



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

REDES CEREBRALES EN ESTADO DE REPOSO DE TOPILLO
DE LA PRADERA (MICROTUS OCHROGASTER)

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA:

JUAN JOSE ORTIZ RETANA

DIRECTOR DE TESIS
DR. SARAEL ALCAUTER SOLÓRZANO
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

COMITÉ TUTOR
DRA. JOSEFINA RICARDO GARCELL
INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA

DR. JORGE MÁRQUEZ FLORES
CCADET, UNAM

JURIQUILLA, QUERÉTARO, MAYO 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A mi madre **Felisa Retana Valencia**, quien siempre ha sido una fuente de inspiración

A mis hijos **Arturo** y **Gustavo Ortiz Carrillo**, quienes representan los pilares de mi continuo aprender.

A **Nydia Hernández**, quien día a día ha motivado e insistido en la realización de este trabajo.

A mis hermanos **Ana, Josefina, Luz María, Esther, Guadalupe, Aaron** y **Jorge**, a quienes he robado tiempo de convivencia por este trabajo.

“La humildad de la juventud, ante la experiencia de la vida madura, se debe traducir en un gran aprovechamiento del conocimiento”.

AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad Nacional Autónoma de México**

Al Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas.

Al Instituto de Neurobiología.

Al **CONACyT** por el apoyo con el programa PN-247428

Al **la UNAM** por el apoyo con el programa PAPIIT-DGAPA IA204217, IN212219.

Al Laboratorio Nacional de Imagenología por Resonancia Magnética (LANIREM), Luis Concha Loyola.

A la Unidad de Enseñanza del Instituto de Neurobiología: Leonor Casanova Rico, Nuri Aranda López, Carmen Mendoza López.

Al personal de la Biblioteca del Campus Juriquilla: Francisco Javier Valles Valenzuela, Teresa Soledad Medina Malagón, Teresita de Jesús Pérez Cruz.

Al Departamento de computo del Instituto de Neurobiología, Alberto Lara Ruvalcaba, Omar González Hernández y Ramon Martínez Olvera.

A Wendy Portillo, por proporcionar los topillos de la pradera y su enseñanza de la vida de estos roedores. A Fernanda López por su gran apoyo durante el proceso de obtención de imágenes.

Al Bioterio por el almacenamiento de las muestras, Martin García Servín y Alejandra Castilla León.

A Ma de Lourdes Lara Ayala, por su apoyo en la Unidad de Videoconferencias. A Deisy Gasca Martines por su apoyo en la Unidad de análisis conductual. A Nydia Hernández Ríos por las revisiones y sugerencias del texto.

Al Fernando A. Barrios Álvarez y Leopoldo González Santos por la administración de datos de imágenes de resonancia magnética.

Al la Unidad Gamma Knife del Hospital Médica Sur, Ramiro del Valle, Salvador de Anda, Josué Estrada, Greta Valadez y Miguel Pérez.

A los miembros de mi comité tutor: Dra. Josefina Ricardo Garcell y Dr. Jorge Márquez Flores.

A los miembros del Jurado: Dr. Juan Fernández, Dra. Verónica Rodríguez, Dr. Luis Concha y Dr. Aurelio Campos.

A mi Tutor, Dr. Sarael Alcauter Solórzano

Índice

- i Agradecimientos
- ii Resumen
- iii Abstract
- iv Introducción

Capítulo 1 Topillo de la pradera (*Microtus ochrogaster*)

- 1.1 Vínculos sociales
- 1.2 Clases de topillos de la pradera
- 1.3 Oxitocina, dopamina y arginina vasopresina
- 1.4 Núcleos neuronales y circuitos OT-DA-AVP

Capítulo 2 Neuroimagen funcional

- 2.1 Técnicas de neuroimagen funcional
- 2.2 Metabolismo cerebral y flujo sanguíneo
- 2.3 Tiempos de relajación T2 y T2*
- 2.4 Relación oxihemoglobina, desoxihemoglobina y T2, T2*
- 2.5 Paradigmas en imagen dependiente de los niveles de oxigenación sanguínea
- 2.6 Imagen por resonancia magnética funcional en estado de reposo
- 2.7 IRMfer y redes neuronales en reposo
- 2.8 Imagen por resonancia magnética en pequeñas especies

