang, R., Han, J. 2016. Effects of chronic restraint stress on social behaviors and the number of hypothalamic oxytocin neurons in male rats. *Neuropeptides*, Dec, 60:21-28.
- Li, M. & Fleming, A. 2003b. The nucleus accumbens shell is critical for normal expression of pup-retrieval in postpartum female rats. *Behav. Brain Res.*, 145:99–111.
- Lifjeld, J., Dunn, P., Robertson, R., Boag, P. 1993. Extra-pair paternity in monogamous tree swallows. *Animal Behavior*, 45:213–229.
- Lim, M. & Young L. 2006. Neuropeptidergic regulation of affiliative behavior and social bonding in animals. *Horm. Behav.* 50:506-517.
- Lin, D., Boyle, M., Dollar, P., Lee, H., Lein, E., Perona, P., Anderson, D. 2011. Functional identification of an aggression locus in the mouse hypothalamus. *Nature*, 470, 221–226.
- Lopatina, O., Inzhutova, A., Pichugina, Y., Okamoto, H., Salmina, A., Higashida, H. 2011. Reproductive experience affects parental retrieval behaviour associated with increased plasma oxytocin levels in wild-type and CD38-knockout mice. *J. Neuroendocrinol*, 23:1125-1133.
- Lubin, D., Elliott, J., Black, M., Johns, J., 2003. An oxytocin antagonist infused into the central nucleus of the amygdala increases maternal aggressive behavior. *Behavior Neuroscience*, 117, 195–201
- Lucas, B., Ormandy, C., Binart, N., Bridges, R., Kelly, P. 1998. Null mutation of the prolactin receptor gene produces a defect in maternal behavior. *Endocrinology*, 139, 4102–4107.

- Lukas, M., Toth, I., Reber, S., Slattery, D., Veenema, A., Neumann, I.** 2011. The neuropeptide oxytocin facilitates prosocial behavior and prevents social avoidance in rats and mice. *Neuropsychopharmacology*, 36, 2159–2168.
- Lukas, M., Toth, I., Veenema, A., Neumann, I.** 2013. Oxytocin mediates rodent social memory within the lateral septum and the medial amygdala depending on the relevance of the social stimulus: male juvenile versus female adult conspecifics. *Psychoneuroendocrinology*, 38:916-926.
- Macbeth, A., Stepp, J., Lee, H., Young, W. 3rd, Caldwell, H.** 2010. Normal maternal behavior, but increased pup mortality, in conditional oxytocin receptor knockout females. *Behav. Neurosci.*, 124:677-685.
- Mackay, M., Rymer, T., Pillay, N.** 2014. Separation at weaning from the family is stressful for naturally group-living, but not solitary-living, male African striped mice *Rhabdomys*. *Stress*. May, 17(3):266-74.
- Manning, M., Barbeis, C., Balestre, M., Jard, S., Tribollet, E., Arsenijevic, Y., Dreifuss, J., Bankowski, K., Chan, W., Schlosser, S.** 1995. Characterization of a novel, linear radioiodinated vasopressin antagonist: an excellent radioligand for vasopressin V1a receptors. *Neuroendocrinology*, Aug., 62(2):135-46.
- Manning, M., Stoev, S., Chini, B., Durroux, T., Mouillac, B., Guillon, G.** 2008. Peptide and non-peptide agonists and antagonists for the vasopressin and oxytocin V1a, V1b, V2 and OT receptors: research tools and potential therapeutic agents. *Prog Brain Res.*, 170:473-512.
- Martin, S. & Clark, R.** 2007. The rodent hippocampus and spatial memory: from synapses to systems. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 64(4), 401–431.
- Maruya, H., Watanabe, Y., Okita, M., Lawlor, G., Utsumi, H., Niitsuma, T.** 2003. Inhibitory effects of D2 agonists by striatal injection on excessive release of dopamine and hyperactivity induced by Bay K 8644 in rats. *Neuroscience* (118), 1091–1098.
- Mayer, A.** 1983. The ontogeny of maternal behavior in rodents. In: *Parental behavior of rodents* (Elwood, R. Ed.), pp. 1–20. Chichester, England: Wiley.
