

Setiembre, 2014

TESIS DE
MAESTRÍA
PEDECIBA
SUB ÁREA
CIENCIAS
FISIOLÓGICAS

INFLUENCIA DEL SISTEMA DE
NEUROTRANSMISIÓN DOPAMINÉRGICO EN
ASPECTOS MOTIVACIONALES DE LOS
COMPORTAMIENTOS MATERNAL Y SEXUAL
DE LA RATA DURANTE EL ESTRO POSPARTO



Marcela Ferreño

Orientadora: Dra. Daniella Agrati
Co orientadora: Dra. Annabel Ferreira

ÍNDICE

| | |
|--|----|
| Abreviaturas..... | 3 |
| Resumen | 4 |
| Abstract..... | 6 |
| 1. Introducción..... | 8 |
| 2. Planteamiento del problema e hipótesis..... | 25 |
| 3. Objetivo general..... | 26 |
| 4. Estrategia experimental..... | 26 |
| 5. Metodología general..... | 27 |
| 6. Experimento I: Efecto de la reducción de la neurotransmisión dopaminérgica en la elección entre dos reforzadores: crías vs macho..... | 33 |
| 7. Experimento II: Efecto de la reducción de la neurotransmisión dopaminérgica en la elección entre un reforzador –crías o macho- y un estímulo social neutro..... | 39 |
| 8. Experimento III: Efecto de la reducción de la neurotransmisión dopaminérgica en la elección entre dos reforzadores –crías y macho- y un estímulo social neutro..... | 43 |
| 9. Discusión..... | 52 |
| 10. Conclusiones..... | 64 |
| 11. Perspectivas..... | 66 |
| Referencias..... | 67 |

ABREVIATURAS

APOM- área preóptica media

ATV- área tegmental ventral

CPFm- corteza prefrontal medial

DA- dopamina

EPP- estro posparto

HAL- haloperidol

HVM- hipotálamo ventro medial

NAcc- núcleo accumbens

SNC- sistema nervioso central

RESUMEN

Durante el estro posparto (EPP) las ratas se encuentran maternal y sexualmente motivadas, sin embargo en una situación de elección entre crías y un macho prefieren a las crías, indicando que en este contexto las mismas poseen un mayor valor de incentivo que el macho. Se ha propuesto que el sistema de neurotransmisión dopaminérgico media la asignación del valor de incentivo de las crías en madres y del macho en hembras sexualmente activas. Sin embargo manipulaciones de este sistema generan un impacto mayor en la expresión de la motivación maternal que en la de la sexual, aunque se desconoce el efecto de estas manipulaciones cuando ambas motivaciones se expresan simultáneamente. Sobre esta base, postulamos que durante el EPP, la actividad del sistema dopaminérgico mediaría la asignación del mayor valor de incentivo de las crías respecto al macho. Para probar esta hipótesis, determinamos el efecto de la administración sistémica del antagonista dopaminérgico haloperidol (HAL: 0,0; 0,025 y 0,05 mg/kg, sc) en la preferencia de las hembras en EPP por crías vs un macho. El HAL redujo la preferencia de las hembras por las crías en una situación de elección entre éstas y un macho, evidenciando el rol de la dopamina en el valor de incentivo de las crías relativo al macho. En una segunda instancia, para determinar si la reducción de la neurotransmisión dopaminérgica afecta de manera diferente a ambas motivaciones cuando no están compitiendo entre sí, evaluamos el efecto del HAL (0,0 y 0,05 mg/kg, sc) de forma independiente en la preferencia de las hembras en EPP por un reforzador -crías o macho- vs una hembra no-receptiva sexualmente. La administración de HAL no eliminó la elección de las hembras por ambos reforzadores frente a un estímulo social neutro, si bien disminuyó la preferencia por las crías. El mayor impacto de este antagonista dopaminérgico sobre la preferencia por las crías y el macho cuando ambos reforzadores se enfrentan entre sí que cuando un solo, crías o macho, se enfrenta a un estímulo social neutro, indica que en el contexto del EPP el valor de incentivo de las crías y del macho es menor cuando ambos están presentes. Finalmente, para evaluar el efecto del HAL sobre el valor de incentivo de las crías relativo al del macho considerando su valor social, determinamos el efecto de este antagonista (0,0; 0,025 y 0,05 mg/kg, sc) en un modelo de preferencia con tres

estímulos de elección (dos reforzadores: crías y macho, y un estímulo social: una hembra no-receptiva). La dosis menor de HAL provocó la pérdida de la preferencia entre crías y macho observada en el grupo control, sosteniéndose la preferencia por ambos estímulos sobre la hembra no-receptiva. Sin embargo, las hembras tratadas con la dosis alta de HAL no mostraron preferencia entre los tres estímulos. Esta ausencia de elección a la dosis máxima de HAL denota la mayor complejidad social del modelo con tres estímulos. Los resultados de esta tesis indican que durante el EPP en una situación de elección donde las crías poseen mayor valor de incentivo que el macho, la neurotransmisión dopaminérgica tiene una implicancia mayor en la regulación de la motivación maternal que en la sexual, sugiriendo diferencias en los mecanismos que controlan la expresión de ambas motivaciones. A su vez, resaltan la importancia de considerar el contexto social al analizar comportamientos motivados que implican toma de decisiones.

Palabras clave: estro posparto, motivación maternal, motivación sexual, sistema dopaminérgico, haloperidol

ABSTRACT

During the postpartum estrous (PPE) rats are maternal and sexually motivated however in a choice situation between pups and a male they choose the pups, suggesting that in this context they have a greater incentive value than to the male. The dopaminergic neurotransmission has been proposed to mediate the assignment of incentive value of the pups for a maternal rat and of the male for a sexually active female. However manipulations of this system have a greater impact on maternal than on sexual behavior, although it is unknown how these manipulations affect maternal and sexual motivations when they are co-expressed. On this basis we postulated that during the PPE the dopaminergic neurotransmission mediates the assignment of a greater incentive value to pups compared to the male. To probe this hypothesis, we determined the effect of the systemic administration of the dopaminergic antagonist haloperidol (HAL: 0.0, 0.025 and 0.05 mg/kg, sc) in the preference for pups vs male of PPE females. We observed that affecting the dopaminergic transmission reduced the clear preference for pups relative to the male when both reinforcers were confronted, showing that dopamine mediates this choice. In a second instance, to determine if this reduction of dopaminergic transmission differentially affects both motivations when they are not competing, we separately assessed the effect of HAL (0.0 and 0.05 mg/kg, sc) on the choice between pups or male and a non-receptive sexual female. HAL did not eliminate the choice for both reinforcers when confronted to a social neutral stimulus, although pup`s preference was reduced. The greater impact of this dopaminergic antagonist on pups and male preference when both reinforcers are confronted than when only one reinforcer is confronted to a social neutral stimulus indicates that during PPE the relative incentive value of the pups and a male is smaller when both are present. Finally to assess the effect of HAL on the incentive value of pups relative to the male taking into account their social value, we determined the effect of HAL (0.0, 0.025 and 0.05 mg/kg, sc) in a pups vs. male preference model including a non-receptive female as third social stimuli. The low dose of dopaminergic antagonist resulted in the loss of preference between pups and male observed in the control group, but both stimuli were still preferred over the neutral social. However females' group treated with the high dose of HAL did

not choose among the three stimuli. This lack of choice evidences the greater social complexity of this model with three stimuli. In summary, the results of this thesis show that during PPE in a choice situation in which pups have more incentive value than male, the dopaminergic transmission is more relevant for the expression of maternal motivation, suggesting the existence of differences in the mechanisms regulation both motivations. At the same time, it emphasizes the importance of the social context when analyzing motivated behaviors that imply decision making.

Key words: postpartum estrus, maternal motivation, sexual motivation, dopaminergic system, haloperidol

1. INTRODUCCIÓN

El comportamiento maternal y el sexual de las hembras son comportamientos sociales que comparten características y mecanismos neurobiológicos en todas las especies de mamíferos estudiadas. En este sentido, tanto las madres como las hembras sexualmente activas expresan comportamientos de búsqueda de proximidad con las crías y los machos, respectivamente (Stolzenberg & Numan, 2011), así como de “protesta” o “distres” ante la separación (Panksepp, 2003). La inversión de tiempo y energía para aproximarse e interactuar con las crías o con un macho en el caso de la rata –con los hijos o la pareja en el de la mujer- se conoce con el nombre de motivación (del latín: *movere*, o “razón para moverse”). Estos estados motivacionales no solo se ponen en evidencia a través del comportamiento de los individuos sino que se reflejan también en respuestas endócrinas y autónomas que dan cuenta de estos cambios (Ferreira, 2008; Smotherman, 2004). A su vez, tanto el comportamiento maternal como el sexual se basan en los afectos positivos que se originan en la interacción entre los individuos y generan experiencias que los afectan quizá de un modo más radical que otras conductas (Ferreira, 2008). Estas similitudes en el procesamiento emocional y motivacional de ambos comportamientos se asocian a la superposición de áreas neurales de control (Newman, 1999; Stolzenberg & Numan, 2011).

A pesar de estar tan ligados entre sí, históricamente estos comportamientos han sido estudiados de manera separada, en parte como consecuencia de tabúes de carácter moral que supone socialmente incorrecto considerarlos juntos (Ferreira, 2008). Sin embargo, considero de particular importancia abordarlos en conjunto para comprender qué los vincula y qué los diferencia; en suma para entender de forma más integrada cómo perciben las hembras a los hijos y a la pareja, dos estímulos complejos de relevancia biológica.

En la rata tenemos la posibilidad de estudiar ambas conductas de forma simultánea ya que ésta presenta un estro posparto (EPP) fértil la noche del

parto, período durante el cual es capaz de co-expresar ambos comportamientos –maternal hacia las crías y sexual hacia el macho- (D Agrati, Fernández-Guasti, & Ferreira, 2008; D. Agrati, Fernandez-Guasti, Ferreno, & Ferreira, 2011; Gilbert, 1984; Gilbert, Pelchat, & Adler, 1980). Esta tesis, utilizando al EPP como modelo, pretende aportar a la comprensión de los mecanismos que subyacen a la interacción de estas conductas motivadas.

1.1 Motivación y el sistema de neurotransmisión dopaminérgico

El concepto de motivación ha sido considerado necesario para comprender, por un lado, por qué el comportamiento de un individuo varía cuando se enfrenta a un mismo estímulo en distintos momentos, poniendo en evidencia factores internos que modifican el interés y el comportamiento ante el mismo estímulo. Por otra parte, ayuda a comprender la relativa estabilidad y similitud en el comportamiento de un individuo cuando busca obtener ciertos estímulos o metas con características que los hacen deseados y atractivos (o, al contrario, evitar ciertos estímulos adversos o amenazantes) (K Berridge, 2004).

Si bien el término motivación posee múltiples definiciones (Olazábal et al., 2013a), en esta tesis entendemos motivación como *el conjunto de procesos por los cuales los organismos regulan la probabilidad, proximidad y disponibilidad de un estímulo* (Salamone, 1992; Salamone & Correa, 2012). En este sentido, los organismos ejecutan comportamientos tendientes a acercarse u obtener acceso a ciertos estímulos, *estímulos reforzadores*¹ positivos, cuando éstos se encuentran a una cierta distancia física o psicológica. Esta fase de los comportamientos motivados se denomina frecuentemente *apetitiva* o de búsqueda (Craig, 1918). Una vez, que el individuo tiene acceso al estímulo, el comportamiento realizado durante la interacción es comúnmente llamado *consumatorio*. Esta diferenciación de los comportamientos motivados en dos

¹ El término **reforzador** refiere a que la interacción con estos estímulos incrementa la probabilidad de subsiguientes comportamientos (Salamone & Correa, 2002; Wise, 2004).

fases fue tradicionalmente establecida sobre la base de que la fase apetitiva involucra conductas voluntarias, flexibles y activas, que implican esfuerzo por parte del individuo y plasticidad comportamental en su expresión, mientras que la fase consumatoria consiste en comportamientos más pasivos y muchas veces reflejos (Craig, 1918). Sin embargo, esto se encuentra hoy en día en discusión fundamentalmente sobre la base de que los comportamientos denominados consumatorios implican a su vez “voluntad” de permanecer en contacto y no necesariamente son saciados o extinguidos luego de que el animal interactúa con el estímulo o alcanza la meta (Numan & Stolzenberg, 2009; Olazábal, et al., 2013a). En este sentido, en la presente tesis nos referiremos a comportamientos motivados *activos*, como aquellos comportamientos voluntarios y flexibles de búsqueda e interacción con los estímulos y *pasivos*, como aquellos comportamientos que ocurren durante la interacción y requieren menos o no requieren actividad motora como la adopción de la postura de amamantamiento de dorso arqueado (por la estimulación ventral brindada por las crías) y de lordosis (por la estimulación de los flancos y región perivaginal por parte del macho) (Olazábal, et al., 2013a).

Además de estos aspectos generales, aquellos procesos de recompensa que se desencadenan por estímulos reforzadores como es el caso de la motivación maternal o sexual, se pueden diferenciar en componentes que poseen sustratos de control parcialmente independientes (K Berridge, 2004; K Berridge, Robinson, & Aldridge, 2009; Olazábal, et al., 2013a; Salamone & Correa, 2002). Es así que Berridge y cols. (K. Berridge & Robinson, 1998; K Berridge, et al., 2009) han enfatizado en la distinción de tres componentes del proceso de recompensa: el *liking*, refiere a la reacción hedónica, afectiva de placer o displacer desencadenada por un estímulo incondicionado o condicionado; el *wanting* refiere al valor de incentivo motivacional independientemente de su valor hedónico que torna a ese estímulo deseable y lleva al individuo a su búsqueda y aproximación o alejamiento del mismo; y el *learning* que se asocia a que una vez que las señales relacionadas a la recompensa se aprenden, éstas predicen sus beneficios asociados y activan la motivación para obtener esa recompensa (Fig. 1). Si bien usualmente estos tres procesos componen el valor reforzador de un estímulo de forma conjunta,

poseen mecanismos neuronales diferenciados, por lo que es posible disecarlos. En este sentido, el *liking* estaría regulado principalmente por opioides y GABA actuando en el núcleo accumbens (NAcc), mientras que el *wanting* estaría mediado principalmente por la acción de la dopamina (DA) en la misma estructura (*vide infra*).

En línea con lo anterior, Salamone y Correa (2002) proponen a su vez que el *wanting* se podría dividir en dos componentes, uno *direcciona* referido al estímulo hacia el que es dirigido el comportamiento y otro *activacional* o energizante, vinculado al esfuerzo y al tiempo que el individuo está dispuesto a invertir para obtenerlo. Así, los aspectos *direccionales* implicarían la motivación primaria hacia estímulos reforzadores, por ej. el comportamiento es dirigido hacia el estímulo, hacia las crías en el caso de una madre y hacia un macho en el caso de una hembra sexualmente activa (Salamone, Correa, Farrar, & Mingote, 2007). Mientras que los aspectos *activacionales* refieren a los costos que está dispuesto a asumir el individuo para tener acceso (o evitar) al estímulo; por ejemplo éste puede tener que realizar conductas instrumentales que conllevan trabajo, porque habitualmente el estímulo al cual se quiere acceder está a una distancia determinada o separada por obstáculos (Salamone, 1988). Algunas de estas conductas se pueden medir en el laboratorio; por ejemplo cuánto tarda el animal en aproximarse y saltar una barrera, o en aprender a apretar una palanca para obtenerlo (Cousins, Wei, & Salamone, 1994; Ishiwari, Weber, Mingote, Correa, & Salamone, 2004; Lee, Clancy, & Fleming, 2000).

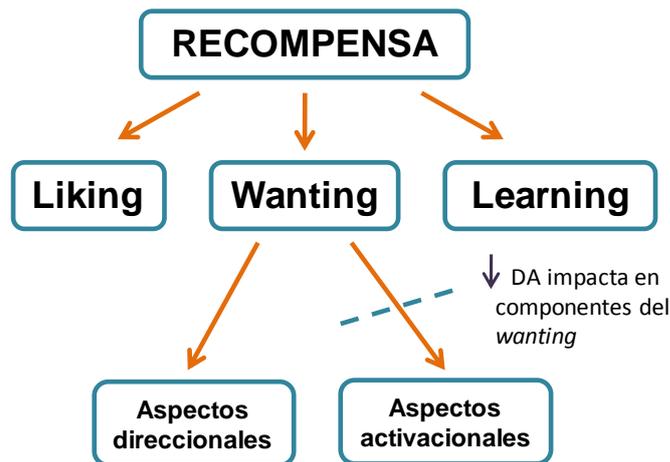


Figura 1. De acuerdo al modelo propuesto por Berridge (2004) los procesos de recompensa pueden dissociarse en tres componentes: *liking*, *wanting* y *learning*. La evidencia indica que la disminución de la actividad del sistema de neurotransmisión dopaminérgico afecta principalmente componentes del *wanting* o motivación por obtener el incentivo; particularmente en los aspectos activacionales, es decir en el tiempo y esfuerzo que los individuos invierten por obtener ese estímulo. Figura adaptada de Salamone & Correa, 2002 incorporando aspectos de Berridge, 2004.

Existe fuerte evidencia que indica que el sistema de neurotransmisión dopaminérgico mesolímbico² particularmente la DA actuando en el NAcc regula los aspectos activacionales de la motivación, pero no la dirección (Aberman & Salamone, 1999; Phillips, Vacca, & Ahn, 2008; Salamone, et al., 2007). Esto se ha probado, por ejemplo, utilizando modelos de elección en donde se presentan distintas combinaciones de un estímulo reforzador como la comida con diferentes grados de dificultad para su acceso: acceso libre a comida preferida vs. comida menos preferida, comida preferida vs. comida menos preferida con obstáculo para acceder a ambas, y comida preferida con obstáculo para acceder a ella vs. comida menos preferida pero de libre acceso. En este contexto, la administración sistémica de dosis bajas de antagonistas dopaminérgicos como el haloperidol (HAL), no reducen la ingesta o el tiempo y

² El **sistema dopaminérgico mesolímbico** está compuesto por neuronas productoras de dopamina cuyos somas se encuentran en el área ATV del cerebro medio y sus axones proyectan hacia el prosencéfalo, específicamente hacia el NAcc y tubérculo olfatorio (Björklund & Dunnett, 2007).

frecuencia que dedican a comer si no hay obstáculos que deban superar (Koch, Schmid, & Schnitzler, 2000; Salamone, Cousins, & Bucher, 1994). De igual forma, frente a obstáculos que requieren un mayor trabajo para obtener ambos alimentos, las ratas tratadas con HAL, continúan eligiendo la opción más reforzadora si ambas opciones están detrás de una barrera que deben superar. Sin embargo eligen la comida menos reforzadora pero cuya obtención requiere menos esfuerzo en aquel contexto en el cuál la opción más reforzadora se encuentra detrás de una barrera la cual debe superar para acceder al alimento (Salamone, et al., 1994). Estos resultados demuestran que la interferencia con la neurotransmisión dopaminérgica produce un patrón de efectos que no es el resultado de la supresión del apetito, de la motivación primaria por obtenerlo (aspectos direccionales), sino que parece deberse a una reducción del esfuerzo que están dispuestos a realizar para conseguirla (aspectos activacionales). En suma, la transmisión dopaminérgica principalmente en NAcc estaría implicada en la superación de los costos relacionados a la obtención de un estímulo.