Capítulo 3 Metodología

- 3.1 Topillos de pradera
- 3.2 Muestra
- 3.3 Preparación de la muestra
- 3.4 Adquisición de la muestra
- 3.5 Preprocesamiento de datos
- 3.6 Análisis de componentes independientes

Capítulo 4 Resultados

- 4.1 Plantilla de cerebro de topillo de la pradera
- 4.2 ICA en topillos de la pradera
- 4.3 Análisis gICA de 10 componentes
- 4.4 Análisis gICA de 30 componentes

Capítulo 5 Discusión

5.1 Redes funcionales en estado de reposo en el topillo de la pradera

5.2 Red modo basal

5.3 Posibles aplicaciones

5.4 Limitaciones

5.5 Conclusiones

Resumen

La técnica de imagen funcional en estado de reposo, por resonancia magnética, conocida como IRMfer, por sus siglas en inglés (resting state functional Magnetic Resonance Imaging), permite describir la arquitectura funcional del cerebro, midiendo señales espontáneas de fluctuaciones de baja frecuencia, sin que el sujeto bajo estudio este realizando tarea alguna. Esta técnica promete ser una herramienta traslacional porque se ha aplicado en primates no humanos, roedores y otras especies, mostrando características topológicas similares entre ellas. En este trabajo caracterizamos y mostramos las redes funcionales identificadas con esta técnica, en el topillo de la pradera (*Microtus ochrogaster*). Este modelo es de importancia porque, algunos comportamientos sociales de los topillos de la pradera son parecidos a algunos comportamientos sociales del humano, particularmente la característica de monogamia social. Se obtienen imágenes por resonancia magnética funcional en estado de reposo (IRMfer) en un grupo de topillos, los cuales se sometieron a un nivel de anestesia ligera, utilizando isoflurano. Las imágenes fueron analizadas con el método matemático de componentes independientes. El análisis de estas imágenes proporcionó mapas de redes corticales y subcorticales, incluyendo la red motora y sensitiva, así como de redes de selección/atención y la red modo basal (default mode network).

Estos resultados representan el primer paso para realizar investigación básica traslacional en una especie que tiene algunos tipos de comportamiento social complejo similares a los comportamientos sociales humanos, entre los que destacan: relaciones de pareja de tipo monógamo, cuidado y defensa de la guarida de manera biparental, y cuidado biparental de la descendencia. Estos resultados tienen el potencial de abrir nuevas oportunidades en el estudio de condiciones como

el desarrollo normal o alteraciones en el mismo, adicciones y desórdenes neuropsiquiátricos, utilizando modelos animales con comportamientos sociales especiales, y las bondades de la neuroimagen funcional como técnica no invasiva, ya que las redes aquí descritas parecen coincidir con aquéllas ya estudiadas en humanos.

Abstract

The functional image technique in the rest state, by magnetic resonance, known as rsfMRI (resting state functional Magnetic Resonance Imaging), allows to describe the functional architecture of the brain, measuring spontaneous signals of low frequency fluctuations, without the subject under study doing any work. This technique promises to be a translational tool because it has been applied in non-human primates, rodents and other species, showing similar topological characteristics among them. In This work we characterize and show the functional networks identified with this technique, in the Vole of the Prairie (*Vole ochrogaster*). This model is of importance because, some social behaviors of the prairie voles are like some social behaviors of the human, particularly the characteristic of social monogamy. Images Are obtained by functional magnetic resonance in a resting state (rsfMRI) in a group of voles, which were committed to a low level of anesthesia, using Isoflurane. The images were analyzed with the mathematical method of independent components. The analysis of these images provided maps of cortical and subcortical networks, including the motor and sensory network, as well as salience networks and the network of basal mode (default mode network).