- Mayer, A., & Rosenblatt, J.** 1979. Ontogeny of maternal behavior in the laboratory rat: Early origins in 18- to 27-day-old young. *Developmental Psychobiology*, 12, 407–424.
- McCabe, T. & Blanchard, B.** 1950. Three species of *Peromyscus*. *Journal of Mammalogy*. Volume 32, Issue 4, Pages 475–477.
- McCarthy, M.** 1990. Oxytocin inhibits infanticide in female house mice (*Mus domesticus*). *Horm. Behav.*, 24:365-375.
- McCarthy, M.** 1995. Estrogen modulation of oxytocin and its relation to behavior. *Adv Exp Med Biol.*, 395:235-245.
- Menon, R., Grund, T., Zoicas, I., Althammer, F., Fiedler, D., Biermeier, V., Neumann, I.** 2018. Oxytocin Signaling in the Lateral Septum Prevents Social Fear during Lactation. *Current Biology*, 28(7), 1066–1078.e6.
- Merritt, J.** 1974. Factors influencing the local distribution of *Peromyscus californicus* in northern California. *Journal of Mammalogy*, 55:102-114.
- Mir, D. & Pérez-Lucena, E.** 1987. Effects of nucleus accumbens lesions in rats on spatial preference in an open field. *Rev. Esp. Fisiol., Sep.*, 43(3):345-9.
- Moaddab, M., Hyland, B., Brown, C.** 2015. Oxytocin excites nucleus accumbens shell neurons in vivo. *Mol. Cell Neurosci.*, 68:323-330.
- Mogenson, G., Takigawa, M., Robertson, A, Wu, M.** 1979. Self-stimulation of the nucleus accumbens and ventral tegmental area of Tsai attenuated by microinjections of spiroperidol into the nucleus accumbens. *Brain Res.*, 171:247-259.

- Mooney, S., Coen, C., Holmes, M., Beery, A.** 2015. Region-specific associations between sex, social status, and oxytocin receptor density in the brains of eusocial rodents. *Neuroscience*, 303, 261–269.
- Mota, M. & Sousa, M.** 2000. Prolactin levels of fathers and helpers related to alloparental care in common marmosets, *Callithrix jacchus*. *Folia Primatol (Basel)*. Jan-Apr,71(1-2):22-6.
- Mykytowycz, R. & Goodrich, B.** 1974. Skin glands as organs of communication in mammals. *J. Invest. Dermatol.*, 62:124–131.
- Natynczuk, S. & Macdonald, D.** 1994. Scent, sex, and the self-calibrating rat. *J. Chem. Ecol.*, 20:1843–1857.
- Nel, J.** 1975. Aspects of the social ethology of some Kalahari rodents. *Zeitschrift für Tierpsychologie*, 37, 322–331.
- Nelson, R. & Trainor, B.** 2007. Neural mechanisms of aggression. *Nat. Rev. Neurosci.*, Jul.8 (7):536-46.
- Nephew, B. & Bridges, R.** 2008. Central actions of arginine vasopressin and a V1a receptor antagonist on maternal aggression, maternal behaviour, and grooming in lactating rats. *Pharmacol Biochem. Behav.*, 91:77-83.
- Neumann, I. & Landgraf, R.** 2012. Balance of brain oxytocin and vasopressin: implications for anxiety, depression, and social behaviors. *Trends Neurosci.*, 35:649-659.
- Neumann, I. & Slattery, D.** 2016. Oxytocin in general anxiety and social fear: a translational approach. *Biol Psychiatry*, 79:213-221.
- Nickerson, K., Bonsness, R., Douglas, R., Condliffe, P., Du Vigneaud, V.** 1954. Oxytocin and milk ejection. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 67:1028-1034.
- Noirot, E.** 1972. Ultrasounds and maternal behavior in small rodents. *Dev. Psychobiol.*, 5(4):371-87.
- Numan, M. & Insel, T.** 2003. The Neurobiology of Parental Behavior. *Hormones, Brain, and Behavior*.
- Numan, M. & Sheehan T.** 1997. Neuroanatomical Circuitry for Mammalian Maternal Behavior. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 807(1 Integrative N), 101–125.