Así, se ha postulado que este circuito altamente conservado juega un rol crítico en la asignación del valor de incentivo a estímulos con relevancia biológica, resultando en comportamientos adaptativos (Kelley & Berridge, 2002; Nesse & Berridge, 1997; Panksepp, Knutson, & Burgdorf, 2002), incluyendo comportamientos sociales especie-específicos como el maternal o el sexual (Numan & Stolzenberg, 2009; Pfaus, Damsma, Wenkstern, & Fibiger, 1995), así como el juego o el uso de drogas de abuso (Panksepp, 2011; Panksepp, et al., 2002). Por este motivo, se ha propuesto que el sistema dopaminérgico mesolímbico formaría parte de un sistema de motivación inespecífico ya que está involucrado en la regulación de un amplio rango de comportamientos motivados (K. Berridge & Robinson, 1998; Ikemoto & Panksepp, 1999; Robbins & Everitt, 1996).

1.2. Motivación y Comportamiento Maternal

El cuidado de las crías es esencial para la sobrevivencia de las mismas. Específicamente en los mamíferos, estos cuidados han sido atribuidos principalmente a la madre, quien usualmente cuida, alimenta y protege a su descendencia, sin embargo literatura creciente le asigna un papel al padre en estos cuidados (Olazábal, et al., 2013a; Olazábal et al., 2013b).

Las ratas hembras, muestran conductas de cuidado de las crías al nacer (Rosenblatt, 1969), lo que supone un cambio en el valor afectivo de las mismas (A. Fleming, Cheung, Myhal, & Kessler, 1989; A Fleming, Ruble, Flett, & Shaul, 1988; Kinsley & Bridges, 1990), así como el desarrollo de una motivación selectiva para interactuar con ellas (M Pereira & Ferreira, 2006). Esta rápida respuesta maternal hacia las crías neonatas ya se evidencia algunas horas antes del parto (Mayer & Rosenblatt, 1984). Pero ser madre no se traduce solamente en cuidar y alimentar a las crías, sino que también implica un cambio en la percepción del entorno. En este sentido, junto al despliegue de conductas dirigidas hacia las crías, las ratas lactantes muestran menos miedo ante estímulos auditivos repentinos (Ferreira, Pereira, Agrati, Uriarte, & Fernández-Guasti, 2002; Hard & Hansen, 1985) y menos ansiedad experimental en numerosos modelos como el campo abierto (A Fleming & Luebke, 1981), pruebas de conflicto (Ferreira, Hansen, Nielsen, Archer, & Minor, 1989) y el laberinto elevado en cruz (Bitran, Hilvers, & Kellogg, 1991; Lonstein & Stern, 1998; M. Pereira, Uriarte, Agrati, Zuluaga, & Ferreira, 2005). También desarrollan agresión maternal, atacando vigorosamente a individuos intrusos en la caja nido (M. Erskine, Denenberg, & Goldman, 1978; Ferreira & Hansen, 1986).

El repertorio conductual de cuidados directos de las crías así como los cambios afectivos que lo acompañan surge usualmente durante el parto e involucra una serie de cambios neuroendocrinos que determinan que la madre establezca un vínculo con sus crías y cambie su relación con el entorno. Así, las crías antes del parto provocan reacciones de evitación y rechazo, mientras que luego del mismo se vuelven atractivas, despertando en las madres

comportamientos de búsqueda y aproximación (A. Fleming, et al., 1989; Kinsley & Bridges, 1990; Rosenblatt, 1969). El cambio de valor afectivo y de incentivo de las crías, depende en gran medida de los cambios endócrinos de la gestación y el parto (Mayer & Rosenblatt, 1984), principalmente el aumento de los niveles de estrógenos y la rápida caída de los niveles de progesterona (Bridges, 1984). Estas hormonas junto con las hormonas hipofisarias oxitocina y prolactina, actúan en áreas del sistema nervioso central (SNC) implicadas en el control de esta conducta, como el área preóptica media (APOM) y sus eferencias (Bridges et al., 1997; Fahrbach & Pfaff, 1986; Matthews-Felton, Corodimas, Rosenblatt, & Morrell, 1995; Numan, 1994; Numan & Numan, 1997). Una vez que el comportamiento maternal se establece, el mantenimiento del mismo ya no depende de las hormonas, sino principalmente de la interacción con las crías (Bridges, 1975; Rosenblatt, 1975).

El comportamiento maternal es altamente motivado y las crías poseen un gran valor de incentivo para las nuevas madres (A Fleming, Korsmit, & Deller, 1994). En este sentido, las señales provenientes de las crías adquieren propiedades reforzadoras (A Fleming, et al., 1994) y esto ha sido evidenciado en numerosos modelos motivacionales. Las ratas lactantes desarrollan preferencia por un ambiente asociado a crías sobre uno neutro, mientras que las vírgenes no (A Fleming, et al., 1994). A su vez, en modelos de respuestas operantes las madres aprenden a apretar una palanca para tener acceso a las crías (Lee, et al., 2000) y este comportamiento es insaciable, pudiendo apretar por horas la palanca (Wilsoncroft, 1969).

Al igual que otros comportamientos motivados, el comportamiento maternal se ha dividido tradicionalmente en componentes *activos* y *pasivos*. Así, el acarreo de las crías al nido, el lamido corporal y anogenital, así como su re-arreglo en el nido han sido categorizados como componentes activos, mientras que la adopción de la postura de amamantamiento de dorso arqueado es concebida como un comportamiento pasivo, ya que es una conducta que ocurre principalmente en respuesta a la estimulación proximal de la región ventral de la hembra por las crías durante la búsqueda del pezón y la succión (Hansen &

Ferreira, 1986; Numan & Stolzenberg, 2009; Stern & Kolunie, 1991; Terkel, Bridges, & Sawyer, 1979).

Se ha propuesto que el comportamiento maternal es regulado por el sistema dopaminérgico mesolímbico, como sistema motivacional general, cuya actividad es modulada, a su vez, por áreas específicas del control (Numan & Insel, 2003; Olazábal, et al., 2013a). Si bien varias regiones han sido implicadas en el procesamiento de la información específica proveniente de las crías y en promover las respuestas maternas, el APOM es una región crítica para el despliegue del comportamiento maternal, actuando como centro de integración primaria y orquestando las respuestas maternas (Numan, 1994; Numan & Insel, 2003). En ella converge información relacionada a las crías desde múltiples modalidades sensoriales (Numan & Insel, 2003; Olazábal, Kalinichev, Morrell, & Rosenblatt, 2002; Simerly & Swanson, 1988) y posee conexiones con el ATV, el NAcc y la corteza prefrontal medial (CPFm), entre otras (Hernández-González, Navarro-Meza, Prieto-Beracoechea, & Guevara, 2005; Li & Fleming, 2003; Numan, 2006; Numan & Stolzenberg, 2009). El núcleo ventral de la estría terminal (NETv) en conjunto con el APOM se han identificado como clave en la regulación de los comportamientos de búsqueda activa de las crías (Mattson & Morrell, 2005) y de las respuestas operantes para obtenerlas (Lee, et al., 2000). En este sentido, lesiones en estas áreas afectan severamente la expresión del comportamiento maternal en animales nulíparos y primíparos (Kalinichev, Rosenblatt, Nakabeppu, & Morrell, 2000; Lonstein & De Vries, 2000; Numan, 1994). Sin embargo, Terkel (Terkel, et al., 1979) y Jacobson (Jacobson, Terkel, Gorski, & Sawyer, 1980) mostraron que los componentes activos como los acarreos, se afectan más que los pasivos, como la conducta de amamantamiento, indicando que estas regiones estarían implicadas principalmente en el control de los componentes activos y voluntarios del comportamiento maternal.

El control de las conductas activas por el APOM se ejerce a través de las proyecciones de esta área hacia al ATV, que regularía, a través de la liberación de DA, la actividad del NAcc (Numan et al., 2005a) (Figura 2). En este sentido, el nivel basal de DA en NAcc es mayor en madres adultas que en juveniles,

indicando que esto puede ser un factor que diferencie la respuesta maternal (Olazábal, Abercrombie, Rosenblatt, & Morrell, 2004). Además se ha observado que las concentraciones de DA en el NAcc aumentan durante la ejecución del comportamiento maternal (Afonso, King, Chatterjee, & Fleming, 2009a; Afonso, King, Novakov, Burton, & Fleming, 2011; Champagne et al., 2004; Hansen, Bergvall, & Nyiredi, 1993) y este aumento también ocurre frente a señales distales de las crías y previo a tomar contacto con ellas (Afonso, Shams, Jin, & Fleming, 2013). Por otra parte, tanto la administración sistémica (M Pereira, 2006; M Pereira & Ferreira, 2006; Stern & Keer, 1999), como la inyección local en el NAcc de antagonistas dopaminérgicos (Keer & Stern, 1999; Numan, et al., 2005a), reducen la ejecución de los componentes activos del comportamiento maternal. En conjunto, esta evidencia le atribuye un rol crítico a la neurotransmisión dopaminérgica en el NAcc en el control de los aspectos motivacionales, activos, del comportamiento maternal.

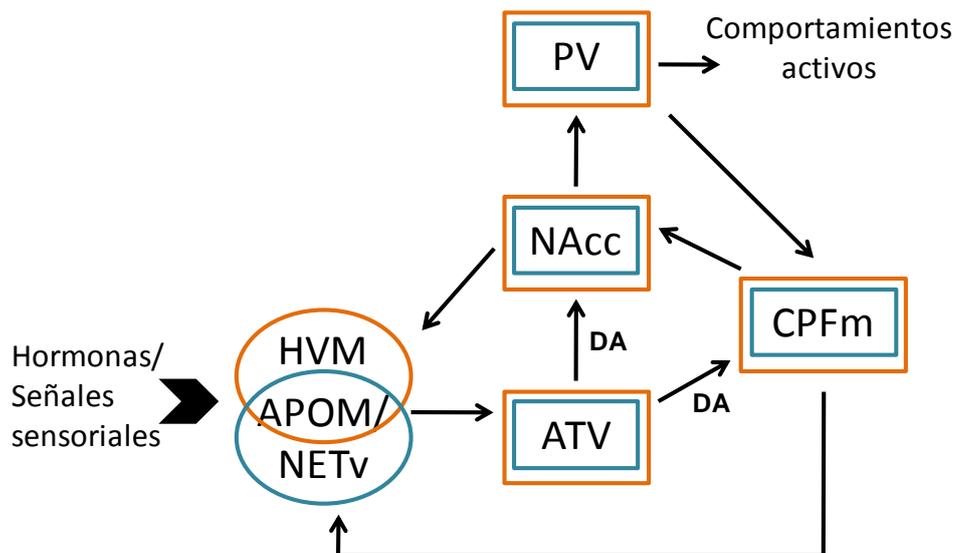


Fig 2. El esquema muestra las principales áreas implicadas en el control de las conductas activas de la motivación maternal (azul) y sexual (naranja) en la hembra. HVM (hipotálamo ventro medial), APOM (área pre óptica media), NETv (núcleo ventral de la estría terminal), ATV (área tegmental ventral), CPFm (corteza pre frontal medial), Nacc (núcleo accumbens), PV (pálido ventral). Figura adaptada de Olazábal et al, 2013 y Stolzenberg & Numan, 2011.

1.3 Motivación y Comportamiento Sexual

En la rata, la atracción sexual de la hembra hacia el macho ocurre en momentos específicos del ciclo reproductivo como consecuencia del efecto activacional de las hormonas ováricas. Así, las hembras ciclantes se encuentran sexualmente activas durante las fases del proestro tardío y estro temprano del ciclo estral, luego de la ocurrencia de los picos pre-ovulatorios de estrógenos y progestágenos (Beach, 1976).

Al igual que el comportamiento maternal, el sexual es fuertemente motivado y las hembras buscan de forma activa la cercanía del macho (Ågmo, 1999; McClintock & Anisko, 1982; Pfaus, Smith, & Coopersmith, 1999). Así para las hembras sexualmente activas los olores de los machos son fuertemente atractivos (Ågmo, 1999; Ferreira, 2008) y en condiciones naturales o semi-naturales son ellas las que inician y regulan la interacción sexual a través del despliegue de una serie de conductas de acercamiento y alejamiento del macho (McClintock & Adler, 1978).

El fuerte valor de incentivo que poseen los machos para las hembras se ha demostrado en diversos modelos (Ågmo, 1999; R Paredes & Vazquez, 1999). Es así que las hembras sexualmente activas prefieren un ambiente previamente asociado a un macho sexualmente activo que a uno neutro (G Coria-Avila et al., 2006; R Paredes & Vazquez, 1999), aprenden a apretar una palanca para tener acceso al mismo (Bermant & Westbrook, 1966) y prefieren a un macho sexualmente activo que a una hembra sexualmente activa (D Agrati, et al., 2008; Clark, Kelton, Guarraci, & Clyons, 2004).

El comportamiento sexual de la hembra, al igual que el maternal se ha clasificado en componentes activos o *proceptivos* y pasivos o *receptivos* (Beach, 1976). Se entiende como conductas proceptivas aquellos despliegues conductuales voluntarios que promueven el acercamiento del macho y facilitan la monta (M. Erskine, 1989), e incluyen pequeños saltos y carreras (*hops & darts*) y carreras más largas (solicitudes), entre otros (Beach, 1976; Graham & Pfaus, 2010). El término *receptivo* refiere la postura de lordosis, una conducta

mayormente refleja, que realiza la hembra en respuesta a la monta (Beach, 1976; McClintock & Adler, 1978). Esta diferenciación, se basa en que las conductas proceptivas son más flexibles, adaptándose a las condiciones de la interacción y están sujetas a aprendizaje, por lo que reflejan el estado motivacional de la hembra. Por otra parte, la lordosis es una conducta principalmente refleja generada en respuesta a la estimulación táctil en los flancos y la región perivaginal por el macho durante la monta (Beach, 1976).

En el control neuronal del comportamiento sexual de la hembra el APOM y el hipotálamo ventro-medial (HVM) representan áreas claves, presentando una elevada concentración de receptores de hormonas esteroideas (Barboza-Vargas, Pfaus, & Woodside, 2009; Blaustein, Tetel, Ricciardi, Delville, & YTurcotte, 1994) y recibiendo e integrando información olfatoria y genitosensorial (Kato & Sakuma, 2000; Pfaus, Kleopoulos, Moobs, Gibbs, & Pfaff, 1993), así como motivacional (Graham & Pfaus, 2012).

El HVM posee un rol fundamental en el control del comportamiento sexual de las hembras, ya que tanto la ejecución del reflejo de lordosis como las conductas proceptivas son dependientes de la acción de las hormonas principalmente actuando en este núcleo (Kow & Pfaff, 1998; Musatov, Chen, Pfaff, Kaplitt, & Ogawa, 2006; Pfaff, Kow, Loose, & Flanagan-Cato, 2008). En este sentido, HVM está implicado en el procesamiento de la información proveniente del sistema olfativo y táctil, cruciales para el despliegue de conductas activas de búsqueda y aproximación (Spiteri et al., 2010), así como para la ejecución de la lordosis (Sakuma & Pfaff, 1979a, 1979b). También recibe información proveniente de la amígdala y otras áreas cerebrales que responden a estímulos sexuales, como puede ser la estimulación vaginocervical que produce la activación de genes de expresión temprana como *Fos* en este núcleo (Pfaus, Marcangione, Smith, Manitt, & Abillamaa, 1996).

El APOM también ha sido fuertemente implicada en los aspectos consumatorios del comportamiento sexual (Takeo, Chiba, & Sakuma, 1993; Veney & Rissman, 1997) y recientemente en los componentes motivados (G.

Coria-Avila & Pfaus, 2007; Guarraci, Megroz, & Clark, 2004). La activación de esta área, recíprocamente conectada con el VMH (Fahrbach, Morrell, & Pfaff, 1989) inhibe la adopción de posturas de lordosis, mientras que lesiones de la misma las facilitan (Moss, Paloutzian, & Law, 1974; Powers & Valenstein, 1972). En el caso de los aspectos activos o proceptivos se ha probado que la posibilidad de controlar la interacción sexual por parte de la hembra incrementa la activación de Fos en esta área (G. Coria-Avila & Pfaus, 2007) y la interrupción de su actividad a través de lesiones eléctricas o éxotoxinas, afectan tanto el *spacing*³ como las conductas de búsqueda del macho (Graham & Pfaus, 2010; Guarraci, et al., 2004). Asimismo, estudios electrofisiológicos muestran que existen neuronas del APOM que se activan durante la ejecución de conductas proceptivas antes de la lordosis y esa actividad rápidamente decae luego de la intromisión (que suele implicar un alejamiento más prolongado de la hembra), pero no luego de la monta (Kato & Sakuma, 2000).

Al igual que en el comportamiento maternal, evidencia creciente implica al sistema dopaminérgico mesolímbico en el control motivacional sexual de las hembras. Durante la actividad sexual (Mermelstein & Becker, 1995; Pfaus, et al., 1995) inmediatamente antes de que la hembra reciba una intromisión (Jenkins & Becker, 2003) o cuando la hembra visualiza a un macho detrás de una barrera (Pfaus, et al., 1995), las concentraciones de DA en el NAcc aumentan. En este sentido, un tratamiento crónico con anfetaminas, que incrementa la liberación de DA en el sistema mesolímbico, aumenta la expresión de conductas sexuales motivadas (Afonso, Mueller, Stewart, &

³ El término “**spacing**” refiere a la capacidad de la hembra de controlar el ritmo de las interacciones sexuales con el macho. Generalmente en condiciones de laboratorio, esto se logra mediante la utilización de modelos que permiten a la hembra esta posibilidad, como por ejemplo una arena sexual dividida en dos por una barrera, en la que el macho está confinado en uno de los lados y solo la hembra puede desplazarse libremente en ambos compartimientos (MS Erskine, 1985). Asimismo, el control del ritmo de la cópula por parte de la hembra se observa en ambientes seminaturales, en los que la hembra puede alejarse de donde se encuentra el macho (McClintock & Anisko, 1982).

Pfaus, 2009b). Por otra parte, la administración sistémica del antagonista dopaminérgico HAL reduce la ejecución de las conductas proceptivas (G Coria-Avila et al., 2008; Ismail et al., 2010). En base a esta evidencia se ha propuesto que, al igual que en el caso de la motivación maternal, la conexión del APOM con el NAcc vía el ATV mediaría la expresión de conductas sexuales motivadas en la hembra (Fig. 2) ((G Coria-Avila et al., 2014; Stolzenberg & Numan, 2011)). Sin embargo existe evidencia que cuestiona esta hipótesis, ya que no se observaron efectos sobre el comportamiento sexual de las hembras al administrar de forma sistémica el antagonista dopaminérgico flupentixol (Ellingsen & Agmo, 2004). De igual forma, Guarraci y cols. (Guarraci et al., 2008) no observan un efecto de la administración aguda de anfetaminas en el NAcc sobre el comportamiento de *spacing* de hembras sexualmente activas.

De forma interesante, Hansen y colaboradores mostraron que lesiones con 6-OH-DA en el estriado ventral (NAcc, tubérculo olfatorio y núcleo caudado ventromedial) y en el VTA no afectan las conductas proceptivas de las hembras, mientras que interfiere significativamente con el acarreo de las crías (Hansen, 1994; Hansen, Harthorn, Wallin, Lofberg, & Svensson, 1991a, 1991b). Es posible entonces que el sistema dopaminérgico esté implicado en el control de ambas motivaciones pero juegue un papel más importante en la modulación de la motivación maternal que de la sexual.