These results represent the first step in conducting basic translational research into a species that has some types of complex social behavior like human social behaviors, among which are: partner relationships of Monogamous type, care and defense of the lair in a biparental manner, and biparental care of the offspring. These results have the potential to open new opportunities in the study of conditions such as normal development or alterations in the same, addictions and neuropsychiatric disorders, using animal models with special social behaviors, and

the benefits of functional neuroimaging as a non-invasive technique, since the networks described here seem to coincide with those already studied in humans.

Introducción

La imagen por resonancia magnética funcional es una técnica fundamentada en dos fenómenos: el primero es el cambio de las propiedades magnéticas de la molécula de hemoglobina debido al cambio en su contenido de oxígeno [Ogawa, Nayak et al (1990)], y el segundo es el incremento en la actividad metabólica neuronal, y en consecuencia aumento local de sangre oxigenada [Ogawa, Kay et al (1990)]. El primer fenómeno implica que se pueden diseñar métodos de adquisición sensibles a las variaciones de señal asociadas a los cambios en la densidad de oxihemoglobina. En términos prácticos, Ogawa demostró que la oxihemoglobina produce mayor señal que la hemoglobina sin oxigenar, utilizando secuencias particulares en la técnica de imágenes por resonancia magnética. El segundo fenómeno, ocurre cuando hay un aumento en la actividad neuronal que desencadena un aumento del flujo sanguíneo, pero la tasa de consumo metabólico de oxígeno no aumenta a la par del flujo, resultando en mayor densidad de oxihemoglobina en los capilares circundantes. La imagen por resonancia magnética funcional utiliza el hecho que un aumento en la densidad de oxihemoglobina se debe a un incremento de la actividad neuronal y el registro es dado por pequeñas variaciones. La técnica se basa en adquirir múltiples imágenes (series temporales), en las que se distribuyen periodos de al menos una condición de interés y periodos de al menos una condición control, para posteriormente identificar las regiones cerebrales que mostraron cambios de señal sincronizados temporalmente con las condiciones exploradas. La técnica de imagen por resonancia magnética funcional (IRMf) es ampliamente utilizada para investigación básica en la neurociencia cognitiva y en el medio clínico para planeación quirúrgica o investigación.

Una variante de la técnica IRMf es la técnica de imagen por resonancia magnética funcional en estado de reposo (IRMfer, o rsfMRI por sus siglas en inglés). La principal característica de esta es detectar pequeñas fluctuaciones en diversas regiones cerebrales del sujeto, sin que realice tarea durante la adquisición. En los últimos años, la técnica IRMfer se ha convertido en una herramienta de neuroimagen que permite el estudio de la organización funcional cerebral, específicamente, en estado de reposo, somnoliento o aún bajo anestesia ligera. Las fluctuaciones de baja frecuencia (es decir $< 0,1$ Hz) de regiones anatómicamente separadas, que se registran durante un estudio IRMf, se manifiestan con alta sincronización temporal. Con estos estudios se han podido clasificar redes sensoriales, motoras y asociativas en el cerebro humano. Esto ha permitido definir las llamadas redes en estado de reposo [Biswal et al (1995), Larson et al (2009), Martuzzi et al (2010), Fox et al (2017), Shulman et al (1997)]. Desde su inicio, a mediados de la década de los noventa del siglo pasado, y debido al amplio uso de esta herramienta, se han logrado explorar las funciones cerebrales normal y alterada, especialmente en condiciones donde la aplicación de estímulo constante y las respuestas a estos son difíciles. Entre los diversos estudios realizado destacan en el desarrollo temprano, envejecimiento, trastornos neurológicos y trastornos psiquiátricos.