- Numan, M. & Woodside, B.** 2010. Maternity: neural mechanisms, motivational processes, and physiological adaptations. *Behav. Neurosci.*, Dec. 12, 4(6):715-41.
- Numan, M. & Young, L.** 2016. Neural mechanisms of mother-infant bonding and pair bonding: Similarities, differences, and broader implications. *Horm. Behav.*, 77:98-112.
- Numan, M., Fleming, A., Levy, F.** 2006. Maternal behavior. In: *Physiology of Reproduction*. (Neill, J. editor) Vol. 2. pp. 1921–1993, Academic Press; San Diego,.
- Numan, M., Morrell, J., Pfaff, D.** 1985. Anatomical identification of neurons in selected brain regions associated with maternal behavior deficits induced by knife cuts of the lateral hypothalamus in rats. *J Comp Neurol.*, 237:552-564.
- Numan, M., Rosenblatt, J., Komisaruk, B.** 1977. Medial preoptic area and onset of maternal behavior in the rat. *J Comp Physiol Psychol.*, 91:146-164.
- Numan, M., Stolzenberg, D. (1), Zhang, K., Luskin, K., Ranker, L., Bress, J.** 2010. Dopamine D (1) receptor activation of adenylyl cyclase, not phospholipase C, in: the nucleus accumbens promotes maternal behavior onset in rats. *Horm Behav.*, Jan., 57(1):96-104.
- Numan, N.** 2011. Neural circuits regulating maternal behavior: implications for understanding the neural basis of social cooperation and competition. In: *Self-interest and beyond: toward a new understanding of human caregiving* (Brown, S., Brown, M., Penner, L., editors). 81–101Eds. New York: Oxford University Press;

- Oettl, L., Ravi, N., Schneider, M., Scheller, M., Schneider, P., Mitre, M., Da Silva, M., Froemke, R., Chao, M., Young, W., Meyer-Lindenberg, A., Grinevich, V., Shusterman, R., Kelsch, W. 2016. Oxytocin Enhances Social Recognition by Modulating Cortical Control of Early Olfactory Processing. *Neuron*, 90(3), 609-21.
- Okabe, S., Tsuneoka, Y., Takahashi, A., et al. 2017. Pup exposure facilitates retrieving behavior via the oxytocin neural system in female mice. *Psychoneuroendocrinology*, 79:20-30.
- Olazábal, .E, Pereira, M., Agrati, D., et al. 2013a. Flexibility and adaptation of the neural substrate that supports maternal behavior in mammals. *Neurosci Biobehav Rev.*, 37:1875-1892.
- Olazábal, .E, Pereira, M., Agrati, D., et al. 2013b. New theoretical and experimental approaches on maternal motivation in mammals. *Neurosci Biobehav Rev.*, 37:1860-1874.
- Olazábal, D. & Alsina-Llanes M. 2016. Are age and sex differences in brain oxytocin receptors related to maternal and infanticidal behavior in naïve mice? *Horm Behav.*, 77:132-140.
- Olazábal, D. & Morrell, J. 2005. Juvenile rats show reduced c-fos activity in neural sites associated with aversion to pups and inhibition of maternal behavior. *Behav Neurosci.*, Aug. 119(4):1097-110.
- Olazábal, D. & Young, L. 2005. Variability in "spontaneous" maternal behavior is associated with anxiety-like behavior and affiliation in naive juvenile and adult female prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Dev. Psychobiol*, 47:166–178.
- Olazábal, D. & Young, L. 2006a. Species and individual differences in juvenile female alloparental care are associated with oxytocin receptor density in the striatum and the lateral septum. *Horm Behav.*, 49:681-687.
- Olazábal, D. & Young, L. 2006b. Oxytocin receptors in the nucleus accumbens facilitate "spontaneous" maternal behavior in adult female prairie voles. *Neuroscience*, 141:559-568.
- Olazábal, D. & Young, L. 2008. Oxytocin and individual variation in parental care in prairie voles, Chapter 21. In: *Neurobiology of the Parental Brain* (Bridges, R., ed.) 333-345, San Diego, CA: Academic Press.