1.4 Co-expresión de las motivaciones maternal y sexual

Como se mencionó previamente, los comportamientos maternal y sexual son conductas afiliativas motivadas asociados a la generación de afectos positivos (G. Coria-Avila & Pfaus, 2007; Numan, 2006; R. Paredes, 2009) que comparten áreas y circuitos de control común como el APOM y el sistema de neurotransmisión dopaminérgico (figura 2) (G Coria-Avila, et al., 2014; Stolzenberg & Numan, 2011). Sin embargo, ambos comportamientos poseen características diferenciales en su expresión, duración y características del control hormonal (Pfaus, et al., 1999; Rosenblatt, 1975), así como en el rol e

importancia relativa de las estructuras y sistemas que los regulan (Ellingsen & Agmo, 2004; Graham & Pfaus, 2012; Numan, et al., 2005a; Numan & Stolzenberg, 2009; Olazábal, et al., 2013a), incluyendo al sistema dopaminérgico (Hansen, et al., 1991a, 1991b; R Paredes & Agmo, 2004) Sobre esta base consideramos que el estudio de los mecanismos que subyacen la expresión e interacción de estos comportamientos cuando ambos ocurren de forma simultánea nos permitirá una mejor comprensión de los mismos, tanto de sus similitudes como de sus diferencias. En este sentido, la rata presenta un EPP fértil en la noche del día del parto (Connor & Davis, 1980a; Gilbert, et al., 1980), durante el cual se encuentra maternal y sexualmente motivada, constituyéndose en un excelente modelo para analizar cómo interactúan estas motivaciones.

Como consecuencia de los elevados niveles de estrógenos del final de la preñez y el aumento significativo de los de progestágenos después del parto las hembras posparturientas se encuentran sexualmente activas aproximadamente a las 9 hs luego del inicio del parto (Connor & Davis, 1980b). Esta actividad y receptividad sexual es máxima a las 12 hs y decae a las 18 hs, por lo que la actividad sexual máxima se desarrolla en una corta ventana temporal (Fig 3).

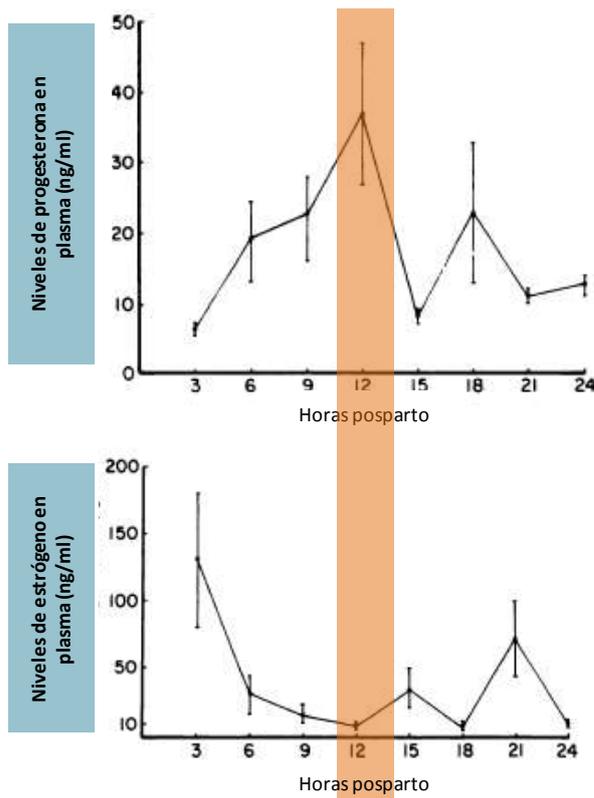


Figura 3. Niveles en plasma de las hormonas progesterona (arriba) y estrógeno (abajo) durante el día 1 posparto. La barra vertical naranja indica el período del EPP en su expresión máxima. Figura adaptada de Connors & Davis, 1980b.

El hecho de que durante este período, las hembras sexualmente activas sean a su vez madres nos llevó a preguntarnos: ¿Qué ocurre cuando ambos estímulos reforzadores - crías y macho- se confrontan simultáneamente?

Observamos que durante el EPP, la hembra es capaz de co-expresar ambas conductas -maternal y sexual- cuando las crías y el macho están presentes al mismo tiempo en su caja nido (D. Agrati, et al., 2011). En este contexto la madre interactúa sexualmente con el macho y lo ataca, expresando agresión maternal hacia él. Estos comportamientos -sexual y agresión maternal- se expresan de forma alternada con acarreos de las crías hacia el nido poniendo en evidencia que si bien ambas conductas comparten circuitos comunes, no se excluyen mutuamente.

Si bien la hembra en EPP en la caja nido dirige su comportamiento preferencialmente al macho, en un nuevo contexto de elección donde los dos estímulos se encuentran en espacios físicos separados las hembras prefieren a las crías frente al macho (D. Agrati, 2009). De manera interesante esta

preferencia por las crías de hembras en EPP es aún mayor en las ratas multíparas, mientras que las madres vírgenes ciclantes en proestro maternas -sensibilizadas⁴- prefieren al macho, indicando que el valor de incentivo relativo de estos estímulos varía según la experiencia maternal previa y el perfil endócrino (D Agrati, et al., 2008).

Es importante destacar que las variaciones en la preferencia (elección de las crías o del macho) no se reflejaron en diferencias en la ejecución de los comportamientos maternal hacia las crías y sexual hacia el macho cuando uno solo de estos estímulos estaba presente (Agrati et al., en prep.), lo que sugiere que el valor de incentivo de un estímulo afecta el del otro cuando ambos están presentes.

Desconocemos cuáles mecanismos neurales regulan la interacción de las motivaciones maternal y sexual cuando ambos reforzadores están presentes – crías y macho- durante el EPP.

⁴ Es posible desarrollar comportamiento maternal en animales no-parturientos, tanto hembras como machos, a través de la exposición continua a crías neonatas. Este procedimiento se conoce con el nombre de sensibilización y permite estudiar los cambios asociados a la condición maternal en ausencia del perfil endócrino típico de este (A Fleming & Rosenblatt, 1974; Rosenblatt, 1969).

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA E HIPÓTESIS

Se ha propuesto al sistema de neurotransmisión dopaminérgico como un sistema de motivación general que modula los aspectos activacionales de los comportamientos motivados. En este sentido, este sistema ha sido implicado tanto en la regulación de la motivación maternal (Numan, 2006; Olazábal, et al., 2013a; Stern & Keer, 1999) como de la sexual de la hembra (Melis & Argiolas, 1995). Sin embargo, manipulaciones del sistema dopaminérgico parecen tener un impacto mayor en la ejecución del comportamiento maternal que del sexual (Ellingsen & Agmo, 2004; Hansen, et al., 1991a, 1991b; R Paredes & Agmo, 2004), lo que sugiere una implicancia mayor de la DA en la expresión de los componentes activos de la motivación maternal que de la sexual de la hembra. No existen sin embargo hasta la fecha, estudios que analicen el efecto de manipulaciones del sistema dopaminérgico cuando estas dos motivaciones se expresan simultáneamente. El EPP es un período único del ciclo reproductivo de la hembra en el cual éstas se encuentran maternal y sexualmente motivadas, expresando comportamiento maternal hacia las crías y sexual hacia el macho. Sin embargo en el modelo de preferencia crías vs macho prefieren a las crías (D. Agrati, 2009; D Agrati, et al., 2008), lo que indica que, en ese contexto, las crías tienen mayor valor de incentivo que el macho. Si la expresión de la motivación maternal en relación a la sexual se asociara a una mayor actividad del sistema dopaminérgico, es posible suponer que la afectación de este sistema impacte en mayor medida en la motivación maternal, reduciendo el valor de incentivo de las crías respecto al macho. Sobre esta base nos planteamos la siguiente **hipótesis**:

Durante un período en el cual la hembra está sexual y maternalmente motivada, la actividad del sistema dopaminérgico media la asignación del mayor valor de incentivo de las crías respecto al macho.

3. OBJETIVO GENERAL

Explorar la implicancia del sistema de neurotransmisión dopaminérgico en la interacción de las motivaciones maternal y sexual durante el EPP en el modelo de preferencia de crías vs. macho.

4. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

Con el fin de determinar si la actividad dopaminérgica media la preferencia por las crías frente a un macho en una situación de elección se analizó el efecto de la reducción de la neurotransmisión dopaminérgica, a través de la administración del antagonista HAL, en la preferencia entre estos dos reforzadores: crías vs macho (**experimento I**).

En una segunda instancia, para determinar si este antagonista afecta de manera diferente a ambas motivaciones cuando no están compitiendo una con otra, evaluamos el efecto del HAL de forma independiente sobre la motivación maternal en un modelo de preferencia crías vs. estímulo social neutro (hembra no-receptiva) y sobre la sexual en un modelo de preferencia macho vs. hembra no-receptiva (**experimento II**).

Finalmente, para discernir el efecto de la reducción de la neurotransmisión dopaminérgica sobre el valor maternal y sexual de los estímulos de su valor social, determinamos el efecto del HAL en la elección entre dos reforzadores - crías y macho- y un estímulo social neutro en un modelo con tres estímulos (**experimento III**).

5. METODOLOGÍA GENERAL

5.1. Animales

Se utilizaron ratas hembras y machos de la cepa Wistar (*Rattus norvegicus*) de aproximadamente 3-4 meses de edad. Las ratas se alojaron en un cuarto con un ciclo de luz-oscuridad 12/12 h (luces encendidas 05:00 hs.) y temperatura controlada (22 ± 1 °C) en el Laboratorio de Experimentación Animal (LEA) de la Facultad de Ciencias.

5.2. Fármaco

Haloperidol (antagonista dopaminérgico): 0,0, 0,025 y 0,050 mg/kg/ml, sc, -60 min de prueba (de acuerdo a estudios previos (M Pereira et al., 2011; M Pereira & Ferreira, 2006; M. Pereira, et al., 2005)). La elección de este fármaco y la vía de administración, en una primera aproximación al análisis de la interacción entre las motivaciones maternal y sexual, se realizó sobre la base de su amplio uso en el análisis de motivaciones por incentivos naturales (principalmente en las motivaciones maternal y alimenticia) (Ismail, et al., 2010; Mott et al., 2009; M Pereira, et al., 2011; M Pereira & Ferreira, 2006; Salamone, Correa, Nunes, Randall, & Pardo, 2012; Salamone, et al., 1994; Salamone et al., 1996; Stern & Keer, 1999). Si bien la administración sistémica de este fármaco afecta sistemas motores (ver punto 8.5 de Discusión), múltiples estudios muestran que estos efectos no enmascaran los efectos motivacionales atribuidos principalmente a su acción sobre el sistema dopaminérgico mesolímbico (Farrar et al., 2010; Mott, et al., 2009; M Pereira, et al., 2011).

En lo referente a su mecanismo de acción se ha reportado que posee una mayor afinidad por el sub-tipo D2 de la familia de receptores D2 (McCormick et al., 2010; Schotte, Janssen, Bonaventure, & Leysen, 1996), sin embargo a la dosis mayor seleccionada para este estudio (0,050 mg/kg) el HAL tiene un nivel

de ocupación de estos receptores estriatales de un 25-50% (Zhang & Bymaster, 1999). Asimismo, estudios de ocupación muestran que el HAL posee muy poca afinidad por receptores de otros sistemas de neurotransmisión como serotoninérgicos y muscarínicos (Zhang & Bymaster, 1999).

5.3. Protocolo experimental general

Se utilizaron de 8 a 11 hembras en EPP por grupo. Las hembras se aparearon con machos sexualmente activos y 2 días antes de la fecha prevista de parto se alojaron en cajas individuales. A partir del día 22 de gestación se verificó la presencia de crías cada 2 hs y una hora después de finalizado el parto, las camadas se igualaron a 8 crías (4 hembras y 4 machos) para asemejar la estimulación recibida. Para asegurar la actividad sexual máxima de las hembras, las pruebas se realizaron a las 11-13 hs posparto (Connor & Davis, 1980a) siguiendo el protocolo experimental descrito a continuación (Fig. 4).

Las hembras fueron inyectadas de forma subcutánea (sc) una hora previa a la prueba de preferencia crías vs macho (20 min de duración) con solución salina o HAL (la dosis utilizada se especifica en cada experimento). En el caso del experimento III, una vez concluida la prueba de preferencia, se realizó una prueba de comportamiento sexual de 15 min, seguida de una prueba de acarreo de las crías de 5 min de duración. Las pruebas comportamentales se describen en detalle a continuación.



Figura 4. Protocolo experimental general

5.4. Pruebas comportamentales

5.4.1 *Modelo de preferencia crías vs. macho (D Agrati, et al., 2008)*

Este modelo consiste en un laberinto transparente de acrílico en forma de Y con 3 cámaras de igual tamaño (25 x 30 x 18 cm) al final de cada brazo (10 x 60 x 10 cm). Dos de las cámaras contienen los estímulos, una 8 crías y la otra un macho sexualmente activo, mientras que la tercera cámara permanece vacía (cámara neutra) (Fig. 5). A su vez, cada cámara contiene una división de acrílico transparente perforada, que permite ver, oler y oír a los estímulos, sin permitir contacto físico con ellos. La localización de los estímulos se contrabalancea entre hembras de un mismo grupo para reducir posibles efectos de lateralidad. El día de la prueba 30 min luego de inyectado el fármaco o la solución salina, se introduce a la hembra en el centro del modelo y se le permite explorar por un período de habituación de 30 min el modelo vacío. Inmediatamente después, los estímulos, se colocan en las cámaras y durante 20 min se registran los siguientes parámetros: tiempo de permanencia y número de entradas a cada cámara, exploración (suma del número total de entradas a las cámaras más el número de entradas a los brazos) y el número de intentos de obtener acceso a los estímulos (mordidas y arañadas de la pared divisoria).

Sobre la base de estudios previos de nuestro grupo (D Agrati, et al., 2008; M Pereira & Ferreira, 2006) seleccionamos dos medidas de preferencia a utilizar: 1. el tiempo total de la prueba que la hembra permanece en cada compartimiento, y 2. la cámara preferida por cada hembra que se determina como aquella cámara en la cual la hembra permanece más del 50% del tiempo total en las tres cámaras de elección, con la condición adicional de que este tiempo debe ser 25% mayor que el tiempo de permanencia en cualquier de los otros dos compartimientos. Si bien consideramos que el tiempo de permanencia en los compartimientos refleja el comportamiento temporal

general del grupo, la preferencia de cada hembra nos brinda información complementaria del comportamiento de los animales en el modelo.

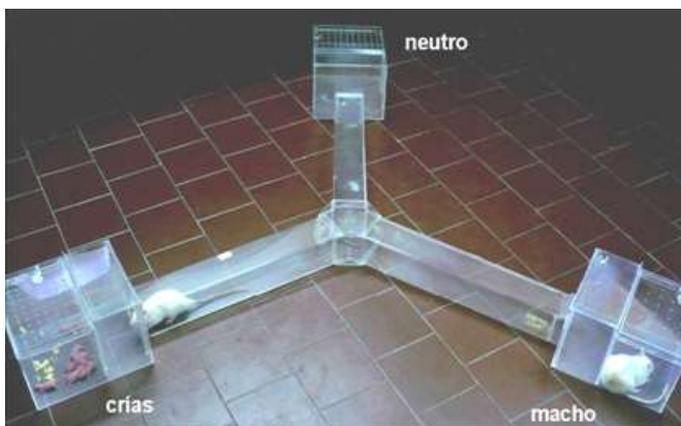


Figura 5. Modelo de preferencia

5.4.2 Prueba de comportamiento sexual (D. Agrati, et al., 2011; Uriarte, Breigeiron, Benetti, Rosa, & Lucion, 2007)

Se introduce a la hembra en una arena sexual de acrílico cilíndrica de 50 cm de diámetro. Luego de un período de habituación de 5 min se coloca un macho sexualmente activo y se registra durante 15 min el número de solicitudes, *hops & darts* (corridas y saltos frente al macho: conductas proceptivas), posturas de lordosis, rechazos y ataques, así como la latencia a la primera conducta proceptiva, lordosis y al primer ataque. A su vez, se registra el número de montas e intromisiones y las eyaculaciones realizadas por el macho, así como la latencia a la primera monta con o sin intromisión y a la primera eyaculación (Fig. 6). El cociente de lordosis, índice de receptividad sexual de la hembra, se calcula como el cociente entre el número de lordosis y el número total de montas, intromisiones y eyaculaciones. También se calcula el promedio de la duración de las posturas de lordosis (Ismail, et al., 2010).



Figura 6. Comportamiento sexual

5.4.3 Prueba de acarreo (Giordano, Johnson, & Rosenblatt, 1990)

Se retiran las crías de la caja materna y se reintroducen a los 5 min. Se registra durante 5 min, el número de acarreos, así como la latencia al primer acarreo y a la reunión de toda la camada en el nido (Fig. 7).



Figura 7. Acarreo de crías

5.4.4 Registro de actividad locomotora durante la prueba

Para evaluar un posible efecto motor del fármaco se registró la actividad locomotora de las hembras simultáneamente durante la prueba de preferencia en el modelo. En la misma, la suma de ingresos a los brazos, así como a los compartimientos durante los 20 min es reflejo del desplazamiento de los animales y son utilizados como parámetros de la actividad ambulatoria (Agmo, Turi, Ellingsen, & Kaspersen, 2004).

5.5. Análisis estadístico

Debido a que la mayoría de los datos comportamentales no se ajusta a una distribución normal, ni presentan homogeneidad de varianzas se expresan como medianas \pm rango semi-intercuartil (RSIC) y se analizaron mediante pruebas no-paramétricas: análisis de varianza de Kruskal-Wallis seguido de la prueba de U de Mann-Whitney en el caso de grupos independientes y ANOVA de Friedman seguido de la prueba pareada de Wilcoxon en el caso de grupos dependientes (Siegel & Castellan, 1988). Las comparaciones de las distribuciones de preferencias (por crías, macho, neutro o no preferencia) entre grupos se realizó a través de tablas de contingencia múltiples (Kirkman, 1996), seguido de comparaciones mediante la prueba de Fisher.

6 EXPERIMENTO I: EFECTO DE LA REDUCCIÓN DE LA NEUROTRANSMISIÓN DOPAMINÉRGICA EN LA ELECCIÓN ENTRE DOS REFORZADORES: CRÍAS VS. MACHO

Debido a la implicancia del sistema de neurotransmisión dopaminérgico en el control de procesos motivacionales (Salamone & Correa, 2012) y a una posible implicancia mayor del mismo en la regulación de la motivación maternal que de la sexual (Numan & Stolzenberg, 2009; R Paredes & Agmo, 2004), nos propusimos determinar si la actividad dopaminérgica media la preferencia por las crías frente a un macho de hembras en EPP.

6.1. Objetivo específico I

Determinar el efecto de la administración sistémica del antagonista dopaminérgico HAL en la preferencia por crías frente a un macho de hembras en EPP.

6.2. Abordaje experimental

Se evaluó el efecto del HAL en la preferencia de hembras primíparas en EPP por crías o macho sexualmente activo (como estímulos reforzadores).

Las hembras se inyectaron de forma subcutánea (sc) una hora previa a la prueba con 0,0 (N=12); 0,025 (N=10) o 0,050 (N=10) mg/kg/ml de HAL, y se probaron en el modelo de preferencia durante 20 min. Finalizada la prueba de preferencia, todas las hembras fueron evaluadas para verificar su receptividad sexual y la expresión de conducta maternal. Aquellas hembras que no mostraron receptividad sexual o conducta maternal (lamidos o acarreos) se excluyeron del análisis.