En las últimas dos décadas, varias redes en estado de reposo de orden primario y superiores han sido sistemáticamente identificadas en roedores, primates no humanos y humanos [Shulman et al (1997), Fox et al (2007), Hutchison et al (2011), Martini et al (2011), Jockers et al (2011), Lu et al (2012), Sforazzini et al (2014), Barks et al (2015), Gozzi et al (2016)]. Entre estas redes, la que se clasifica como de modo basal (default mode network) [Raichle (2015)], compuesta principalmente, por la corteza prefrontal medial, el hipocampo y la corteza del

cíngulo posterior ha sido ampliamente estudiada en modelos animales, debido a que la alteración de la conectividad en esta red se ha asociado a una variedad de trastornos neuropsiquiátricos en humanos [Sheline et al (2009), Whitfield et al (2009)]. La técnica de fMRI ha mostrado alteraciones en la red modo basal, en una serie de modelos animales para la depresión [Sheline et al (2009)], Alzheimer [Sorg et al (2007)] y autismo [Washington et al (2014)], entre otros, permitiendo esclarecer los mecanismos subyacentes de los fenotipos humanos correspondientes. Por lo que esta técnica es una herramienta útil para la investigación traslacional, ya que permite realizar estudios en modelos animales de manera no invasiva. Estudios de interés particular son los relacionados con la neurobiología de la cognición social humana, tema que ha sido difícil de estudiar en animales típicos de laboratorio, por no presentar conductas sociales semejantes a las del humano.

En este trabajo se obtienen imágenes por resonancia magnética funcional en estado de reposo del topillo de la pradera (*Microtus ochrogaster*) como un modelo de comportamiento social similar al humano, debido a que este mamífero es una especie que presenta varios aspectos de comportamiento social parecidos al humano, entre los que destacan: establecer relaciones sociales monógamas de largo plazo, realizar de manera biparental el cuidado del madriguera, en su habitat natural, y proporcionar cuidado biparental, además, de ser una especie de fácil cuidado y adaptación en laboratorios de investigación, esto permite mantener estos mamíferos en cautiverio para su estudio [Stalling et al (1990), Carter et al (1995), Dewsbury (1998), Numan et al (2003), Lisa et al (2010)].

Capítulo 1 Topillo de Pradera

1.1 Vínculos sociales

Se ha mostrado que los vínculos sociales duraderos representan un papel esencial en la vida social humana y de algunas otras especies de mamíferos. Las relaciones sociales entre sujetos, que se van deteriorando con la interacción social, pueden afectar a los miembros del grupo de manera positiva o negativa, en comportamientos de tipo psicológico, fisiológico y conductual. Las relaciones sociales positivas y duraderas, por ejemplo, entre cónyuges (vida de pareja) o padres e hijos, y compañeros sociales, son esenciales para la salud humana, esta situación ayuda a reducir el estrés, depresión, ansiedad y de alguna modo, reducen el uso de drogas prohibidas, además, algunos problemas de salud como patologías cardiovasculares, asma y enfermedades infecciosas pueden reducirse, con relaciones sociales positivas de pareja y entre padres e hijos [Smith et al (2011), Lieberwirth et al (2014)]. La incapacidad para formar y mantener vínculos sociales positivos entre la pareja y con los hijos pueden generar tendencias a varios desordenes de tipo psicológico [Bartz et al (2006)]. Esto ha motivado a realizar estudios neurobiológicos en mamíferos humanos y no humanos, enfocados a las estructuras cerebrales, la conectividad entre ellas, y los tipos de neurotransmisores involucrados en este tipo de comportamientos. Entre estos estudios destacan los que han mostrado que las estructuras cerebrales, relacionados con vínculos sociales positivos, corresponden básicamente al área de la recompensa, motivación y emoción [Swain et al (2007), Ortigue et al (2010), Acevedo et al (2011), Song et al (2015)]. Hallazgos similares se han observado en otras especies de mamíferos que practican una vida social de tipo monógamo, trabajos que resaltan la importancia de los vínculos sociales positivos [Young et al (2001), Numan et al (2003), Bales