- Olazábal, D. 2014. Comparative analysis of oxytocin receptor density in the nucleus accumbens: an adaptation for female and male alloparental care? *J Physiol Paris*, 108:213-220.
- Olazábal, D. 2018. Role of oxytocin in parental behaviour. *J Neuroendocrinol.* Jul. 30 (7):e12594.
- Osgood, W. 1909. A revisión of the mice of the American Genus *Peromyscus*. *North American Fauna*, Number 28: pp. 1 – 285.
- Pedersen, C. 2013. Oxytocin regulation of maternal behavior: from rodents to humans, Chapter 9. In: *Oxytocin, Vasopressin, and Related Peptides in the Regulation of Behavior*. (Choleris, E., Pfaff, D., Kavaliers, M., eds.) 148-183, New York, NY: Cambridge University Press.
- Pedersen, C., Ascher, J., Monroe, Y., Prange, A. Jr. 1982. Oxytocin induces maternal behavior in virgin female rats. *Science*, 216:648-650.
- Pedersen, C., Caldwell, J., Johnson, M., Fort, S., Prange, A. Jr. 1985. Oxytocin antiserum delays onset of ovarian steroid-induced maternal behavior. *Neuropeptides*, 6:175-182.
- Pedersen, C., Caldwell, J., Walker, C., Ayers, G., Mason, G. 1994. Oxytocin activates the postpartum onset of rat maternal behavior in the ventral tegmental and medial preoptic areas. *Behav Neurosci.*, 108:1163-1171.
- Pedersen, C., Prange, A. Jr. 1979. Induction of maternal behavior in virgin rats after intracerebroventricular administration of oxytocin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76:6661-6665.

- Perea-Rodriguez, J., Takahashi, E., Amador, T., Hao, R., Saltzman, W., Trainor, B.** 2015. Effects of Reproductive Experience on Central Expression of Progesterone, Oestrogen α , Oxytocin and Vasopressin Receptor mRNA in Male California Mice (*Peromyscus californicus*). *Journal of Neuroendocrinology*, 27(4), 245–252.
- Pereira, M. & Morrell, J.** 2011. Functional mapping of the neural circuitry of rat maternal motivation: effects of site-specific transient neural inactivation. *J. Neuroendocrinol*, 23:1020-1035.
- Peris, J., Mac Fadyen, K., Smith, J., De Kloet A., Wang, L., Krause, E.** 2017. Oxytocin receptors are expressed on dopamine and glutamate neurons in the mouse ventral tegmental area that project to nucleus accumbens and other mesolimbic targets. *J. Comp. Neurol.*, 525:1094-1108.
- Perrin, M.** 1980. The feeding habits of two co-existing rodents, *Rhabdomys pumilio* (Sparman, 1784) and *Otomys irroratus* (Brants, 1827), in relation to rainfall and reproduction. *Acta Oecologica*, 1, 71–89
- Peterson, G., Mason, G., Barakat, A., Pedersen, C.** 1991. Oxytocin selectively increases holding and licking of neonates in preweanling but not postweanling juvenile rats. *Behav. Neurosci*, 105:470-477.
- Poindron, P., Lévy, F., Krehbiel, D.** 1988. Genital, olfactory, and endocrine interactions in the development of maternal behaviour in the parturient ewe. *Psychoneuroendocrinology*, 13(1-2):99-125.
- Popik, P., Vetulani, J., Bisaga, A., Van Ree, J.** 1991. Recognition cue in the rat's social memory paradigm. *J. Basic Clin. Physiol. Pharmacol*, 2:315–327.
- Quillfeldt, P., Schmoll, T., Peter, H., Epplen, J., Lubjuhn, Y.** 2001. Genetic monogamy in Wilson's Storm-Petrel. *The Auk*, 118, 242–8.
- Quinn, T., Quinn, J., Cooke, F., White, B.** 1987. DNA marker analysis detects multiple maternity and paternity in single broods of the lesser snow goose. *Nature*, 326:392–394.
- Radley, J. & Sawchenko, P.** 2011. A Common Substrate for Prefrontal and Hippocampal Inhibition of the Neuroendocrine Stress Response. *Journal of Neuroscience*, 31(26), 9683–9695.