6.3. Resultados

Como se muestra en la Fig 8, en el grupo salino, el tiempo de permanencia en el compartimiento de las crías fue mayor al tiempo en el compartimiento del macho ($T_{(12)}= 14,0$, $p<0,05$, prueba pareada de Wilcoxon), mientras que la administración de ambas dosis de HAL eliminó esta diferencia (tiempo en compartimiento de crías vs macho: $0,025$ mg/kg: $T_{(10)}= 18,0$, $p=0,33$ y $0,05$ mg/kg: $T_{(10)}= 17,0$, $p=0,28$). En los tres grupos, tanto el tiempo de permanencia en el compartimiento de las crías como en el del macho fueron mayores que el tiempo en el compartimiento neutro (para crías vs neutro: $0,0$ mg/kg: $T_{(12)}= 0,00$, $p<0,010$; $0,025$ mg/kg: $T_{(10)}= 2,0$, $p<0,01$; $0,05$ mg/kg: $T_{(10)}= 6,0$, $p<0,05$ y para macho vs. neutro: $0,0$ mg/kg: $T_{(12)}= 0,00$, $p<0,01$; $0,025$ mg/kg: $T_{(10)}= 6,0$, $p<0,05$; $0,05$ mg/kg: $T_{(10)}= 1,0$, $p<0,01$, Fig. 8).

Cuando comparamos el tiempo de permanencia en cada compartimiento entre los grupos, observamos que la administración del antagonista dopaminérgico disminuyó el tiempo de permanencia en el compartimiento de las crías ($H(2)= 7,57$, $p<0,05$; análisis de varianza de Kruskal Wallis), sin modificar significativamente el tiempo en el compartimiento del macho ($H(2)= 3,99$, $p=0,13$) o en el compartimiento neutro ($H(2)= 0,12$, $p=0,93$). Así, el tiempo en el compartimiento de las crías disminuyó significativamente en el grupo tratado con $0,05$ mg/kg de HAL respecto al grupo control ($U_{(12,10)}= 20,5$, $p<0,01$) (Fig. 8).

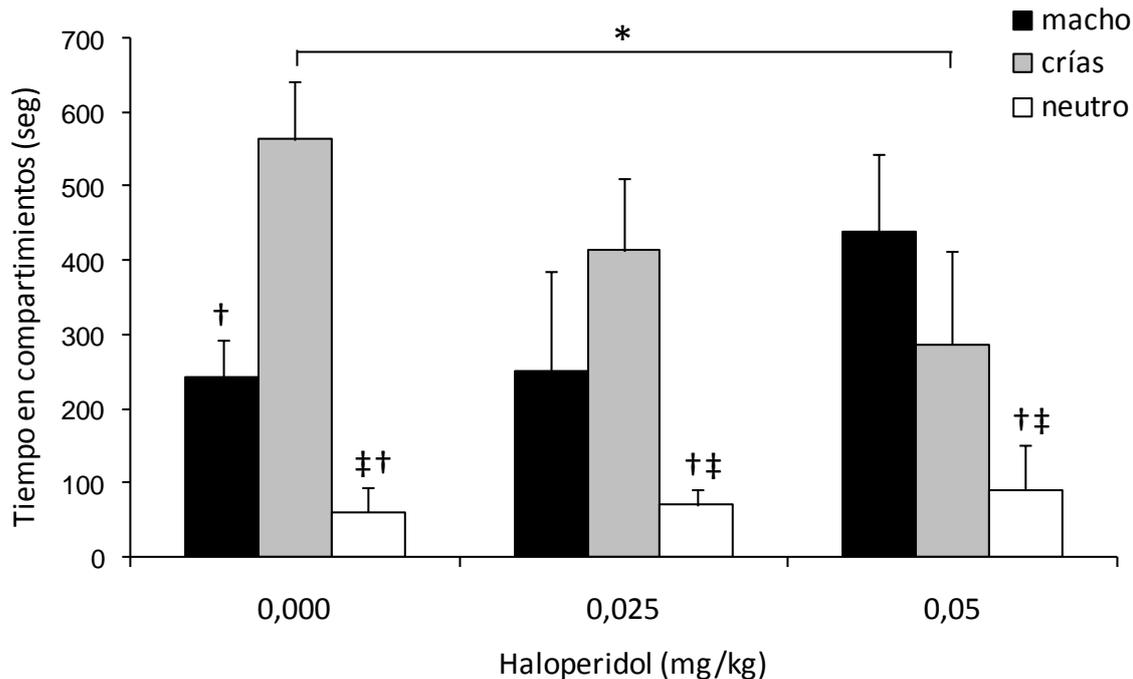


Figura 8. Tiempo total en el compartimiento del macho (barras negras), de las crías (barras grises) y en el neutro (barras blancas) de hembras en EPP. Los datos se expresan como medianas (RSIC). †: $p < 0,05$ vs crías y ‡: $p < 0,05$ vs macho, dentro de un grupo, prueba pareada de Wilcoxon y *: $p < 0,05$ 0,05 vs 0,00 mg/kg de HAL entre grupos, prueba U de Mann-Whitney.

En la tabla 1 se observa que el efecto de este antagonista dopaminérgico sobre el comportamiento de las hembras se reflejó a su vez en un cambio en la distribución de las preferencias entre el grupo salino y la dosis máxima de HAL ($X^2 = 7,31$, $p < 0,05$, tabla de contingencia). En este sentido, se observó una reducción del número de hembras que prefieren a las crías a la dosis 0,05 mg/kg de HAL ($p < 0,05$, prueba exacta de Fisher), concomitantemente con una tendencia al aumento del número de hembras que no prefirieron a ninguno de los estímulos ($p = 0,07$, prueba exacta de Fisher).

Tabla 1. Preferencias por los estímulos reforzadores (crías o macho) o no preferencia

| <u>Preferencia</u> | <i>HAL (mg/kg)</i> | | |
|---------------------|--------------------|--------------|-------------|
| | 0,00 | 0,025 | 0,05 |
| <i>crías</i> | 10/12 | 5/10 | 3/10 |
| <i>macho</i> | 2/12 | 2/10 | 4/10 |
| <i>no prefieren</i> | 0/12 | 3/10 | 3/10 |

Los datos son expresados como número de hembras que eligen (crías o macho) y que no eligen sobre el total de hembras por grupo. Ninguna hembra exhibió preferencia por el compartimiento neutro.

Al igual que la preferencia por las crías, el esfuerzo por obtenerlas (Fig. 9) decayó con las dosis 0,025 y 0,05 mg/kg de HAL ($H(2) = 6,97$ $p < 0,05$).

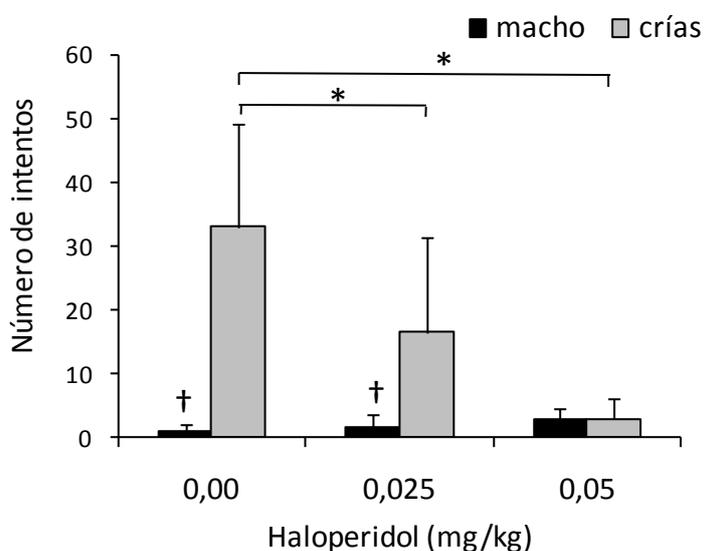


Figura 9. Frecuencia de esfuerzos por obtener los estímulos: macho (barras negras) y crías (barras grises) de hembras en EPP tratadas con 0,00, 0,025 y 0,05 mg/kg de HAL. Los datos se expresan como medianas (RSIC). †: $p < 0,05$ vs crías; prueba pareada de Wilcoxon. *: $p < 0,05$ vs 0,00 mg/kg de HAL, prueba U de Mann-Whitney.

La administración de HAL redujo de forma dosis dependiente el número de visitas a los tres compartimientos (Tabla 2), sin embargo acompañando lo

evidenciado en los tiempos de permanencia en los compartimientos, las hembras del grupo salina visitaron más veces el compartimiento de las crías que el de macho ($T_{(12)}= 4,0$, $p<0,01$), mientras que las pertenecientes a los grupos 0,025 y 0,05 mg/kg de HAL visitaron indistintamente los compartimientos del macho y de las crías (0,025 mg/kg: $T_{(10)}= 2,0$, $p=NS$; 0,05 mg/kg: $T_{(10)}= 17,0$, $p=NS$ (Tab. 2).

Tabla 2. Número de entradas a los compartimientos de crías, macho y neutro

| <i>N° de entradas</i> | <i>HAL (mg/kg)</i> | | |
|----------------------------------|---------------------------|---------------------|--------------------|
| | <i>0,00</i> | <i>0,025</i> | <i>0,05</i> |
| <i>crías</i> | 14,0 (2,2) | 10,0 (1,8)* | 6,0 (2,0)*# |
| <i>macho</i> | 11,0 (1,7)† | 8,0 (0,7) | 6,5 (0,8)*# |
| <i>neutro</i> | 8,0 (1,7)† | 5,0 (1,5)†‡ | 3,5 (1,2)†‡* |

Los datos se expresan como medianas (RSIC). †: $p<0,05$ vs. crías, ‡: $p<0,05$ vs macho, prueba pareada de Wilcoxon y *: $p<0,05$ vs. salina, #: $p<0,05$ vs. 0,025 mg/kg de HAL, prueba U de Mann-Whitney.

En lo referente a la actividad motora en el modelo, el número total de cruces por los brazos disminuyó de forma dosis dependiente, conforme aumentó la dosis de HAL (Fig. 10A). Sin embargo, el tiempo que las hembras invirtieron en los estímulos reforzadores (crías o macho), no se vio alterado por el fármaco (Fig. 10B) y las hembras visitaron los compartimientos de ambos reforzadores tanto en la primera como en la segunda mitad de la prueba (datos no mostrados).

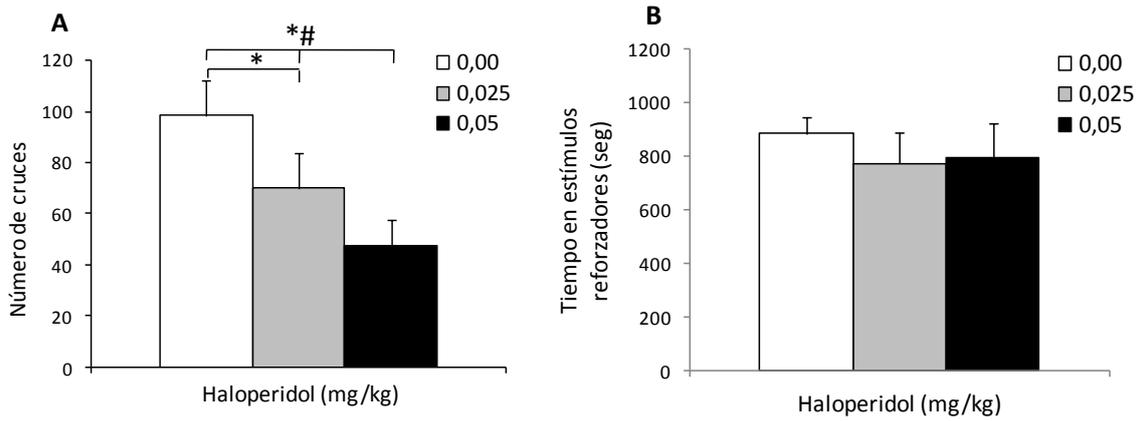


Figura 10. Número total de cruces en el modelo (A) y tiempo en los compartimiento de los estímulos reforzadores (tiempo en crías sumado al tiempo en macho) (B) de las hembras inyectadas con 0,00, 0,025 y 0,05 mg/kg de HAL. Los datos se expresan como medianas (RSIC). *: $p < 0,05$ vs 0,00 mg/kg de HAL y #: $p < 0,05$ vs 0,025 mk/kg HAL, prueba U de Mann-Whitney.

6.4. Conclusión

El HAL eliminó la preferencia por las crías, indicando que la reducción de la neurotransmisión dopaminérgica disminuyó el valor de incentivo de las crías en relación al macho.

7. EXPERIMENTO II: EFECTO DE LA REDUCCIÓN DE LA NEUROTRANSMISIÓN DOPAMINÉRGICA EN LA ELECCIÓN ENTRE UN REFORZADOR -CRÍAS O MACHO- Y UN ESTÍMULO SOCIAL NEUTRO

En el experimento I observamos que la disminución de la neurotransmisión dopaminérgica redujo el valor de incentivo de las crías respecto al macho, sin embargo desconocemos si este antagonista dopaminérgico afecta de manera diferente a ambas motivaciones cuando no están compitiendo una con otra. Con este fin, evaluamos el efecto del HAL de forma independiente sobre las motivaciones maternal y sexual.

7.1 Objetivo específico II

Evaluar el efecto de la administración sistémica de HAL en la preferencia por crías frente a una hembra no-sexualmente receptiva y por un macho frente una hembra no-sexualmente receptiva de hembras durante el EPP.

7.2. Abordaje experimental

Evaluamos el efecto de la administración sistémica de HAL en la preferencia por ambos estímulos reforzadores (crías y macho) de forma independiente, enfrentados a un estímulo social neutro que a priori posee un valor de incentivo menor que las crías o el macho para una hembra maternal y sexualmente motivada. A su vez, seleccionamos la dosis de HAL de 0,05 mg/kg sobre la base de que la misma tuvo el mayor efecto en el experimento I.

Al igual que en el experimento I, las hembras se inyectaron de forma subcutánea (sc) una hora previa a la prueba con 0,0 (N=18) o 0,05 (N=18) mg/kg/ml de HAL y se dividieron en dos grupos: macho vs hembra no-receptiva

y crías vs hembra no-receptiva. Luego de finalizada la prueba se evaluó la receptividad sexual y conducta maternal de las hembras. Aquellas hembras que no mostraron receptividad sexual o conducta maternal (lamidos o acarreos) se excluyeron del análisis.

7.3. Resultados

7.3.1. Preferencia por macho vs hembra no-receptiva

Tanto las hembras tratadas con solución salina como con HAL permanecieron más tiempo junto al macho que junto a la hembra no-receptiva (Fig. 11A, salino: $T_{(9)}= 5,0$, $p<0,05$ y $0,05$: $T_{(9)}= 4,0$, $p<0,05$). La administración de $0,05$ mg/kg HAL no afectó esta preferencia por el macho reflejada en el tiempo de permanencia con el mismo ($U_{(9,9)}= 29,0$, $p= 0,54$) y en el número de hembras que lo eligen al macho en cada grupo (hembras que eligen al macho/total de hembras del grupo: salino= $7/9$ vs. HAL $0,05= 7/9$, $p= NS$, prueba exacta de Fisher).

7.3.2. Preferencia por crías vs hembra no-receptiva

De igual modo, las hembras tratadas con solución salina exhibieron una clara preferencia por las crías respecto a la hembra no-receptiva (ver Fig. 10B, $T_{(9)}= 3,0$, $p<0,05$). Sin embargo, la administración de $0,05$ mg/kg de HAL redujo la diferencia entre los tiempos de permanencia con las crías y la hembra no-receptiva ($T_{(9)}= 7,0$, $p= 0,06$; Fig. 11B), sin alterar el número de hembras que prefirieron a las crías en cada grupo, salino= $7/9$ vs. HAL $0,05=7/9$ (hembras que eligen a las crías/hembras totales, $p=NS$, prueba exacta de Fisher). No se detectaron diferencias en el tiempo de permanencia junto a las crías o a la hembra no-receptiva entre el grupo salino y HAL (crías: $U_{(9,9)}= 28,0$, $p=0,26$; hembra no-receptiva: $U_{(9,9)}= 34,5$, $p=0,59$).

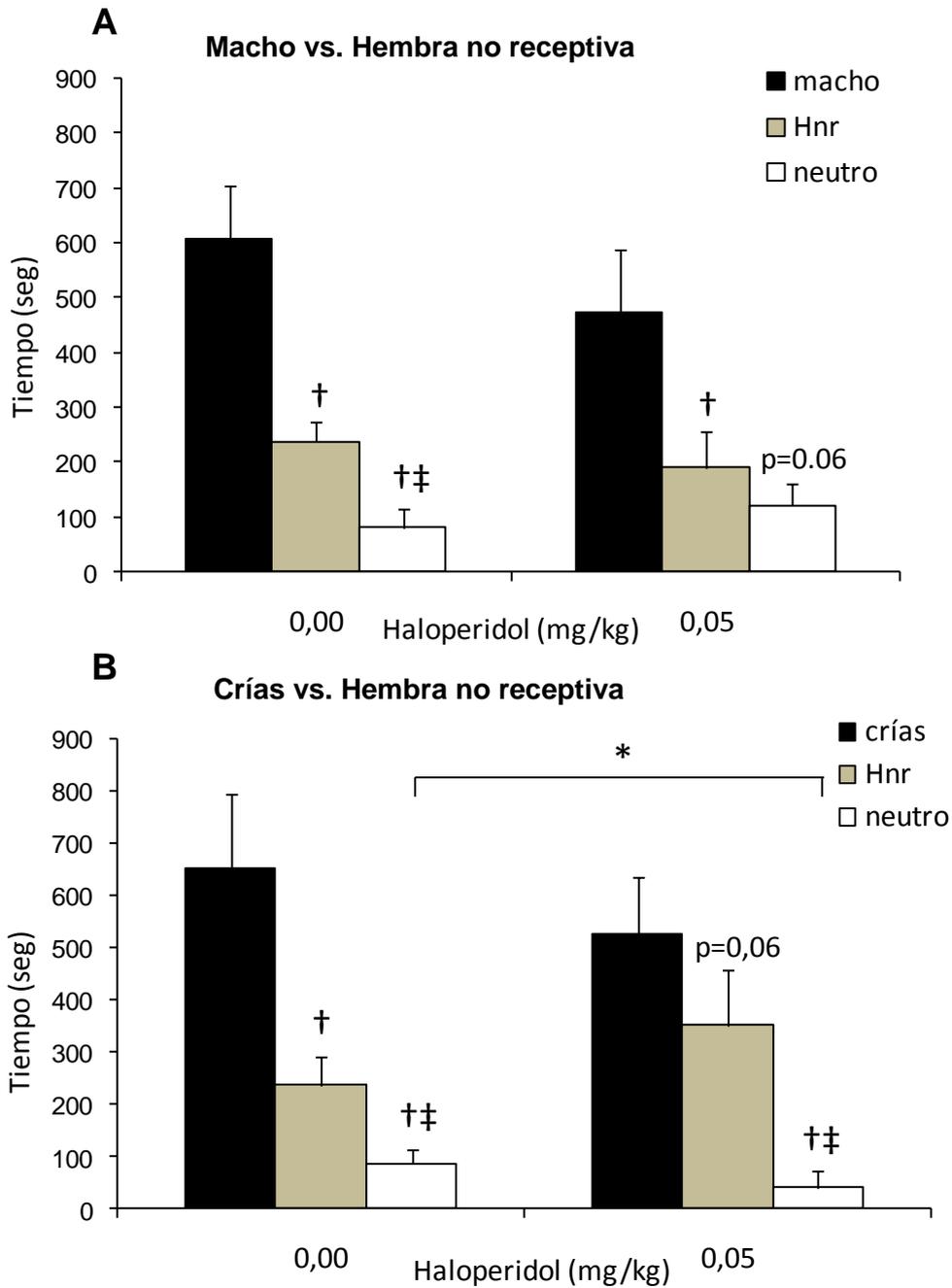


Figura 11. Tiempo de permanencia en compartimento del estímulo reforzador (barra negra), de la hembra no receptiva-Hnr (barra gris), y en el neutro (barra blanca), de hembras en EPP tratadas con vehículo o 0,05 mg/kg de HAL y enfrentadas a un macho vs hembra no-receptiva (A) o crías vs hembra no-receptiva (B). Los datos se expresan como medianas (RISQ). ‡: $p < 0,05$ vs. Hnr y †: $p < 0,05$ vs. reforzador; $p = 0,06$ vs. reforzador dentro de un grupo, prueba pareada de Wilcoxon y *: $p < 0,05$ vs. 0,00 mg/kg de HAL, prueba U de Mann-Whitney.