et al (2007)]. En consecuencia, se buscan modelos animales, con comportamientos sociales parecidos al humano, para investigar los mecanismos de funcionamiento de este tipo de comportamientos e interpolar los resultados al humano. Una desventaja es que el porcentaje de mamíferos con este tipo de características es muy bajo (3%-5%) [Stalling (1990), Dewsbury (1998), Neuman et al (2003)], además, la mayoría de los modelos animales utilizan el ratón (*Mus musculus*) y rata (*Rattus norvegicus*), debido a la facilidad de mantener grandes poblaciones, con pocos recursos, en laboratorios, la abundancia de fármacos, moléculas y recursos genómicos para estas especies, y el posicionamiento filogenético de estas especies respecto a los seres humanos. Sin embargo, a pesar de que las especies utilizadas para investigación tiene ciertos tipos de comportamiento social, ninguno abarca la riqueza de comportamiento social similar al del humano, como lo es el caso particular de una clase del topillo de la pradera, quien tiene apegos sociales duraderos, cuidado biparental de la descendencia y resguardo de la guarida [Aragona et al (2004), Lisa et al (2010)]. El topillo de pradera, la clase que presenta comportamiento socialmente monógamo, ha surgido como una excelente modelo para examinar la neurobiología del comportamiento social complejo, incluyendo el vínculo social. Esta especie de mamíferos varía considerablemente de los modelos tradicionales de laboratorio (ratas y ratones), ya que es una especie excepcionalmente social y a menudo forman relaciones a largo plazo de tipo monógamo con sus compañeros. En una pareja, ambos padres contribuyen, casi por igual, a la alimentación y cuidado de la descendencia, en su hábitat natural y en cautiverio en laboratorio [Young et al (2011), Sun et al (2014), Lieberwirth et al (2016)].

1.2 Clases de topillos de pradera

El topillo de la pradera es un pequeño roedor, con pelaje color marrón, del tamaño del hámster, los adultos llegan a medir entre 125 y 172 mm y su cola mide entre 24 y 41 mm, la longitud de las patas traseras oscila entre 17 y 22 mm y el peso va de 30 a 60 gr. Se localizan en las praderas centrales de Estados Unidos de América y el sur de Canadá [Stalling (1988), Kurta (1995)]. Los topillos de la pradera se han clasificado en 7 clases, aunque una ya extinta, según su localización geográfica, Figura 1.

1. *Microtus ochrogaster haydenii*
2. *Microtus ochrogaster ludovicianus* (extinto)
3. *Microtus ochrogaster minor*
4. *Microtus ochrogaster ochrogaster*
5. *Microtus ochrogaster ohionensis*
6. *Microtus ochrogaster similis*
7. *Microtus ochrogaster taylorii*

Los topillos de pradera son herbívoros, se alimenta de pasto, alfalfa, musgo, corteza, y raíces en invierno, también consumen insectos y algunas frutas en verano, sin embargo, su principal dieta, casi durante todo el año, la constituyen las semillas. La diversidad en su dieta ha permitido que se adapten a estos hábitats, a pesar del escaso suministro de agua y el valor calórico bajo de los alimentos [Kurta (1995)].



Figura 1. Distribución de las clases de *Microtus Ochrogaster*

Los periodos de gestación de los topillos de pradera se presentan casi todo el año, sin embargo, este proceso se reduce en inviernos crudos y se incrementa entre mayo-octubre. El periodo de gestación, en promedio, es de 21 días, con una producción de 3 a 4 crías, con peso aproximado de 3 gramos. Las nuevas crías nacen con ojos y oídos cerrados, su pelaje empieza a aparecer al segundo día de nacidos, al quinto día de nacidos se arrastran por la madriguera y comienzan a consumir alimento solido por el día 12 de nacidos, destetándose entre la semana 2 y 3 de nacidos, el crecimiento completo de esta especie se presenta a los dos meses, aproximadamente. Las hembras maduran entre los 35 y 40 días de nacidas y los machos entre los 35 y 45 días. Esta especie tiene una vida media de un año, pero pueden llegar a vivir hasta dos años [Stalling (1990), Carter et al (1995)]. Los depredadores del topillo de la pradera son: el coyote, el zorro rojo, el gato de la casa, la zarigüeya, la comadreja, la musaraña de cola corta, el halcón de Cooper, el halcón de cola roja, el búho barrado, el búho chillón, el lanius y varias serpientes [Carter et al (1995)]. Algunas subespecies de este mamífero tienen comportamiento social de tipo monógamo, característica poco común en mamíferos. El concepto de monogamia se debe entender como el hecho de que una hembra y un macho,