- Ragnauth, A., Devidze, N., Moy, V., et al.** 2005. Female oxytocin gene-knockout mice, in a semi-natural environment, display exaggerated aggressive behavior. *Genes Brain Behav.*, 4:229-239.
- Rambau, R., Stanyon, R., Robinson, T.** 2003. Molecular genetics of *Rhabdomys pumilio* subspecies boundaries: mtDNA phylogeography and karyotypic analysis by fluorescence in situ hybridization. *Mol Phylogenet Evol.*, Sep. 28 (3):564-75.
- Ribble, D. & Salvioni, M.** 1990. Social organization and nest co-occupancy in *Peromyscus californicus*, a monogamous rodent. *Behav. Ecol. Sociobiol*, 26, 9–15.
- Ribble, D.** 1990. Population and Social Dynamics of the California mouse (*Peromyscus californicus*). Ph.D. thesis, University of California, Berkeley.
- Ribble, D.** 1991. The Monogamous Mating System of *Peromyscus californicus* as Revealed by DNA Fingerprinting. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 29(3), 161-166.
- Ribble, D.** 1992a. Dispersal in a Monogamous Rodent, *Peromyscus Californicus*. *Ecology*, 73(3), 859–866.
- Ribble, D.** 1992b. Lifetime reproductive success and its correlates in the monogamous rodent, *Peromyscus californicus*. *Journal of Animal Ecology*, 61, 457–68.
- Ribble, D.** 2003. The evolution of social and reproductive monogamy in *Peromyscus*: evidence from *Peromyscus californicus* (the California mouse). *Monogamy*, 81–92.

- Roberts, R., Williams, J., Wang, A., Carter, C.** 1998. Cooperative breeding and monogamy in prairie voles: Influence of the sire and geographical variation. *Animal Behaviour*, 55, 1131–1140.
- Rosenblatt, J. & Ceus, K.** 1998. Estrogen Implants in the Medial Preoptic Area Stimulate Maternal Behavior in Male Rats. *Hormones and Behavior*, 33(1), 23–30.
- Rosenblatt, J.** 1967. Nonhormonal basis of maternal behavior in the rat. *Science*, Jun 16;156(3781):1512-4.
- Ross, H. & Young, L.** 2009. Oxytocin and the neural mechanisms regulating social cognition and affiliative behavior. *Front. Neuroendocrinol.* Oct. 30(4):534-47.
- Rymer, T. & Pillay, N.** 2012. Maternal care in the African striped mouse *Rhabdomys pumilio*: A behaviorally flexible phenotype that is modified by experience. *Developmental Psychobiology*, 55(3), 265–274.
- Saltzman, W., Harris, B., De Jong, T., et al.** 2017. Paternal care in biparental rodents: intra-and inter-individual variation. *Integr. Comp. Biol.*, 57:589-602.
- Sanchez-Andrade, G. & Kendrick, K.** 2009. The main olfactory system and social learning in mammals. *Behav. Brain Res.*, 200:323–335.
- Santema, P. & Clutton-Brock, T.** 2012. Dominant female meerkats do not use aggression to elevate work rates of helpers in response to increased brood demand. *Anim. Behav.* Mar;83(3-2):827-832.
- Schoepf, I. & Schradin, C.** 2012. Better off alone! Reproductive competition and ecological constraints determine sociality in the African striped mouse (*Rhabdomys pumilio*). *J. Anim. Ecol.* 81, 649–656.
- Schoepf, I. & Schradin, C.** 2013. Endocrinology of sociality: comparisons between sociable and solitary individuals within the same population of African striped mice. *Horm. Behav.* 64, 89–94.
- Schorscher-Petcu, A., Dupré, A., Tribollet, E.** 2009. Distribution of vasopressin and oxytocin binding sites in the brain and upper spinal cord of the common marmoset. *Neurosci. Lett.*, 461:217-222.
- Schradin, C. & Pillay, N.** 2003. Paternal care in the social and diurnal striped mouse (*Rhabdomys pumilio*): laboratory and field evidence. *Journal of Comparative Psychology*, 117, 317–324.