7.4. Conclusiones

-La clara preferencia por las crías y por el macho al enfrentarse a un estímulo social neutro en el grupo control ratifica el fuerte valor de incentivo que poseen ambos estímulos para una hembra maternal y sexualmente motivada.

- Si bien la administración de HAL no modificó el número de hembras que prefieren a los reforzadores, la afectación del tiempo de permanencia con las crías, y no con el macho, en relación a la hembra no-receptiva, sugiere que la disminución de la neurotransmisión dopaminérgica tiene un impacto mayor en la motivación maternal que en la sexual.

- El menor efecto del HAL sobre la preferencia por los reforzadores (crías y macho) al enfrentarse a un estímulo social neutro, en comparación a lo observado cuando ambos se enfrentan entre sí (experimento I) indica que el valor de incentivo de crías y macho es menor cuando ambos están presentes.

8. EXPERIMENTO III: EFECTO DE LA REDUCCIÓN DE LA NEUROTRANSMISIÓN DOPAMINÉRGICA EN LA ELECCIÓN ENTRE DOS REFORZADORES -CRÍAS Y MACHO- Y UN ESTÍMULO SOCIAL NEUTRO

Si bien nuestro modelo de preferencia crías vs macho nos permite evaluar el valor de incentivo relativo entre ambos reforzadores, no permite discernir el valor de incentivo maternal y sexual de los mismos, de su valor social. En este sentido, Agmo y cols. (2004) recomiendan utilizar un estímulo social neutro, incentivo social, como opción en aquellos modelos que evalúan valor de incentivo sexual de un estímulo, ya que el reforzador puede ser abordado por obtener un encuentro social. Sobre esta base nos propusimos determinar si la preferencia por crías y macho de las hembras bajo el efecto del HAL se sostiene cuando ambos estímulos se enfrentan de forma simultánea a un estímulo social neutro.

Por otra parte, en base a los resultados obtenidos sugiriendo una mayor afectación del HAL sobre la motivación maternal que la sexual, nos propusimos determinar si este efecto se observa en la ejecución de los comportamientos maternal y sexual de estas hembras frente a las crías y al macho, respectivamente.

8.1. Objetivos específicos III

- Determinar el efecto de la administración sistémica del antagonista dopaminérgico HAL en la preferencia por crías frente a un macho y a una hembra no-receptiva de hembras en EPP.
- Evaluar el efecto del HAL en la ejecución de los comportamientos maternal y sexual de estas hembras.

8.2. Abordaje experimental

Se siguió el protocolo general del experimento I con la variación de que el tercer compartimiento neutro, contiene una hembra no-receptiva como estímulo *social neutro*. Utilizamos un N=11 animales en cada grupo (0,00; 0,025 y 0,05 mg/kg HAL). Finalizada la preferencia se realizó una prueba de comportamiento sexual de 15 min, seguida de una prueba de acarreo de 5 min (detalladas en la sección *Pruebas comportamentales*).

8.3. Resultados

8.3.1 Preferencia por crías vs. macho vs. hembra no-receptiva

La administración de HAL a hembras en EPP disminuyó el tiempo de permanencia en el compartimiento de las crías, sin modificar los tiempos en el compartimiento del macho, o en el de la hembra no-receptiva (crías: H (2) =12,21, $p<0,05$; macho: H (2, 33) = 0,95, $p=0,62$ y Hnr: H (2) = 1,66, $p=0,43$).

Como se esperaba, en el grupo salino el tiempo en el compartimiento de las crías fue mayor al tiempo en los compartimientos del macho y de la hembra no-receptiva (crías vs macho: $T_{(11)}= 10,0$, $p<0,05$; crías vs Hnr: $T_{(11)}= 0,0$, $p<0,01$). Esta diferencia de tiempo entre crías y macho se perdió a la dosis de 0,025 mg/kg ($T_{(11)}= 31,0$, $p=NS$), aunque el tiempo con ambos reforzadores fue mayor que con la hembra no-receptiva (cría vs Hnr: $T_{(11)}= 11,0$, $p<0,05$; macho vs Hnr: $T_{(11)}= 10,0$, $p<0,05$). De forma interesante, a la dosis de 0,05 mg/kg de HAL no observamos diferencias en el tiempo de permanencia entre los tres estímulos (Fig. 12).

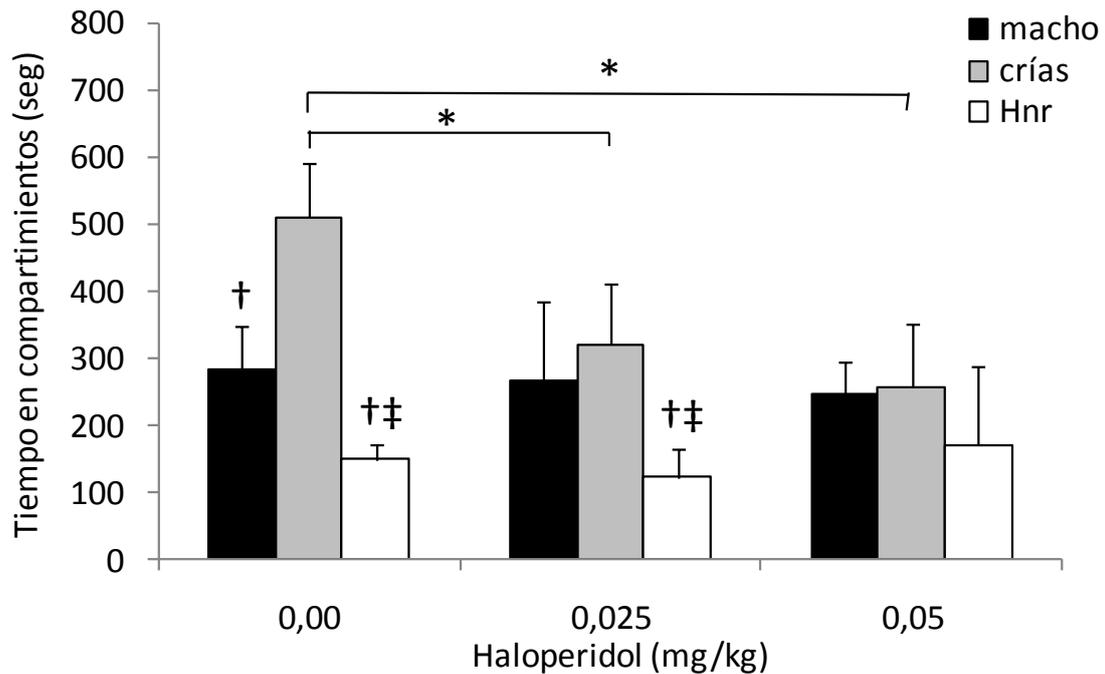


Figura 12. Tiempo total en el compartimiento del macho (barras negras), de las crías (barras grises) y de la hembra no receptiva (Hnr) (barras blancas) de hembras en EPP. Los datos se expresan como medianas (RISQ). †: $p < 0,05$ vs crías y ‡: $p < 0,05$ vs macho dentro de un grupo, prueba pareada de Wilcoxon. *: $p < 0,05$ vs 0,00 mg/kg de HAL entre grupos, prueba U de Mann-Whitney.

El efecto de este antagonista en la dosis máxima sobre el comportamiento de las hembras se reflejó a su vez en un cambio en la preferencia de las hembras en comparación al grupo salino ($X^2 = 9,73$, $p < 0,05$, tabla de contingencia), observándose una reducción del número de hembras que prefirieron a las crías ($p < 0,01$, prueba exacta de Fisher, Tabla 3).

Tabla 3. Hembras en EPP que prefieren a crías, macho, hembra no-receptiva y no prefieren.

| <i>Preferencia</i> | <i>Haloperidol (mg/kg)</i> | | |
|----------------------------|----------------------------|--------------|-------------|
| | 0,00 | 0,025 | 0,05 |
| <i>macho</i> | 1/11 | 4/11 | 3/11 |
| <i>crías</i> | 8/11 | 3/11 | 1/11 |
| <i>hembra no receptiva</i> | 0/11 | 1/11 | 2/11 |
| <i>no prefiere</i> | 2/11 | 3/11 | 5/11 |

Los datos se expresan como número de hembras que eligen (crías, macho o hembra no-receptiva) y que no eligen sobre el número total de hembras por grupo.

Como muestra la figura 13, acompañando a lo observado en los tiempos de permanencia, los esfuerzos por obtener a las crías decayeron con las dosis 0,025 y 0,05 mg/kg de HAL (crías: H (2) = 9,32 p<0,05; macho: H (2) = 1,13, p=0,56; Hnr: H (2) = 0,81 p=0,66).

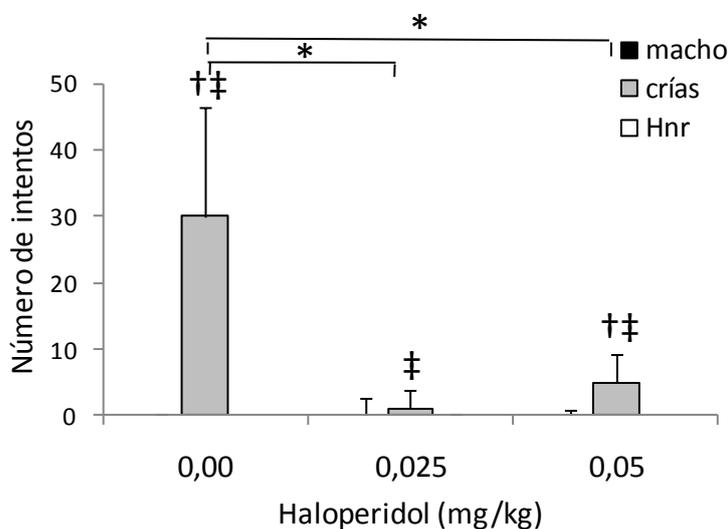


Figura 13. Frecuencia de esfuerzos por obtener al macho (barras negras), a las crías (barras grises) y a la hembra no receptiva (barras blancas) de hembras con HAL a las dosis 0,00, 0,025 y 0,05 mg/kg. Los datos se expresan como medianas (RISQ). †: p<0,05 vs macho, ‡: p<0,05 vs Hnr dentro de un grupo, prueba pareada de Wilcoxon y *: p<0,05 vs 0,00 mg/kg de HAL entre grupos, prueba U de Mann-Whitney.

El número de entradas totales a los compartimentos disminuyó con las sucesivas dosis de HAL acompañando lo evidenciado en los tiempos de permanencia (Tabla 4).

Tabla 4. Número de entradas a los compartimientos de las crías, del macho y de la hembra no-receptiva.

| <i>N° de entradas</i> | <i>HAL (mg/kg)</i> | | |
|----------------------------------|---------------------------|---------------------|--------------------|
| | <i>0,00</i> | <i>0,025</i> | <i>0,05</i> |
| <i>crías</i> | 12,0 (3,2) | 7,0 (2,0)* | 5,0 (0,7)* |
| <i>macho</i> | 10,0 (2,2)† | 6,0 (1,2)* | 4,0 (1,0)*# |
| <i>hembra no receptiva</i> | 8,0 (0,5)† | 5,0 (1,7)*†‡ | 4,0 (1,0)* |

Los datos se expresan como medianas (RSIC). †: $p < 0,05$ vs. crías y ‡: $p < 0,05$ vs macho, prueba pareada de Wilcoxon y *: $p < 0,05$ vs. salina, #: $p < 0,05$ vs. 0,025 mg/kg de HAL, prueba U de Mann-Whitney.

Como se evidenció en el experimento I, el número de cruces por los brazos fue menor conforme aumentó la dosis de HAL (Fig. 14A). Sin embargo, en el este experimento, el tiempo que las hembras invirtieron en los estímulos reforzadores (crías o macho) disminuyó a su vez en la dosis máxima (Fig. 14B).

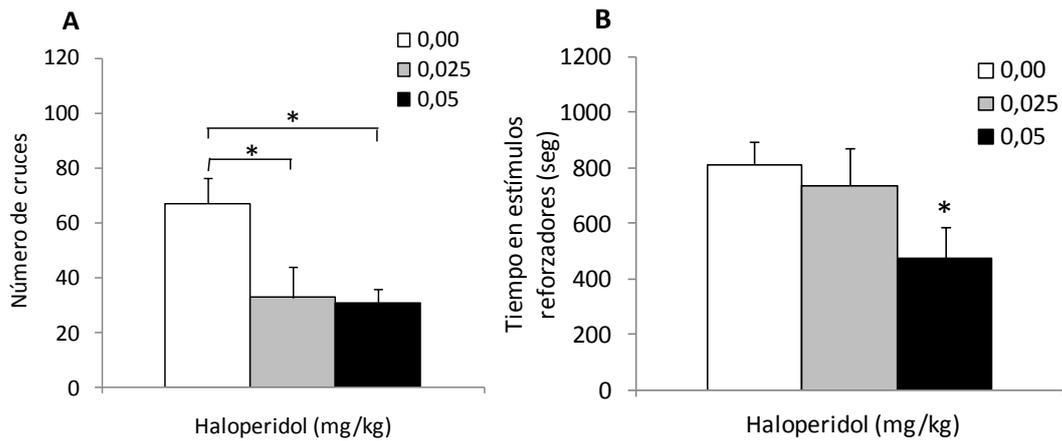


Figura 14. Número de cruces por los brazos del modelo (A) y tiempo en los compartimento de los estímulos reforzadores (tiempo en crías sumado al tiempo en macho) (B) de las hembras inyectadas con 0,00, 0,025 y 0,05 mg/kg de HAL. Los datos se expresan como medianas (RISQ). *: $p < 0,05$ vs 0,00 mg/kg de HAL, prueba U de Mann-Whitney.

8.3.2. Efecto del HAL sobre la ejecución de las conductas sexual y maternal

Comportamiento sexual

La receptividad sexual de las hembras reflejada por el cociente de lordosis se mantuvo inalterado entre los grupos ($H(2,31) = 1,24$ $p=0,53$). De igual forma, las latencias a desplegar conductas proceptivas (*hops & darts* o solicitudes) o a realizar lordosis de las hembras, así como las latencias a la monta y eyaculación del macho, no difirieron (Tabla 4). La administración de HAL no alteró el número de *hops & darts* realizados por las hembras. Sin embargo disminuyó el despliegue de solicitudes a la dosis más alta (Fig. 15A), mientras que la duración promedio de la lordosis aumentó de forma dosis dependiente (Fig. 15B).

Tabla 4. Latencias al despliegue de conductas sexuales por parte de las hembras y los machos.

| Conducta | Haloperidol (mg/kg) | | |
|-------------|---------------------|------------|-------------|
| | 0,00 | 0,025 | 0,05 |
| proceptivas | 39 (25,8) | 37 (20,6) | 22 (13,8) |
| lordosis | 40,6 (25,9) | 38 (20,1) | 42,1 (65,4) |
| monta | 40,4 (26) | 48 (42,8) | 41,8 (65,4) |
| eyacuación | 307 (79,34) | 318 (82,7) | 327 (276,4) |

Los datos se expresan en segundos como medianas (RSIC), $p=NS$, análisis de varianzas de Kruskal Wallis.

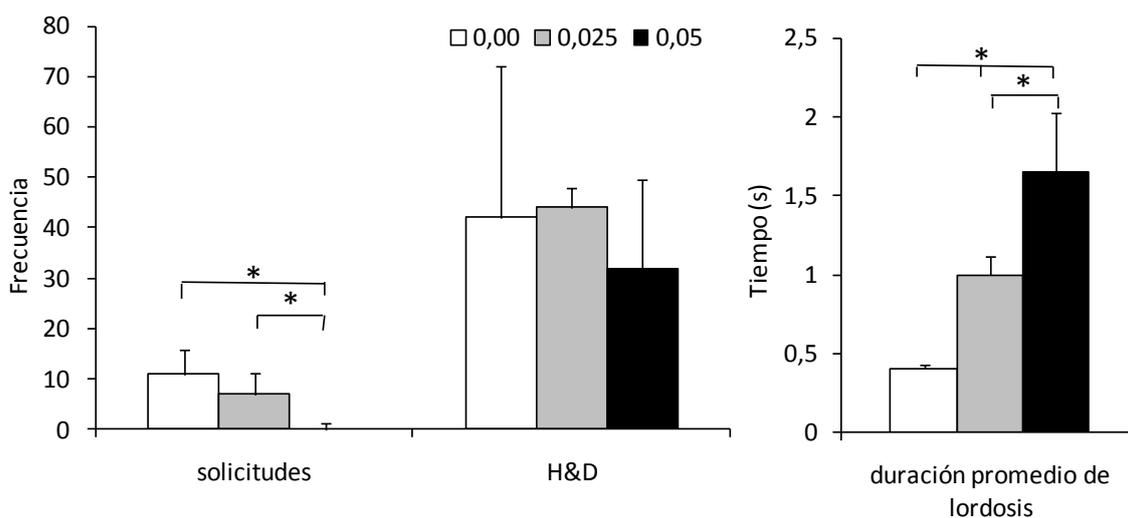


Figura 15. Frecuencia de solicitudes y *hops & darts* (H&D) (A) y duración de la postura de lordosis (B) de las hembras en EPP tratadas con 0,0, 0,025 y 0,05 mg/kg de HAL. Los datos se expresan como medianas (RSIC). *: $p < 0,05$ prueba U de Mann-Whitney.

Prueba de acarreo de las crías

La administración de HAL no alteró el número de acarreos realizado por las hembras en EPP, sin embargo la dosis máxima de este fármaco aumentó la latencia al acarreo de la primera cría, así como a la reunión de toda la camada en el nido (Tabla 5).

Tabla 5. Latencias a la ejecución de acarreos y frecuencia

| <i>Conducta</i> | | <i>Haloperidol (mg/kg)</i> | | |
|-------------------|-------------------------|----------------------------|--------------|----------------|
| | | <i>0,00</i> | <i>0,025</i> | <i>0,05</i> |
| <i>Latencias</i> | 1 ^{er} acarreo | 14 (8,7) | 43 (97,7) | 160,5 (97,7) * |
| | RCM | 110 (40,7) | 217 (109,7) | 300 (18,6) * |
| <i>Frecuencia</i> | acarreo | 7 (1) | 5 (3,5) | 5 (3,6) |

RCM: reunión de la camada en el nido. Las latencias están expresadas en seg. Los datos se expresan como medianas (RSIC). *: $p < 0,05$ vs 0,00 mg/kg de HAL, prueba U de Mann-Whitney.