adultos, se mantienen juntos por largos periodos de tiempo, característica que no necesariamente significa sexo exclusivo entre esta pareja [Sun et al (2014)]. La clase de topillos de la pradera de comportamiento monógamo tiene tres patrones de comportamiento social que los diferencian de otros roedores, entre las que destacan, preferencia por una pareja (unión de pareja única), rechazo o agresión contra extraños pertenecientes a la misma especie (defensa de la guarida) y cuidado biparental de la descendencia, ambos padres cuidan de las crías. Se ha sugerido que la monogamia, en esta especie, se presenta debido a las condiciones de recursos limitados y por la necesidad de que ambos progenitores protejan a la descendencia [Tamarin (1985), Getz et al (1990), Carter et al (1995)]. Estos patrones de comportamiento social se derivan del hecho que, observaciones en su hábitat muestran que la misma hembra y el mismo macho se encontraron en repetidas ocasiones en la misma madriguera [Getz et al (1990), Lisa et al (2010)]. Estudios subsecuentes en laboratorio, mostraron que los topillos de la pradera forman un vínculo preferencial de pareja después de 24 horas del apareamiento [Winslow et al (1993), Insel et al (1995)], también se ha observado que cuando una hembra pierde a su compañero, no se une a un nuevo macho [Pizzuto et al (2008)]. Además de las parejas macho-hembra, las poblaciones de topillos de pradera a menudo consisten en hembras solas (posibles sobrevivientes sin parejas macho) y grupos comunales, donde la tendencia de los miembros del grupo es regresar y/o mantenerse cerca de la descendencia. Debido a que solo entre 3%-5% de los mamíferos tiene este tipo de comportamiento, se ha implementado la crianza de topillos de la pradera en laboratorios para clasificar las estructuras cerebrales y las sustancias (neuro-péptidos, neuroquímicos y hormonas) involucradas en este tipo de comportamiento [Carter et al (1997), Numan et al (2003), Bartz et al (2006), Bosch et al (2009)]. Los topillos de pradera son de fácil crianza en cautiverio y laboratorio, además, conservan características de comportamiento monógamo en

laboratorio, similar a las de su hábitat, tales como: apareamiento preferencial con un compañero, mantienen a la misma pareja en la gestación, y realizan cuidados biparentales durante la lactancia [Stalling (1990), Carter et al (1995), Kurta (1995)]. Por otra parte, las condiciones de alimentación y cuidados en estos roedores son similares a las utilizadas en los roedores comunes de laboratorio. Esta especie, también, es susceptible a manipulaciones farmacológicas y genéticas, así como a la aplicación de paradigmas clásicos del comportamiento utilizados en ratones y ratas. Todas estas características hacen de esta especie un modelo ideal para estudiar la neurobiología de los comportamientos de los vínculos sociales positivos o negativos, asociados con la estrategia de vida monógama y el cuidado de la descendencia [Lieberwirth et al (2016)].

Se menciona que las interacciones sociales saludables entre miembros de una especie son fundamentales para reducir ciertos trastornos de salud mental, entre los que destacan depresión, adicción, esquizofrenia y trastornos del espectro autista (AD), así que, identificar los mecanismos neurobiológicos y genéticos que provocan estas patologías resulta esencial para tratar de entenderlos y diseñar intervenciones farmacológicas. Los topillos de la pradera resulta ser un modelo animal adecuado para investigar este tipo de trastornos, y en particular los de la clase 4 cuyo comportamiento social de pareja es monógamo. Según la Figura 1, esta clase se localizan principalmente en la zona geográfica de Illinois, Estados Unidos de América. En estudios recientes se ha mostrado que la disrupción del vínculo de pareja, en este mamífero, induce respuestas de estrés conductual y fisiológico, en tanto que el mantener el vínculo social con la pareja, reduce posibles afecciones de este tipo, por lo que resulta importante estudiar los mecanismos que producen estos efectos [Bosch et al (2009), Young et al (2011), Sun et al (2014)]. Se han clasificado varios neuropéptidos, neuroquímicos, y algunas hormonas