- Schradin, C. & Lindholm, A.** 2011. Relative fitness of alternative male reproductive tactics in a mammal varies between years. *J. Anim. Ecol.*, 80, 908–917.
- Schradin, C. & Pillay, N.** 2004. Prolactin levels in paternal striped mouse (*Rhabdomys pumilio*) fathers. *Physiol Behav.*, 81:43-50.
- Schradin, C. & Pillay, N.** 2005a. Intraspecific variation in the spatial and social organization of the African striped mouse. *Journal of Mammalogy*, 86, 99–107.
- Schradin, C. & Pillay, N.** 2005b. Demography of the striped mouse (*Rhabdomys pumilio*) in the succulent karoo. *Mammalian Biology*, 70, 84–92.
- Schradin, C.** 2004. Territorial defence in a group-living solitary forager: who, where, against whom? *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 55, 439–446.
- Schradin, C.** 2008. Differences in prolactin levels between three alternative male reproductive tactics in striped mice (*Rhabdomys pumilio*). *Proc. R. Soc., London B* 275, 1047–1052.
- Schradin, C., Kinahan, A., Pillay, N.** 2009. Cooperative breeding in groups of synchronously mating females and evolution of large testes to avoid sperm depletion in African striped mice. *Biology of Reproduction*, 81, 111–117.
- Schradin, C., König, B., Pillay, N.** 2010. Reproductive competition favours solitary living while ecological constraints impose group-living in African striped mice. *J. Anim. Ecol.*, 79, 515–521.

- Schradin, C., Lindholm, A., Johannesen, J., Schoepf, I., Yuen, C., König, B., et al., 2012. Social flexibility and social evolution in mammals: a case study of the African striped mouse (*Rhabdomys pumilio*). *Mol. Ecol.* 21, 541–553.
- Schradin, C., Lindholm, A., Johannesen, J., Schoepf, I., Yuen, C., König, B., Pillay, N. 2012. Social flexibility and social evolution in mammals: a case study of the African striped mouse (*Rhabdomys pumilio*). *Mol Ecol.*, Feb 21(3):541-53.
- Schradin, C., William, R., Krackow, S., Carter, S. 2013. Staying put or leaving home: endocrine, neuroendocrine and behavioral consequences in male African striped mice. *Hormones and Behavior*, 63, 136-143.
- Schradin, C., Yuen, C. 2011. Hormone levels of male African striped mice change as they switch between alternative reproductive tactics. *Horm. Behav.* 60, 676– 680.
- Schubert, M., Pillay, N., Schradin, C. 2009. Parental and alloparental care in a polygynous mammal. *Journal of Mammalogy*, Volume 90, Issue 3, 2, Pages 724–731.
- Shapiro, L. & Insel, T. 1989. Ontogeny of oxytocin receptors in rat forebrain: a quantitative study. *Synapse*, 4:259-266.
- Shapiro, L. & Insel, T. 1990. Infant's response to social separation reflects adult differences in affiliative behavior: a comparative developmental study in prairie and montane voles. *Dev. Psychobiol.*, Jul. 23, (5):375-93.
- Sheehan, T. & Numan, M., 2000. The septal region and social behavior, in: *The Behavioral Neuroscience of the Septal Region* (Numan, R., Springer-Verlag, E.), pp. 175 – 209, New York.
- Sheehan, T., Chambers, R., Russell, D. 2004. Regulation of affect by the lateral septum: implications for neuropsychiatry. *Brain Research Reviews*, 46(1), 71–117.
- Sheehan, T., Paul, M., Amaral, E., Numan, M., Numan, M. 2001. Evidence that the medial amygdala projects to the anterior/ventromedial hypothalamic nuclei to inhibit maternal behavior in rats. *Neuroscience*, 106:341-356.
- Smith, C., Poehlmann, M., Li, S., Ratnaseelan, A., Bredewold, R., Veenema, A. 2017. Age and sex differences in oxytocin and vasopressin V1a receptor binding densities in the rat brain: focus on the social decision-making network. *Brain Struct. Funct.*, 222:981- 1006.