8.4. Conclusiones

-Si bien los resultados referidos a la proporción de hembras que prefieren no son concluyentes, el mayor tiempo de permanencia con las crías y con el macho respecto a la hembra no-receptiva tanto en el grupo control como en el tratado con 0,025 mg/kg de HAL apoyan el mayor valor de incentivo de ambos reforzadores respecto a un estímulo social, incluso bajo el efecto de este antagonista dopaminérgico.

- La falta de preferencia entre los reforzadores y el estímulo social neutro a la dosis máxima de HAL sugiere que una afectación importante del sistema dopaminérgico en un contexto social más complejo podría reducir el valor de incentivo relativo de estos estímulos o afectar la resolución del modelo.

- La mayor afectación de las conductas maternas motivadas respecto a las sexuales observada a la dosis máxima de HAL sugiere un mayor impacto de este fármaco sobre la motivación maternal que sobre la sexual.

9. DISCUSIÓN

9.1. Principales resultados

- La reducción de la neurotransmisión dopaminérgica disminuyó la preferencia por las crías frente al macho (dos dosis de HAL en el experimento I y dosis baja de HAL en experimento III) indicando que la actividad de este sistema de neurotransmisión media la preferencia por las crías frente al macho durante el EPP.
- A su vez, el mayor impacto de este antagonista dopaminérgico sobre la preferencia por las crías y el macho cuando ambos reforzadores se enfrentan entre sí que cuando un solo (crías o macho) se enfrenta a un estímulo social neutro (experimentos I y II), indica que en el contexto del EPP el valor de incentivo relativo de las crías y del macho es menor cuando ambos están presentes.
- Por otra parte, en un contexto social más complejo como lo es el modelo con 3 estímulos sociales, una afectación mayor del sistema de neurotransmisión dopaminérgico no permite discernir entre el valor de estos estímulos (experimento III); lo que podría deberse a una disminución del valor de incentivo relativo de estos estímulos o a una incapacidad de resolución del modelo.
- La mayor afectación de la preferencia por crías frente a un estímulo neutro (experimento II) y de la ejecución de componentes activos del comportamiento maternal que del sexual (experimento III) luego de la

administración de HAL, sugiere que la disminución de la neurotransmisión dopaminérgica afecta en mayor medida a la motivación maternal que a la sexual.

9.2. Efecto del HAL en el valor de incentivo de las crías en relación al del macho

La reducción de la preferencia por las crías frente al macho de las hembras en EPP luego de la administración de HAL, sugiere que la neurotransmisión dopaminérgica media la asignación de un mayor valor de incentivo de las crías en relación al macho. Esto podría deberse a un rol más relevante del sistema de neurotransmisión dopaminérgico en la regulación de la expresión de la motivación maternal que de la sexual (Ellingsen & Agmo, 2004; Hansen, et al., 1991a, 1991b). En este sentido, observamos que al enfrentar a los incentivos - crías y macho- de forma independiente a un estímulo social sin valor de reforzador (hembra no-receptiva), a diferencia de la elección por el macho, la preferencia por las crías se vio alterada por la administración de HAL. A su vez, la dosis máxima de HAL tuvo un impacto mayor sobre los acarreos de las crías (afectando las latencias de inicio y reunión de toda la camada) que sobre el despliegue de conductas proceptivas hacia el macho (no se afectó la latencia al despliegue de conductas proceptivas ni su frecuencia). Estos resultados concuerdan con estudios previos que reportan que la administración sistémica de HAL afecta los componentes maternales motivados a dosis de 0,05 mg/kg (M Pereira & Ferreira, 2006; Stern & Keer, 1999), mientras que dosis mayores a 0,1 mg/kg son necesarias para alterar de forma notoria los componentes

motivacionales del comportamiento sexual de las hembras (Ismail, et al., 2010). En concordancia, se ha mostrado que lesiones con 6-OHDA del sistema mesolímbico realizadas tanto en el ATV como en el estriado ventral (NAcc, tubérculo olfatorio y el núcleo caudado ventromedial), afectan los componentes activos del comportamiento maternal en mayor medida que los del sexual (Hansen, 1994; Hansen, et al., 1991a, 1991b).

Si bien los resultados evidencian una mayor afectación de la motivación maternal, no descartamos que la motivación sexual se viera alterada por la administración de HAL. Diversos trabajos reportan que la DA está implicada en la expresión o regulación de la motivación sexual de la hembra (Afonso, et al., 2009b; Becker, Rudick, & Jenkins, 2001; G Coria-Avila, et al., 2008; Graham & Pfaus, 2012; Ismail, et al., 2010; Jenkins & Becker, 2003; Mermelstein & Becker, 1995). En nuestro modelo en particular, estando las hembras en EPP maternal y sexualmente motivadas, si la reducción de la transmisión dopaminérgica afectara únicamente la motivación maternal, esperaríamos que la disminución del valor de incentivo de las crías habilitara la expresión de la motivación sexual, incrementando la preferencia por el macho. En este sentido, demostramos que en situaciones experimentales en las cuales se afecta selectivamente la motivación maternal⁵ las hembras en EPP enfrentadas a crías vs macho prefirieron al macho. En nuestras condiciones experimentales, si bien el tiempo de permanencia junto al macho tendió a aumentar, las hembras no expresaron preferencia por los reforzadores, indicando que en

⁵ La afectación selectiva de la motivación maternal, a través de reducir el período de interacción entre las madres y las crías, cambia la preferencia de las hembras en EPP maternales y sexualmente activas, por las crías hacia el macho (Marín et al, 2013; Abstract).

alguna medida el valor de incentivo del macho también fue afectado por la administración de este antagonista dopaminérgico. En síntesis, a partir de los resultados de esta tesis, así como de trabajos previos se desprende que el sistema dopaminérgico mediaría la asignación de valor de incentivo tanto de las crías como del macho, si bien su importancia es mayor para la expresión de la motivación maternal que de la sexual.

Por otra parte, también es posible que el efecto del HAL sobre la preferencia por las crías se deba, no a un efecto mayor sobre la motivación maternal *per se*, sino a que en este modelo la elección de las crías requiera mayor esfuerzo. En este sentido, la expresión de la motivación hacia estos estímulos, así como el vínculo que se establece entre ellos (madre-crías y hembra-macho) es diferente. En el caso de las crías, las madres buscan activamente no solo su cercanía, sino también el contacto físico (Kinsley & Bridges, 1990; Rosenblatt, 1969, 1975). Los componentes más activos del comportamiento maternal que han sido considerados como componentes fuertemente motivados (como los acarreos y lamidos), requieren de la interacción directa con las crías (Numan & Insel, 2003; Stern, 1996). Mientras que en el caso de la motivación sexual, si bien la hembra busca activamente la cercanía con el macho (Ågmo, 1999; McClintock & Anisko, 1982; Pfaus, et al., 1999) y realiza una serie de despliegues comportamentales de acercamiento y alejamiento del mismo que lo incitan a la monta (Beach, 1976; Graham & Pfaus, 2010), los aspectos activos, considerados los componentes más motivados del comportamiento sexual de la hembra, no requieren contacto físico directo con el macho. Así, en el contexto particular de nuestro modelo sin acceso a los reforzadores y dadas las características de la expresión de los comportamientos maternal y sexual, el

intentar obtener a las crías podría implicar mayor esfuerzo que intentar obtener al macho: contacto físico vs cercanía. De hecho, las hembras en EPP realizan más intentos por acceder a las crías que por acceder al macho, y éstos se ven afectados por la administración de HAL. Por lo que cabe la posibilidad que el HAL reduzca la preferencia por las crías porque la disminución de la actividad dopaminérgica posee un impacto mayor sobre aquellas conductas que requieren mayor esfuerzo (Farrar, et al., 2010; Nunes, Randall, Podurriel, Correa, & Salamone, 2013; Salamone & Correa, 2002, 2012; Salamone, et al., 1994). Para probar esta hipótesis se requiere emplear modelos específicos con acceso físico a ambos estímulos en los cuales el esfuerzo por la obtención de ambos reforzadores sea diferente (SB Floresco, Onge, Ghods-Sharifi, & Winstanley, 2008; Salamone & Correa, 2012).

Por otra parte, el mayor impacto de este antagonista dopaminérgico sobre la preferencia por las crías y el macho cuando ambos se enfrentan entre sí (experimento I) que cuando un solo, crías o macho, se enfrenta a un estímulo social neutro (experimento II), indica que en el contexto del EPP el valor de incentivo de las crías y del macho es menor cuando ambos están presentes. En otras palabras, el valor de incentivo de estos reforzadores no es absoluto, y se reduce cuando ambas motivaciones –maternal y sexual- compiten. De forma similar, utilizando un modelo de preferencia por lugar condicionado (*conditioned place preference*, CPP) Pereira & Morrell (M Pereira & Morrell, 2010) reportan que hembras lactantes enfrentadas a la elección entre ambientes asociados a dos reforzadores –crías y cocaína- no muestran preferencia clara por uno de estos ambientes, sin embargo prefieren el compartimiento asociado a las crías y el asociado a la cocaína cuando éstos se enfrentan a un estímulo neutro.

Estos estudios junto a los resultados de esta tesis señalan que, en presencia de más de un estímulo reforzador, el valor de incentivo de uno es afectado por el del otro.

9.3. Posibles mecanismos de acción de HAL asociados al efecto de este fármaco en la preferencia por crías respecto a un macho.

Los efectos observados de la administración sistémica de este antagonista dopaminérgico sobre las motivaciones maternal y sexual de las hembras en EPP podrían deberse al efecto de este fármaco sobre el sistema dopaminérgico mesolímbico descrito previamente. Sin embargo, este efecto podría estar asociado a su vez, a la acción en otros circuitos dopaminérgicos vinculados a motivaciones sociales. En este sentido, la inervación dopaminérgica del sistema *incerto-hipotalámico*⁶ al APOM ha sido recientemente implicada en la regulación tanto de la motivación maternal (Stolzenberg & Numan, 2011) como de la sexual (Graham & Pfaus, 2010, 2012). Particularmente, se ha propuesto que las proyecciones desde el APOM hacia ATV y de éste al NAcc, representarían el nexo entre ambos sistemas (Geisler & Zahm, 2005; Mogenson, Jones, & Yim, 1980; Simerly & Swanson, 1988), habilitando la expresión de respuestas motivadas específicas hacia incentivos particulares –como crías o un macho- (G. Coria-Avila & Pfaus, 2007; Numan, 2006; Numan, et al., 2005a; Stolzenberg & Numan, 2011).

⁶ El **sistema dopaminérgico incerto-hipotalámico** se compone de neuronas dopaminérgicas que unen la región dorsoposterior a la región dorsoanterior del hipotálamo (donde se encuentra el APOM) y al núcleo lateral septal (Lookingland & Moore, 1984).

Es así que el APOM de la rata hembra expresa ambos tipos de receptores dopaminérgicos D1 y D2 (Bakowska & Morrell, 1995) y la actividad dopaminérgica en la misma varía en función de su estado reproductivo (Lonstein, Dominguez, Putman, De Vries, & Hull, 2003; Olazábal, et al., 2004). El bloquear o estimular la actividad de estos receptores tiene un claro efecto sobre los componentes maternos activos, implicando principalmente a los receptores D1 en su control (Miller & Lonstein, 2005; Numan et al., 2005b). En estudios recientes se ha sugerido que el control de los aspectos motivados de la conducta sexual como las solicitudes, también estarían controlados por los receptores dopaminérgicos del APOM, principalmente por los D1, a través de mecanismos dependientes de la acción de la progesterona en esta área (Graham & Pfaus, 2010, 2012). El hecho de que las mismas dosis de antagonistas de los receptores D1 en esta región tengan efectos similares en el comportamiento maternal y sexual (Graham & Pfaus, 2012; Numan et al., 2005b), sugiere que la DA en el APOM regula de forma similar ambas conductas.

En cambio la depleción de DA en NAcc afecta más a la expresión de la conducta maternal que a la sexual (Hansen, et al., 1991a), sugiriendo que la acción de la DA en el NAcc es más importante para la expresión de la motivación maternal que para la expresión de la sexual. En este sentido, Numan y colaboradores (2005b) reportan que el efecto de antagonizar la neurotransmisión dopaminérgica sobre los componentes activos del comportamiento maternal es mayor cuando se realiza en NAcc que en APOM. En el NAcc ambos tipos de receptores D1 y D2 han sido implicados en el control de los aspectos motivados activos de la conducta maternal (Numan, et

al., 2005b; M Pereira, et al., 2011), sin embargo no hay hasta el momento estudios que exploren la implicancia de estos receptores en el núcleo en los aspectos motivados del comportamiento sexual. A su vez los esteroides ováricos regulan la expresión de los receptores dopaminérgicos (Graham & Pfaus, 2012; Stolzenberg & Numan, 2011) y se desconoce la expresión de los mismos bajo el perfil hormonal particular del EPP, lo cual dificulta especular sobre su implicancia específica en la elección por ambos reforzadores en este período particular del ciclo de vida de las hembras.

Sería interesante en futuros experimentos profundizar sobre la implicancia de la activación de ambos tipos de receptores, en particular en el NAcc, en la regulación de la expresión de las motivaciones maternal y sexual así como su interacción durante el EPP.

9.4. Efecto del HAL en la preferencia por ambos reforzadores en presencia de un estímulo social neutro

La inclusión de un tercer estímulo sin valor de recompensa en el modelo de preferencia crías vs macho, permitió ratificar que, para las hembras maternal y sexualmente motivadas, ambos reforzadores –crías y macho- poseen un mayor valor de incentivo que la hembra no-receptiva. De acuerdo a lo esperado, luego de la administración de la dosis más baja de HAL, a pesar de reducirse la elección por las crías, la preferencia por los reforzadores –crías y macho- frente a la hembra no-receptiva se mantuvo, indicando que si bien este antagonista reduce el valor de incentivo maternal y sexual de estos estímulos, ambas motivaciones prevalecen.

La pérdida de preferencia por ambos reforzadores respecto a la hembra no-receptiva con la dosis alta de este antagonista dopaminérgico podría asociarse a una disminución del valor de incentivo relativo de estos tres estímulos. Sin embargo, esta idea contrasta con el hecho de que la misma dosis no eliminó la preferencia por las crías (si bien la afectó) o por el macho cuando éstos se enfrentaron a la hembra no-receptiva de forma independiente. En conjunto, estos resultados sugieren que la pérdida de preferencia en el modelo con tres estímulos de elección bajo una afectación dopaminérgica alta podría asociarse a la mayor complejidad del mismo al incluirse un tercer estímulo con valor social al que la hembra también explora activamente.

La elección y respuesta de la hembra ante las crías y el macho no solo depende de su valor de incentivo, sino de otros procesos, incluyendo procesos atencionales. En este sentido, la pérdida de preferencia por los reforzadores luego de la administración del HAL en su dosis máxima podría relacionarse al rol de la DA *mesocortical*⁷ en la regulación de procesos atencionales. La DA actuando en la CPFm ha sido implicada en procesos cognitivos, principalmente con altos requerimientos como por ejemplo en los que requieren cambio atencional (Dalley, Cardinal, & Robbins, 2004). Estudios anatómicos recientes, muestran que las neuronas piramidales de la CPFm (incluyendo células que reciben aferencias del hipocampo), envían proyecciones glutamatérgicas excitatorias hacia neuronas dopaminérgicas en VTA, que de hecho conectan de

⁷ El **sistema dopaminérgico mesocortical** se compone de neuronas dopaminérgicas que proyectan desde el ATV hacia áreas corticales como la CPFm. También se considera como sistema mesocorticolímbico, a estas proyecciones junto a las neuronas dopaminérgicas que se extienden desde el ATV hasta estructuras límbicas como el NAcc (Björklund & Dunnett, 2007).

forma recíproca con la CPFm (Carr & Sesack, 2000). De igual forma, conexiones recíprocas similares se han observado entre la CPFm y el NAcc (Sesack & Pickel, 1992).

Ambos tipos de receptores dopaminérgicos (D1 y D2) se expresan en la CPFm, (Gaspar, Bloch, & Le Moine, 1995) y antagonizar la actividad de los mismos, afecta la resolución exitosa de pruebas que evalúan la memoria basada en trabajo, el cambio atencional y la flexibilidad comportamental (Stan Floresco, Magyar, Ghods-Sharifi, Vexelman, & Tse, 2006; Phillips, et al., 2008; Winter, Dieckmann, & Schwabe, 2009). Además lesiones en CPFm, particularmente en la corteza anterior cingulada, así como antagonizar la acción del receptor D1 en esta área, también reducen la preferencia por la opción de mayor esfuerzo y recompensa evaluada en el laberinto en T (Schweimer & Hauber, 2006; Schweimer, Saft, & Hauber, 2005), al igual que la administración sistémica de HAL o lesiones en NAcc (Salamone, et al., 1994). Sobre la base de esta evidencia es posible especular que al administrar HAL, disminuya la capacidad de atención de las hembras, y este efecto sumado a la reducción del valor de incentivo de las crías y del macho dificulte su capacidad de elegir por ambos reforzadores en una situación compleja como la que representa el modelo con tres estímulos.

9.5. Posibles implicancias del efecto motor del HAL en la preferencia

Si bien observamos una reducción de la actividad locomotora, consecuencia de la acción del fármaco sobre circuitos motores (Collins et al., 2010; Koob, Stinus, & Le Moal, 1981), no consideramos que ésta enmascare el efecto motivacional

de esta manipulación farmacológica en la preferencia, ya que las hembras no se vieron impedidas de recorrer la totalidad del modelo visitando los tres compartimientos varias veces a lo largo de toda la prueba, y de preferir los estímulos reforzadores, explorando los tres compartimientos durante la misma cantidad de tiempo.

Escapar a los efectos motores de las alteraciones dopaminérgicas no es sencillo. Así, manipulaciones locales en NAcc que tratan de evitar la afectación de la vía dopaminérgica *nigroestriata*⁸ que ha sido la vía principalmente implicada en el control motor, afectan también de forma importante la exploración y la actividad ambulatoria (Baldo, Sadeghian, Basso, & Kelley, 2002; Cousins, Atherton, Turner, & Salamone, 1996; Guarraci & Clark, 2003; Salamone, 1992). En este sentido, debido a que la expresión de los aspectos activacionales de una motivación implica la realización de un acto motor, existe un considerable grado de superposición entre ambos (Salamone & Correa, 2012), si bien se ha sugerido que son procesos diferentes (K. Berridge & Robinson, 1998; Salamone & Correa, 2002; Salamone, Wisniecki, Carlson, & Correa, 2001; Sokolowski, Conlan, & Salamone, 1998). No obstante, en nuestro caso, aunque la locomoción disminuya con la administración de HAL, este efecto no parece ocultar los aspectos motivacionales que se reflejan en la inversión de más tiempo junto a los estímulos reforzadores y en el mayor número de visitas a éstos que al compartimiento vacío o a la hembra no-receptiva (estímulo social neutro). En próximos estudios será necesaria la

⁸ El **sistema dopaminérgico nigroestriado** tiene su origen en cuerpos neuronales que se encuentran en la sustancia nigra dorsal y ventral y sus axones proyectan hacia el cuerpo estriado (Björklund & Dunnett, 2007).

manipulación local a nivel del NAcc u otras áreas de interés para reducir este impacto motor y provocar el efecto motivacional con mayor precisión.

10. CONCLUSIONES

Si bien los comportamientos maternal y sexual son conductas motivadas que poseen características y circuitos neuronales de control comunes (G Coria-Avila, et al., 2014; Goodson, 2005; Newman, 1999; Stolzenberg & Numan, 2011), presentan diferencias en su regulación y expresión. Los resultados de esta tesis evidencian esas diferencias en los mecanismos de regulación en una situación en la cual las hembras están simultáneamente maternal y sexualmente motivadas, sugiriendo un papel más relevante de la neurotransmisión dopaminérgica en el control de la motivación maternal que de la sexual, al menos, en una situación de elección.