- Smith, M. 1979. Geographic variation in Genic and Morphological characters in *Peromyscus californicus*. *Journal of Mammalogy*, Volume 60, Issue 4, 20. Pages 705–722.
- Song, Z. & Albers, H. 2017. Cross-talk among oxytocin and arginine-vasopressin receptors: Relevance for basic and clinical studies of the brain and periphery. *Front. Neuroendocrinol.*, pii: S0091-302230064.
- Song, Z., Tai, F., Yu, C., et al. 2010. Sexual or paternal experiences alter alloparental behavior and the central expression of ERalpha and OT in male mandarin voles (*Microtus mandarinus*). *Behav. Brain Res.*, 214:290-300.
- Song, Z., Tai, F., Yu, C., Wu, R., Zhang, X., Broders, H., He, F., Guo, R. 2010. Behav Brain Res. Sexual or paternal experiences alter alloparental behavior and the central expression of eralpha and OT in male mandarin voles. *Microtus mansarinus*. Dec 25, 214(2):290-300.
- Stern, J. 1996. Somatosensation and maternal care in Norway rats. In: *Advances in the Study of Behavior* (Rosenblatt, J., Snowdon, C., eds) vol. 25, 243-294, San Diego, CA: Academic Press.
- Stolzenberg, D. & Rissman, E. 2011. Oestrogen-independent, experience-induced maternal behaviour in female mice. *J. Neuroendocrinol.*, Apr 23 (4):345-54.
- Stopka, P., Janotova, K., Heyrovsky, D. 2007. The advertisement role of major urinary proteins in mice. *Physiol. Behav.*, 91:667–670.
- Svihla, A. 1932. A comparative life history study of the mice of the genus *Peromyscus*. *University of Michigan Museum of Zoology*, Miscellaneous Publications, 24:1-39.

- Swanson, L. & Sawchenko, P.** 1980. Paraventricular nucleus: a site for the integration of neuroendocrine and autonomic mechanisms. *Neuroendocrinology*, Dec;31(6):410-7.
- Takayanagi, Y, Yoshida, M., Bielsky, I., et al.** 2005. Pervasive social deficits, but normal parturition, in oxytocin receptor-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 102:16096-16101.
- Taylor, K. & Green, M.** 2009. The influence of rainfall on diet and reproduction in four African rodent species. *Journal of Zoology*, 180(3), 367–389.
- Tecot, S., Singletary, B., Eadie, E.** 2015. Why “monogamy” isn't good enough. *American Journal of Primatology*.
- Terenzi, M. & Ingram, C.** 2005. Oxytocin-induced excitation of neurones in the rat central and medial amygdaloid nuclei. *Neuroscience*, 134:345-354.
- Tomizawa, K., Iga, N., Lu, Y., Moriwaki, A., Matsushita, M., Li, S., Matsui, H.** 2003. Oxytocin improves long-lasting spatial memory during motherhood through MAP kinase cascade. *Nature Neuroscience*, 6(4), 384–390.
- Tribollet, E., Audigier, S., Dubois-Dauphin, M., Dreifuss, J.** 1990. Gonadal esterooids regulate oxytocin receptors but not vasopressin receptors in the brain of male and female rats. An autoradiographical study. *Brain Res.*, 511:129-140.
- Tribollet, E., Dubois-Dauphin, M., Dreifuss, J., Barberis, C., Jard, S.** 1992. Oxytocin receptors in the central nervous system. Distribution, development, and species differences. *Ann NY Acad Sci*, 652:29-38.
- Uvnäs-Moberg K.** 1998. Oxytocin may mediate the benefits of positive social interaction and emotions. *Psychoneuroendocrinology*, 23:819-835.
- Vaidyanathan, R. & Hammock, E.** 2017. Oxytocin receptor dynamics in the brain across development and species. *Dev. Neurobiol.*, 77:143-157.
- Van Wimersma Greidanus, T. & Maigret, C.** 1996. The role of limbic vasopressin and oxytocin in social recognition. *Brain Res*, 713:153–159.
- Walker, D., Toufexis, D., Davis, M.** 2003. Role of the bed nucleus of the stria terminalis versus the amygdala in fear, stress, and anxiety. *European Journal of Pharmacology*, 463(1-3), 199–216.
- Wamboldt, M. & Insel, T.** 1987. The ability of oxytocin to induce short latency maternal behavior is dependent on peripheral anosmia. *Behav. Neurosci.*, 101:439-441.
- Wang, B., Li, Y., Wu, R., Zhang, S., Tai, F.** 2015. Behavioral responses to pups in males with different reproductive experiences are associated with changes in central OT, TH and OTR, D1R, D2R mRNA expression in mandarin voles. *Horm. Behav.*, 67:73-82.
- Wang, Z., Young, L., De Vries, G., Insel, T.** 1998. Voles and vasopressin: a review of molecular, cellular, and behavioral studies of pair bonding and paternal behaviors. *Prog. Brain Res.*, 119:483-499.
- Waser, P.** 1985. Does competition drive dispersal? *Ecology*, 66:1170-1175.
- Wilson, Don, Reeder, DeeAnn, Eds.** 2005. «Mus musculus». *Mammal Species of the World* (en inglés) (3ª edición). Baltimore: Johns Hopkins University Press, 2 vols. (2142 pp.).
- Windle, R.** 2004. Oxytocin Attenuates Stress-Induced c-fos mRNA Expression in Specific Forebrain Regions Associated with Modulation of Hypothalamo-Pituitary-Adrenal Activity. *Journal of Neuroscience*, 24(12), 2974–2982.
- Winslow, J., Hastings, N., Carter, C., Harbaugh, C., Insel, T.** 1993. A role for central vasopressin in pair bonding in monogamous prairie voles. *Nature*. Oct 7; 365(6446):545-8.
- Witt, D., Carter C., Insel, T.** 1991. Oxytocin receptor binding in female prairie voles: endogenous and exogenous oestradiol stimulation. *J. Neuroendocrinol*, 3:155-161.

- Wolff J.** 1989. Advances in the study of *Peromyscus* (Rodentia). *Social behavior*, Pages 271-291.
- Wong, L., Wang, L., D'Amour, J., Yumita, T., Chen, G., Yamaguchi, T., Lin, D.** 2016. Effective Modulation of Male Aggression through Lateral Septum to Medial Hypothalamus Projection. *Current Biology*, 26(5), 593–604.
- Woods, W., Holland, R., Powell, E.** 1969. Connections of cerebral structures functioning in neurohypophysial hormone release. *Brain Research*, 12(1), 26–46.
- Wyss, J. & Sripanidkulchai, K.** 1983. The indusium griseum and anterior hippocampal continuation in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 219(3), 251–272.
- Yang, C., Chiang, M., Gray, D., Prabhakaran, M., Alvarado, M., Juntti, S., Unger, E., Wells, J., and Shah, N.** 2013. Sexually dimorphic neurons in the ventromedial hypothalamus govern mating in both sexes and aggression in males. *Cell*, 153, 896–909.
- Young, L. & Frank A.** 1999. Beach Award. Oxytocin and vasopressin receptors and species-typical social behaviors. *Horm. Behav.* 36:212–221.
- Young, L. & Wang, Z.** 2004. The neurobiology of pair bonding. *Nat. Neurosci.*, Oct; 7(10):1048-54.
- Young, L., Wang, Z., Insel, T.** 1998. Neuroendocrine bases of monogamy. *Trends Neurosci.*, Feb;21(2):71-5.
- Yu, G., Kaba, H., Okutani, F., Takahashi, S., Higuchi, T., Seto, K.** 1996. The action of oxytocin originating in the hypothalamic paraventricular nucleus on mitral and granule cells in the rat main olfactory bulb. *Neuroscience*, 72:1073–1082.
- Zhang, K., Tarazi, F., Baldessarini, R.** 2001. Role of dopamine D4 Receptors in motor hyperactivity induced by neonatal 6-hydroxydopamine lesions in rats. *Neuropsychopharmacology*, 25, 624–632.
- Zoicas, I., Slattery, D., Neumann, I.** 2014. Brain Oxytocin in Social Fear Conditioning and Its Extinction: Involvement of the Lateral Septum. *Neuropsychopharmacology*, 39 (13), 3027–3035.