A su vez, las diferencias en el efecto del HAL en la preferencia por crías vs macho en dos situaciones diferentes (presencia o ausencia de estímulo social neutro) destacan la importancia del contexto social al analizar comportamientos motivados que implican toma de decisión, y enfatizan la cautela que se debe tener a la hora de generalizar resultados obtenidos en modelos particulares. Así, la inclusión del tercer estímulo social sin valor de incentivo específico en el modelo ratifica el fuerte valor de incentivo que poseen las crías y el macho para una hembra en EPP, pero a su vez, genera nuevas interrogantes sobre otros mecanismos que podrían estar regulando la interacción motivacional y la consecuente elección en este contexto.

En suma, este abordaje nos permitió determinar algunos factores implicados en la elección de la hembra frente a dos estímulos de gran relevancia biológica como lo son las crías y el macho en un momento en el cual ambas motivaciones se expresan. A su vez, pudimos evidenciar cómo el valor de

incentivo de un estímulo es afectado por la presencia de otro y esta interrelación es influenciada por el contexto. Finalmente los resultados de esta tesis habilitan el planteo de nuevas interrogantes que nos permitirán seguir buscando respuestas en esta línea.

11. PERSPECTIVAS

Este trabajo constituye el primer acercamiento a entender los mecanismos neurales que subyacen a la relación de la co-expresión de las motivaciones maternal y sexual y su vínculo con el contexto. A partir de los resultados obtenidos, nos planteamos las siguientes perspectivas de trabajo:

- Determinar si la pérdida de preferencia por las crías frente al macho en este modelo luego de reducir la neurotransmisión dopaminérgica se debe a que: 1. la DA tiene un rol más preponderante en el control de la motivación maternal que de la sexual, o 2. la expresión de la motivación maternal implica mayor esfuerzo que la sexual. Con este fin, pretendemos comparar el efecto de antagonizar la neurotransmisión dopaminérgica en ambas motivaciones, evaluando los efectos de manipular el acceso, y la dificultad de acceso a los estímulos crías y macho en una prueba de preferencia.
- Profundizar en los mecanismos a través de los cuáles el HAL afecta la preferencia de hembras en EPP por las crías a través de evaluar el efecto de la administración de antagonistas selectivos de los receptores dopaminérgicos D1 y D2 en las principales áreas implicadas en el control de estas motivaciones (en particular en el NAcc) en el comportamiento de las hembras en el modelo de preferencia crías vs macho.

REFERENCIAS

- Aberman, J., & Salamone, J. (1999). Nucleus accumbens dopamine depletions make rats more sensitive to high ratio requirements but do not impair primary food reinforcement. *Neuroscience*, *92*(2), 545-552.
- Afonso, V., King, S., Chatterjee, D., & Fleming, A. (2009a). Hormones that increase maternal responsiveness affect accumbal dopaminergic responses to pup- and food-stimuli in the female rat. *Hormones and behavior*, *56*(1), 11-23.
- Afonso, V., King, S., Novakov, M., Burton, C., & Fleming, A. (2011). Accumbal dopamine function in postpartum rats that were raised without their mothers. *Horm Behav*, *60*(5), 632-643.
- Afonso, V., Mueller, D., Stewart, J., & Pfaus, J. (2009b). Amphetamine pretreatment facilitates appetitive sexual behaviors in the female rat. *Psychopharmacology*, *205*(1), 35-43.
- Afonso, V., Shams, W., Jin, D., & Fleming, A. (2013). Distal pup cues evoke dopamine responses in hormonally primed rats in the absence of pup experience or ongoing maternal behavior. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, *33*(6), 2305-2312.
- Ágmo, A. (1999). Sexual motivation—an inquiry into events determining the occurrence of sexual behavior. *Behavioural Brain Research*.
- Ágmo, A., Turi, A., Ellingsen, E., & Kaspersen, H. (2004). Preclinical models of sexual desire: conceptual and behavioral analyses. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, *78*(3), 379-404.
- Agrati, D. (2009). Cambios en la respuesta a estímulos aversivos y atractivos durante la maternidad en la rata. *Tesis doctoral-PEDECIBA*.
- Agrati, D., Fernández-Guasti, A., & Ferreira, A. (2008). The reproductive stage and experience of sexually receptive mothers alter their preference for pups or males. *Behavioral neuroscience*, *122*(5), 998-1004.
- Agrati, D., Fernandez-Guasti, A., Ferreno, M., & Ferreira, A. (2011). Coexpression of sexual behavior and maternal aggression: the ambivalence of sexually active mother rats toward male intruders. *Behav Neurosci*, *125*(3), 446-451.
- Bakowska, J., & Morrell, J. (1995). Quantitative autoradiographic analysis of D1 and D2 dopaminergic receptors in rat brain in early and late pregnancy. *Brain Res*, *703*, 191-200.
- Baldo, B., Sadeghian, K., Basso, A., & Kelley, A. (2002). Effects of selective dopamine D1 or D2 receptor blockade within nucleus accumbens subregions on ingestive behavior and associated motor activity. *Behav Brain Res*, *137*, 165-177.
- Barboza-Vargas, E., Pfaus, J., & Woodside, B. (2009). Sexual behavior in lactating rats: role of estrogen-induced progesterone receptors. *Horm Behav*, *56*(2), 246-253.
- Beach, F. (1976). Sexual attractiveness, proceptivity and receptivity in the female mammals. *Horm Behav*, *7*, 105-138.
- Becker, J., Rudick, C., & Jenkins, W. (2001). The role of dopamine in the nucleus accumbens and striatum during sexual behavior in the female rat. *Behavioural Brain Research*, *121*(1-2), 119-128.
- Bermant, G., & Westbrook, W. (1966). Peripheral factors in the regulation of sexual contact by female rats. *J Comp Physiol Psychol*, *61*, 244-250.
- Berridge, K. (2004). Motivation concepts in behavioral neuroscience. *Physiology & Behavior*, *81*(2), 179-209.
- Berridge, K., & Robinson, T. (1998). What is the role of dopamine in reward: hedonic impact, reward learning, or incentive salience? *Brain Research Reviews*.
- Berridge, K., Robinson, T., & Aldridge, J. (2009). Dissecting components of reward: 'liking', 'wanting', and learning. *Current opinion in pharmacology*, *9*(1), 65-73.

- Bitran, D., Hilvers, R., & Kellogg, C. (1991). Ovarian endocrine status modulates the anxiolytic potency of diazepam and the efficacy of aminobutyric acid-benzodiazepine receptor-Mediated chloride ion transport. *Behav Neurosci*, *105*, 653-662.
- Björklund, A., & Dunnett, S. (2007). Dopamine neuron systems in the brain: an update. *Trends in neurosciences*, *30*.
- Blaustein, J., Tetel, M., Ricciardi, K., Delville, Y., & YTurcotte, J. (1994). Hypothalamic ovarian steroid hormone-sensitive neurons involved in female sexual behavior. *Psychoneuroendocrinology*, *19*(5-7), 505-516.
- Bridges, R. S. (1975). Long-term effects of pregnancy and parturition upon maternal responsiveness in the rat. *Physiol Behav*, *14*(3), 245-249.
- Bridges, R. S. (1984). A 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*, *114*, 930-940.
- Bridges, R. S., Robertson, M. C., Shiu, R. P., Sturgis, J. D., Henriquez, B. M., & Mann, P. E. (1997). Central lactogenic regulation of maternal behavior in rats: steroid dependence, hormone specificity, and behavioral potencies of rat prolactin and rat placental lactogen I. *Endocrinology*, *138*(2), 756-763.
- Carr, D., & Sesack, S. (2000). Projections from the rat prefrontal cortex to the ventral tegmental area: target specificity in the synaptic associations with mesoaccumbens and mesocortical neurons. *The Journal of neuroscience*.
- Clark, A., Kelton, M., Guarraci, F., & Clyons, E. (2004). Hormonal status and test condition, but not sexual experience, modulate partner preference in female rats. *Hormones and behavior*, *45*(5), 314-323.
- Collins, L., Galtieri, D., Collins, P., Jones, S., Port, R., Paul, N., et al. (2010). Interactions between adenosine and dopamine receptor antagonists with different selectivity profiles: Effects on locomotor activity. *Behavioural brain research*, *211*(2), 148-155.
- Connor, J., & Davis, H. (1980a). Postpartum estrus in Norway rats. I. Behavior. *Biology of reproduction*.
- Connor, J., & Davis, H. (1980b). Postpartum estrus in Norway rats. II. Physiology. *Biology of reproduction*, *23*(5), 1000-1006.
- Coria-Avila, G., Gavrila, A., Boulard, B., Charron, N., Stanley, G., & Pfaus, J. (2008). Neurochemical basis of conditioned partner preference in the female rat: II. Disruption by flupenthixol. *Behav Neurosci*, *122*(2), 396-406.
- Coria-Avila, G., Jones, S., Solomon, C., Gavrila, A., Jordan, G., & Pfaus, J. (2006). Conditioned partner preference in female rats for strain of male. *Physiology & behavior*, *88*(4-5), 529-537.
- Coria-Avila, G., Manzo, J., Garcia, L., Carrillo, P., Miquel, M., & Pfaus, J. (2014). Neurobiology of social attachments. *Neurosci Biobehav Rev*, *43*, 173-182.
- Coria-Avila, G., & Pfaus, J. (2007). Neuronal activation by stimuli that predict sexual reward in female rats. *Neuroscience*, *148*(3), 623-632.
- Cousins, M., Atherton, A., Turner, L., & Salamone, J. (1996). Nucleus accumbens dopamine depletions alter relative response allocation in a T-maze cost/benefit task. *Behav Brain Res*, *74*, 189-197.
- Cousins, M., Wei, W., & Salamone, J. (1994). Pharmacological characterization of performance on a concurrent lever pressing/feeding choice procedure: effects of dopamine antagonist, cholinomimetic, sedative and stimulant drugs. *Psychopharmacology*, *116*(4), 529-537.
- Craig, W. (1918). Appetites and aversions as constituents of instincts. *Biological Bulletin*, *34*, 91-107.

- 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*(17), 4113-4123.
- Dalley, J., Cardinal, R., & Robbins, T. (2004). Prefrontal executive and cognitive functions in rodents: neural and neurochemical substrates. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, *28*(7), 771-784.
- Ellingsen, E., & Agmo, A. (2004). Sexual-incentive motivation and paced sexual behavior in female rats after treatment with drugs modifying dopaminergic neurotransmission. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, *77*(3), 431-445.
- Erskine, M. (1985). Effects of paced coital stimulation on estrus duration in intact cycling rats and ovariectomized and ovariectomized-adrenalectomized hormone-primed rats. *Behav Neurosci*, *99*(1), 151-161.
- Erskine, M. (1989). Solicitation behavior in the estrous female rat: a review. *Horm Behav*, *23*(4), 473-502.
- Erskine, M., Denenberg, V., & Goldman, B. (1978). Aggression in the lactating rat: effects of intruder age and test arena. *Behavioral biology*.
- Fahrbach, S., Morrell, J., & Pfaff, D. (1989). Studies of ventromedial hypothalamic afferents in the rat using three methods of HRP application. *Exp Brain Res*, *77*(2), 221-233.
- Fahrbach, S., & Pfaff, D. (1986). Effect of preoptic region implants of dilute estradiol on the maternal behavior of ovariectomized, nulliparous rats. *Horm Behav*, *20*(3), 354-363.
- Farrar, A., Segovia, K., Randall, P., Nunes, E., Collins, L., Stopper, C., et al. (2010). Nucleus accumbens and effort-related functions: behavioral and neural markers of the interactions between adenosine A2A and dopamine D2 receptors. *Neuroscience*, *166*(4), 1056-1067.
- Ferreira, A. (2008). Amor maternal y sexual: una visión psicobiológica *Aproximaciones al estudio de la Psicobiología del comportamiento*, 190-205.
- Ferreira, A., & Hansen, S. (1986). Sensory control of maternal aggression in *Rattus norvegicus*. *Journal of comparative psychology*.
- Ferreira, A., Hansen, S., Nielsen, M., Archer, T., & Minor, B. (1989). Behavior of mother rats in conflict tests sensitive to anti-anxiety agents. *Behavioral neuroscience*, *103*(1), 193-201.
- Ferreira, A., Pereira, M., Agrati, D., Uriarte, N., & Fernández-Guasti, A. (2002). Role of maternal behavior on aggression, fear and anxiety. *Physiol Behav*, *77*, 197-204.
- Fleming, A., Cheung, U., Myhal, N., & Kessler, Z. (1989). Effects of maternal hormones on 'timidity' and attraction to pup-related odors in female rats. *Physiology & behavior*, *46*(3), 449-453.
- Fleming, A., Korsmit, M., & Deller, M. (1994). Rat pups are potent reinforcers to the maternal animal: effect of experience, parity, hormones, and dopamine function. *Psychobiology*, *22*, 44-53.
- Fleming, A., & Luebke, C. (1981). Timidity prevents the virgin female rat from being a good mother: Emotionality differences between nulliparous and parturient females. *Physiol Behav*, *27*(5), 863-868.
- Fleming, A., & Rosenblatt, J. (1974). Maternal behavior in the virgin and lactating rat. *J Comp Physiol Psychol*, *86*, 57-72.
- Fleming, A., Ruble, D., Flett, G., & Shaul, D. (1988). Postpartum adjustment in first-time mothers: Relations between mood, maternal attitudes, and mother-infant interactions. *Developmental Psychology*, *24*(1), 71-81.
- Floresco, S., Magyar, O., Ghods-Sharifi, S., Vexelman, C., & Tse, M. (2006). Multiple dopamine receptor subtypes in the medial prefrontal cortex of the rat regulate set-shifting. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, *31*(2), 297-309.

- Floresco, S., Onge, J., Ghods-Sharifi, S., & Winstanley, C. (2008). Cortico-limbic-striatal circuits subserving different forms of cost-benefit decision making. *Cognitive, Affective & Behavioral Neuroscience*, 8(4), 375-389.
- Gaspar, P., Bloch, B., & Le Moine, C. (1995). D1 and D2 receptor gene expression in the rat frontal cortex: cellular localization in different classes of efferent neurons. *Eur J Neurosci*, 7(5), 1050-1063.
- Geisler, S., & Zahm, D. (2005). Afferents of the ventral tegmental area in the rat-anatomical substratum for integrative functions. *J Comp Neurol*, 490(3), 270-294.
- Gilbert, A. N. (1984). Postpartum and lactational estrus: a comparative analysis in rodentia. *J Comp Psychol*, 98(3), 232-245.
- Gilbert, A. N., Pelchat, R. J., & Adler, N. T. (1980). Postpartum copulatory and maternal behaviour in Norway rats under seminatural conditions. *Anim Behav*, 28 Pt 4, 989-995.
- Giordano, A., Johnson, A., & Rosenblatt, J. (1990). Haloperidol-induced disruption of retrieval behavior and reversal with apomorphine in lactating rats. *Physiology & behavior*, 48(1), 211-214.
- Goodson, J. (2005). The vertebrate social behavior network: Evolutionary themes and variations. *Horm Behav*, 48(1), 11-22.
- Graham, M., & Pfaus, J. (2010). Differential regulation of female sexual behaviour by dopamine agonists in the medial preoptic area. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 97(2), 284-292.
- Graham, M., & Pfaus, J. (2012). Differential effects of dopamine antagonists infused to the medial preoptic area on the sexual behavior of female rats primed with estrogen and progesterone. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 102(4), 532-539.
- Guarraci, F., & Clark, A. (2003). Amphetamine modulation of paced mating behavior. *Pharmacol Biochem Behav*, 76(3-4), 505-515.
- Guarraci, F., Frohardt, R., Hines, D., Navaira, E., Smith, J., & Wampler, L. (2008). Intracranial infusions of amphetamine into the medial preoptic area but not the nucleus accumbens affect paced mating behavior in female rats. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 89(3), 253-262.
- Guarraci, F., Megroz, A., & Clark, A. (2004). Paced mating behavior in the female rat following lesions of three regions responsive to vaginocervical stimulation. *Brain Res*, 999(1), 40-52.
- Hansen, S. (1994). Maternal Behavior of Female Rats With 6-OHDA Lesions in the Ventral Striatum: Characterization of the Pup Retrieval Deficit. *Physiol Behav*, 55(4), 615-620.
- Hansen, S., Bergvall, A., & Nyiredi, S. (1993). Interaction with pups enhances dopamine release in the ventral striatum of maternal rats: a microdialysis study. *Pharmacol Biochem Behav*, 45(3), 673-676.
- Hansen, S., & Ferreira, A. (1986). Food intake, aggression, and fear behavior in the mother rat: control by neural systems concerned with milk ejection and maternal behavior. *Behavioral neuroscience*, 100(1), 64-70.
- Hansen, S., Harthorn, C., Wallin, E., Lofberg, L., & Svensson, K. (1991a). The Effects of 6-OHDA-Induced Dopamine Depletions in the Ventral or Dorsal Striatum on Maternal and Sexual Behavior in the Female Rat. *Pharmacol Biochem Behav*, 39, 71-77.
- Hansen, S., Harthorn, C., Wallin, E., Lofberg, L., & Svensson, K. (1991b). Mesotelencephalic dopamine system and reproductive behavior in the female rat: effects of ventral tegmental 6-hydroxydopamine lesions on maternal and sexual responsiveness. *Behav Neurosci*, 105(4), 588-598.
- Hard, E., & Hansen, S. (1985). Reduced fearfulness in the lactating rat. *Physiology & behavior*, 35(4), 641-643.

- Hernández-González, M., Navarro-Meza, M., Prieto-Beracoechea, C., & Guevara, M. (2005). Electrical activity of prefrontal cortex and ventral tegmental area during rat maternal behavior. *Behavioural processes*, *70*(2), 132-143.
- Ikemoto, S., & Panksepp, J. (1999). The role of nucleus accumbens dopamine in motivated behavior: a unifying interpretation with special reference to reward-seeking. *Brain Research Reviews*.
- Ishiwari, K., Weber, S., Mingote, S., Correa, M., & Salamone, J. (2004). Accumbens dopamine and the regulation of effort in food-seeking behavior: modulation of work output by different ratio or force requirements. *Behavioural brain research*, *151*(1-2), 83-91.
- Ismail, N., Laroche, C., Girard-Bériault, F., Ménard, S., Greggain-Mohr, J., & Pfau, J. (2010). Conditioned ejaculatory preference in male rats paired with haloperidol-treated females. *Physiology & behavior*, *100*(2), 116-121.
- Jacobson, C., Terkel, J., Gorski, R., & Sawyer, C. (1980). Effects of small medial preoptic area lesions on maternal behavior: retrieving and nest building in the rat. *Brain Res*, *194*(2), 471-478.
- Jenkins, W., & Becker, J. (2003). Dynamic increases in dopamine during paced copulation in the female rat. *Eur J Neurosci*, *18*(7), 1997-2001.
- Kalinichev, M., Rosenblatt, J., Nakabeppu, Y., & Morrell, J. (2000). Induction of c-fos-like and fosB-like immunoreactivity reveals forebrain neuronal populations involved differentially in pup-mediated maternal behavior in juvenile and adult rats. *J Comp Neurol*, *416*(1), 45-78.
- Kato, A., & Sakuma, Y. (2000). Neuronal activity in female rat preoptic area associated with sexually motivated behavior. *Brain research*, *862*(1-2), 90-102.
- Keer, S., & Stern, J. (1999). Dopamine receptor blockade in the nucleus accumbens inhibits maternal retrieval and licking, but enhances nursing behavior in lactating rats. *Physiology & behavior*.
- Kelley, A. E., & Berridge, K. C. (2002). The neuroscience of natural rewards: relevance to addictive drugs. *J Neurosci*, *22*(9), 3306-3311.
- Kinsley, C. H., & Bridges, R. S. (1990). Morphine treatment and reproductive condition alter olfactory preferences for pup and adult male odors in female rats. *Developmental psychobiology*, *23*(4), 331-347.
- Kirkman, T. (1996). Statistics to use. <http://www.physics.csbsju.edu/stats/>.
- Koch, M., Schmid, A., & Schnitzler, H. U. (2000). Role of nucleus accumbens dopamine D1 and D2 receptors in instrumental and Pavlovian paradigms of conditioned reward. *Psychopharmacology (Berl)*, *152*(1), 67-73.
- Koob, G., Stinus, L., & Le Moal, M. (1981). Hyperactivity and hypoactivity produced by lesions to the mesolimbic dopamine system. *Behav Brain Res*, *3*(341-359).
- Kow, L., & Pfaff, D. (1998). Mapping of neural and signal transduction pathways for lordosis in the search for estrogen actions on the central nervous system. *Behav Brain Res*, *92*(2), 169-180.
- Lee, A., Clancy, S., & Fleming, A. (2000). Mother rats bar-press for pups: effects of lesions of the mpoa and limbic sites on maternal behavior and operant responding for pup-reinforcement. *Behavioural brain research*, *108*(2), 215-231.
- Li, M., & Fleming, A. (2003). The nucleus accumbens shell is critical for normal expression of pup-retrieval in postpartum female rats. *Behavioural brain research*, *145*(1-2), 99-111.
- Lonstein, J., & De Vries, G. (2000). Maternal behaviour in lactating rats stimulates c-fos in glutamate decarboxylase-synthesizing neurons of the medial preoptic area, ventral bed nucleus of the stria terminalis, and ventrocaudal periaqueductal gray. *Neuroscience*, *100*(3), 557-568.

- Lonstein, J., Dominguez, J., Putman, S., De Vries, G., & Hull, E. (2003). Intracellular preoptic and striatal monoamines in pregnant and lactating rats: possible role in maternal behavior. *Brain Res*, *970*(1-2), 149-158.
- Lonstein, J., & Stern, J. (1998). Site and behavioral specificity of periaqueductal gray lesions on postpartum sexual, maternal, and aggressive behaviors in rats. *Brain research*.
- Lookingland, K., & Moore, K. (1984). Dopamine receptor-mediated regulation of incertohypothalamic dopaminergic neurons in the male rat. *Brain research*, *304*(2), 329-338.
- Matthews-Felton, T., Corodimas, K. P., Rosenblatt, J., & Morrell, J. (1995). Lateral habenula neurons are necessary for the hormonal onset of maternal behavior and for the display of postpartum estrus in naturally parturient female rats. *Behav Neurosci*, *109*(6), 1172-1188.
- Mattson, B., & Morrell, J. (2005). Preference for cocaine- versus pup-associated cues differentially activates neurons expressing either Fos or cocaine- and amphetamine-regulated transcript in lactating, maternal rodents. *Neuroscience*, *135*(2), 315-328.
- Mayer, A., & Rosenblatt, J. (1984). Prepartum changes in maternal responsiveness and nest defense in *Rattus norvegicus*. *J Comp Psychol*, *98*(2), 177-188.
- McClintock, M., & Adler, N. (1978). The role of the female during copulation in wild and domestic Norway rats (*Rattus norvegicus*). *Behaviour* *67*, 67-96.
- McClintock, M., & Anisko, J. (1982). Group mating among norway rats I. Sex differences in the pattern and neuroendocrine consequences of copulation. *Anim Behav*, *30*, 398-409.
- McCormick, P., Kapur, S., Graff-Guerrero, A., Raymond, R., Nobrega, J., & Wilson, A. (2010). The antipsychotics olanzapine, risperidone, clozapine, and haloperidol are D2-selective ex vivo but not in vitro. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, *35*(8), 1826-1835.
- Melis, M., & Argiolas, A. (1995). Dopamine and sexual behavior. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*.
- Mermelstein, P., & Becker, J. (1995). Increased extracellular dopamine in the nucleus accumbens and striatum of the female rat during paced copulatory behavior. *Behav Neurosci*, *109*(2), 354-365.
- Miller, S., & Lonstein, J. (2005). Dopamine d1 and d2 receptor antagonism in the preoptic area produces different effects on maternal behavior in lactating rats. *Behav Neurosci*, *119*(4), 1072-1083.
- Mogenson, G., Jones, D., & Yim, C. (1980). From motivation to action: functional interface between the limbic system and the motor system. *Progress in neurobiology*, *14*(69-97).
- Moss, R., Paloutzian, R., & Law, O. (1974). Electrical stimulation of forebrain structures and its effect on copulatory as well as stimulus-bound behavior in ovariectomized hormone-primed rats. *Physiol Behav*, *12*(6), 997-1004.
- Mott, A., Nunes, E., Collins, L., Port, R., Sink, K., Hockemeyer, J., et al. (2009). The adenosine A2A antagonist MSX-3 reverses the effects of the dopamine antagonist haloperidol on effort-related decision making in a T-maze cost/benefit procedure. *Psychopharmacology*, *204*(1), 103-112.
- Musatov, S., Chen, W., Pfaff, D., Kaplitt, M., & Ogawa, S. (2006). RNAi-mediated silencing of estrogen receptor {alpha} in the ventromedial nucleus of hypothalamus abolishes female sexual behaviors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *103*(27), 10456-10460.
- Nesse, R. M., & Berridge, K. C. (1997). Psychoactive drug use in evolutionary perspective. *Science*, *278*, 63-66.
- Newman, S. (1999). The medial extended amygdala in male reproductive behavior. A node in the mammalian social behavior network. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *877*, 242-257.

- Numan, M. (1994). A neural circuitry analysis of maternal behavior in the rat. *Acta Paediatr Suppl*, 397, 19-28.
- Numan, M. (2006). Hypothalamic neural circuits regulating maternal responsiveness toward infants. *Behavioral and cognitive neuroscience reviews*, 5(4), 163-190.
- Numan, M., & Insel, T. (2003). The neurobiology of parental behavior. . *The neurobiology of parental behavior*. Springer-Verlag, New York, 69-106.
- Numan, M., Numan, M., Pliakou, N., Stolzenberg, D., Mullins, O., Murphy, J., et al. (2005b). The effects of D1 or D2 dopamine receptor antagonism in the medial preoptic area, ventral pallidum, or nucleus accumbens on the maternal retrieval response and other aspects of maternal behavior in rats. *Behav Neurosci*, 119(6), 1588-1604.
- Numan, M., Numan, M., Schwarz, J., Neuner, C., Flood, T., & Smith, C. (2005a). Medial preoptic area interactions with the nucleus accumbens-ventral pallidum circuit and maternal behavior in rats. *Behavioural brain research*, 158(1), 53-68.
- Numan, M., & Numan, M. J. (1997). Projection sites of medial preoptic area and ventral bed nucleus of the stria terminalis neurons that express Fos during maternal behavior in female rats. *J Neuroendocrinol*, 9(5), 369-384.
- Numan, M., & Stolzenberg, D. (2009). Medial preoptic area interactions with dopamine neural systems in the control of the onset and maintenance of maternal behavior in rats. *Frontiers in neuroendocrinology*, 30(1), 46-64.
- Nunes, E., Randall, P., Podurgiel, S., Correa, M., & Salamone, J. (2013). Nucleus accumbens neurotransmission and effort-related choice behavior in food motivation: Effects of drugs acting on dopamine, adenosine, and muscarinic acetylcholine receptors. *Neuroscience and biobehavioral reviews*.
- Olazábal, D., Abercrombie, E., Rosenblatt, J., & Morrell, J. (2004). The content of dopamine, serotonin, and their metabolites in the neural circuit that mediates maternal behavior in juvenile and adult rats. *Brain Res Bull*, 63(4), 259-268.
- Olazábal, D., Kalinichev, M., Morrell, J., & Rosenblatt, J. (2002). MPOA cytotoxic lesions and maternal behavior in the rat: effects of midpubertal lesions on maternal behavior and the role of ovarian hormones in maturation of MPOA control of maternal behavior. *Horm Behav*, 41(2), 126-138.
- Olazábal, D., Pereira, M., Agrati, D., Ferreira, A., Fleming, A., González-Mariscal, G., et al. (2013a). New theoretical and experimental approaches on maternal motivation in mammals. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 37(8), 1860-1874.
- Olazábal, D., Pereira, M., Agrati, D., Ferreira, A., Fleming, A., González-Mariscal, G., et al. (2013b). Flexibility and adaptation of the neural substrate that supports maternal behavior in mammals. *Neurosci Biobehav Rev*, 37, 1875-1892.
- Panksepp, J. (2003). Neuroscience. Feeling the pain of social loss. *Science*, 302(5643), 237-239.
- Panksepp, J. (2011). The basic emotional circuits of mammalian brains: do animals have affective lives? *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 35(9), 1791-1804.
- Panksepp, J., Knutson, B., & Burgdorf, J. (2002). The role of brain emotional systems in addictions: a neuro-evolutionary perspective and new 'self-report' animal model. *Addiction*, 97(4), 549-469.
- Paredes, R. (2009). Evaluating the neurobiology of sexual reward. *ILAR journal*.
- Paredes, R., & Agmo, A. (2004). Has dopamine a physiological role in the control of sexual behavior? A critical review of the evidence. *Progress in neurobiology*, 73(3), 179-226.
- Paredes, R., & Vazquez, B. (1999). What do female rats like about sex? Paced mating. *Behav Brain Res*, 105(1), 117-127.
- Pereira, M. (2006). Participación de la motivación maternal en el comportamiento de la rata durante la lactancia. *Tesis doctoral-PEDECIBA*.

- Pereira, M., Farrar, A., Hockemeyer, J., Müller, C., Salamone, J., & Morrell, J. (2011). Effect of the adenosine A2A receptor antagonist MSX-3 on motivational disruptions of maternal behavior induced by dopamine antagonism in the early postpartum rat. *Psychopharmacology*, 213(1), 69-79.
- Pereira, M., & Ferreira, A. (2006). Demanding pups improve maternal behavioral impairments in sensitized and haloperidol-treated lactating female rats. *Behavioural brain research*, 175(1), 139-148.
- Pereira, M., & Morrell, J. (2010). The medial preoptic area is necessary for motivated choice of pup- over cocaine-associated environments by early postpartum rats. *Neuroscience*, 167(2), 216-231.
- Pereira, M., Uriarte, N., Agrati, D., Zuluaga, M., & Ferreira, A. (2005). Motivational aspects of maternal anxiety in lactating rats. *Psychopharmacology*, 180(2), 241-248.
- Pfaff, D., Kow, L., Loose, M., & Flanagan-Cato, L. (2008). Reverse engineering the lordosis behavior circuit. *Hormones and behavior*, 54(3), 347-354.
- Pfaus, J., Damsma, G., Wenkstern, D., & Fibiger, H. (1995). Sexual activity increases dopamine transmission in the nucleus accumbens and striatum of female rats. *Brain research*, 693(1-2), 21-30.
- Pfaus, J., Kleopoulos, S., Moobs, C., Gibbs, R., & Pfaff, D. (1993). Sexual stimulation activates c-fos within estrogen-concentrating regions of the female rat forebrain. *Brain Res*, 624(1-2), 253-267.
- Pfaus, J., Marcangione, C., Smith, W., Manitt, C., & Abillamaa, H. (1996). Differential induction of Fos in the female rat brain following different amounts of vaginocervical stimulation: modulation by steroid hormones. *Brain research*, 741(1-2), 314-330.
- Pfaus, J., Smith, W., & Coopersmith, C. (1999). Appetitive and consummatory sexual behaviors of female rats in bilevel chambers. I. A correlational and factor analysis and the effects of ovarian hormones. *Hormones and behavior*, 35(3), 224-240.
- Phillips, A., Vacca, G., & Ahn, S. (2008). A top-down perspective on dopamine, motivation and memory. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 90(2), 236-249.
- Powers, J., & Valenstein, E. (1972). Individual differences in sexual responsiveness to estrogen and progesterone in ovariectomized rats. *Physiol Behav*, 8(4), 673-676.
- Robbins, T., & Everitt, B. (1996). Neurobehavioural mechanisms of reward and motivation. *Current opinion in neurobiology*, 6(2), 228-236.
- Rosenblatt, J. (1969). The development of maternal responsiveness in the rat. *The American Journal of Orthopsychiatry*, 39(1), 36-56.
- Rosenblatt, J. (1975). Prepartum and postpartum regulation of maternal behaviour in the rat. *Ciba Found Symp.*, 33, 17-37.
- Sakuma, Y., & Pfaff, D. (1979a). Mesencephalic mechanisms for integration of female reproductive behavior in the rat. *Am J Physiol*, 237(5), 285-290.
- Sakuma, Y., & Pfaff, D. (1979b). Facilitation of female reproductive behavior from mesencephalic central gray in the rat. *Am J Physiol*, 237(5), 278-284.
- Salamone, J. (1988). Dopaminergic involvement in motivational aspects of motivation: Effects of haloperidol on schedule-induced activity, feeding, and foraging in rats. *Psychobiology* 16(3), 196-2006.
- Salamone, J. (1992). Complex motor and sensorimotor functions of striatal and accumbens dopamine: involvement in instrumental behavior processes. *Psychopharmacology*, 107(2-3), 160-174.
- Salamone, J., & Correa, M. (2002). Motivational views of reinforcement: implications for understanding the behavioral functions of nucleus accumbens dopamine. *Behavioural brain research*.

- Salamone, J., & Correa, M. (2012). The mysterious motivational functions of mesolimbic dopamine. *Neuron*, 76(3), 470-485.
- Salamone, J., Correa, M., Farrar, A., & Mingote, S. (2007). Effort-related functions of nucleus accumbens dopamine and associated forebrain circuits. *Psychopharmacology*, 191(3), 461-482.
- Salamone, J., Correa, M., Nunes, E., Randall, P., & Pardo, M. (2012). The behavioral pharmacology of effort-related choice behavior: dopamine, adenosine and beyond. *Journal of the experimental analysis of behavior*, 97(1), 125-146.
- Salamone, J., Cousins, M., & Bucher, S. (1994). Anhedonia or anergia? Effects of haloperidol and nucleus accumbens dopamine depletion on instrumental response selection in a T-maze cost/benefit procedure. *Behavioural Brain Research*.
- Salamone, J., Cousins, M., Maio, C., Champion, M., Turski, T., & Kovach, J. (1996). Different behavioral effects of haloperidol, clozapine and thioridazine in a concurrent lever pressing and feeding procedure. *Psychopharmacology*, 125(2), 105-112.
- Salamone, J., Wisniecki, A., Carlson, B., & Correa, M. (2001). Nucleus accumbens dopamine depletions make animals highly sensitive to high fixed ratio requirements but do not impair primary food reinforcement. *Neuroscience*, 105(4), 863-870.
- Schotte, A., Janssen, P., Bonaventure, P., & Leysen, J. (1996). Endogenous dopamine limits the binding of antipsychotic drugs to D3 receptors in the rat brain: a quantitative autoradiographic study. *Histochemical Journal*, 28, 791-799.
- Schweimer, J., & Hauber, W. (2006). Dopamine D1 receptors in the anterior cingulate cortex regulate effort-based decision making. *Learning & Memory*, 13.
- Schweimer, J., Saft, S., & Hauber, W. (2005). Involvement of catecholamine neurotransmission in the rat anterior cingulate in effort-related decision making. *Behav Neurosci*, 119(6), 1687-1692.
- Sesack, S., & Pickel, V. (1992). Prefrontal cortical efferents in the rat synapse on unlabeled neuronal targets of catecholamine terminals in the nucleus accumbens septi and on dopamine neurons in the ventral tegmental area. *J Comp Neurol*, 320(2), 145-160.
- Siegel, S., & Castellan, N. (1988). Nonparametric statistics for the behavioral sciences. . New York: McGraw-Hill.
- , 2 ed.
- Simerly, R., & Swanson, L. (1988). Projections of the medial preoptic nucleus: a Phaseolus vulgaris leucoagglutinin anterograde tract-tracing study in the rat. *J Comp Neurol*, 270(2), 209-242.
- Smotherman, W. (2004). Mother-infant interaction and the modulation of pituitary-adrenal activity in rat pups after early stimulation. *Developmental Psychobiology*, 16(3), 169-176.
- Sokolowski, J., Conlan, A., & Salamone, J. (1998). A microdialysis study of nucleus accumbens core and shell dopamine during operant responding in the rat. *Neuroscience*, 86(3), 1001-1009.
- Spiteri, T., Musatov, S., Ogawa, S., Ribeiro, A., Pfaff, D., & Agmo, A. (2010). Estrogen-induced sexual incentive motivation, proceptivity and receptivity depend on a functional estrogen receptor alpha in the ventromedial nucleus of the hypothalamus but not in the amygdala. *Neuroendocrinology*, 91(2), 142-154.
- Stern, J. (1996). Somatosensation and Maternal Care in Norway Rats. *Advances in the study of behavior*, 25, 243-294.
- Stern, J., & Keer, S. (1999). Maternal motivation of lactating rats is disrupted by low dosages of haloperidol. *Behavioural brain research*.

- Stern, J., & Kolunje, J. (1991). Trigeminal lesions and maternal behavior in Norway rats: I. Effects of cutaneous rostral snout denervation on maintenance of nurturance and maternal aggression. *Behavioral neuroscience*.
- Stolzenberg, D., & Numan, M. (2011). Hypothalamic interaction with the mesolimbic DA system in the control of the maternal and sexual behaviors in rats. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 35, 826-847.
- Takeo, T., Chiba, Y., & Sakuma, Y. (1993). Suppression of the lordosis reflex of female rats by efferents of the medial preoptic area. *Physiology & behavior*, 53(5), 831-838.
- Terkel, J., Bridges, R., & Sawyer, C. (1979). Effects of transecting lateral neural connections of the medial preoptic area on maternal behavior in the rat: nest building, pup retrieval and prolactin secretion. *Brain Res*, 169(2), 369-380.
- Uriarte, N., Breigeiron, M., Benetti, F., Rosa, X., & Lucion, A. (2007). Effects of maternal care on the development, emotionality, and reproductive functions in male and female rats. *Developmental psychobiology*, 49(5), 451-462.
- Veney, S., & Rissman, E. (1997). Axon sparing lesions of the medial preoptic area block female sexual behavior. *Brain research*.
- Wilsoncroft, W. (1969). Babies by bar-press: Maternal behavior in the rat. *Behav Res Meth & Intru*, 1(6), 229-230.
- Winter, S., Dieckmann, M., & Schwabe, K. (2009). Dopamine in the prefrontal cortex regulates rats behavioral flexibility to changing reward value. *Behavioural brain research*, 198(1), 206-213.
- Wise, R. (2004). Dopamine, learning and motivation. *Nature reviews. Neuroscience*, 5(6), 483-494.
- Zhang, W., & Bymaster, F. (1999). The in vivo effects of olanzapine and other antipsychotic agents on receptor occupancy and antagonism of dopamine D1, D2, D3, 5HT2A and muscarinic receptors. *Psychopharmacology*, 141, 267-278.