implicados en el comportamiento que lleva a la unión de pareja de los topillos de pradera [Wislow et al (1993), Insel et al (1995), Carter et al (1997)]. Mencionaremos los tres principales, dopamina (DA), Oxitocina (OT) y arginina vasopresina (AVP), y las estructuras del SNC involucradas en la liberación y/o captura de estos componentes, debido a que estos regulan el comportamiento y adaptación social, así como la disfunción de unión de pareja de los topillos de la pradera [Aragona et al (2004), Lieberwirth et al (2016)].

1.3 Oxitocina, dopamina y arginina vasopresina

El sistema nervioso está compuesto estructuralmente, por dos tipos de células, la neurona y la glía, además, cuenta con un gran número de moléculas y neurotransmisores, que tiene como función generar protección, crear estructuras del mismo sistema nervioso central (SNC) y establecer comunicación entre las diferentes regiones de este. Entre los diversos compuestos, el neurotransmisor DA y los neuropéptidos OT y AVP, han sido ampliamente estudiados debido a que sus niveles en el SNC están estrechamente relacionados con un amplio espectro de funciones y comportamientos, entre los que destacan: cognición, emoción, percepción, sueño, acciones periféricas en los sistemas cardiovascular y renal, motivación y recompensa, además del comportamiento del tipo socio-sexual [Richter (1988), Ophir et al (2008), Baskerville et al (2010)].

La DA es un importante neurotransmisor que ejerce efectos generalizados sobre la función del SNC. Este neurotransmisor está básicamente involucrado en el control de movimientos y comportamientos relacionados con la búsqueda del placer y de tipo motivacional. La dopamina también modula la transferencia de información asociada con la memoria, la atención y las acciones de resolución de problemas, también puede inhibir la producción de prolactina, hormona responsable de la

lactancia. El deterioro de estructuras neuronales que liberan DA pueden tener efectos muy notables sobre el estado de ánimo y del comportamiento. Ahora se sabe que este proceso está implicado en varios trastornos del comportamiento neuropsiquiátrico incluyendo la enfermedad de Parkinson, fobia social, hiperactividad del déficit de atención (TDAH), depresión mayor y autismo. La actividad excesiva de las proyecciones dopaminérgicas en estas regiones cerebrales se asocia con la esquizofrenia [Baskerville et al (2010), Cost et al (2017), Salamone et al (2012)].

La OT, considerada la hormona prosocial, debido a que algunas investigaciones sugieren que este neuropéptido es responsable del comportamiento social de tipo positivo, entre los que destacan el cuidado materno, unión de pareja, altruismo y confianza, Sin embargo, también se ha mostrado que es responsable de comportamientos sociales de tipo negativos como la agresión, defensa territorial. Comportamientos que se presentan en función del contexto social [Baskerville et al (2010), Love (2014)]. Manipulaciones experimentales de la OT y sus receptores cerebrales han mostrado la importancia que tiene esta con relación al comportamiento social monógamo y no monógamo en los topillos de la pradera [Insel et al (1992)], así como en comportamiento social afín, el cual es medido por cambios en reconocimiento y memoria social [Ferguson et al (2000), Ferguson et al (2001)]. Estudios en mamíferos no humanos han mostrado el papel que desempeña la OT en el cuidado materno, por ejemplo, el deficiente cuidado materno en ratones, debido a lesiones en regiones productoras de OT o a un antagonico de OT [Insel et al (2000), Takayanagi et al (2005)]. También se ha mostrado que altos niveles de OT y el funcionamiento de los receptores de esa se relaciona con mejores cuidados maternos [Champagne et al (2001), Francis et al (2002)]. Esto ha permitido mostrar que la trayectoria del sistema meso-cortico-límbico es importante en los procesos

motivacionales relacionados con estímulos, y se sabe que la DA y la OT actúan en esta trayectoria, neuroquímicos que actúan como motivacionales sociales e influyen en el comportamiento social filial [Love (2014)].

La AVP está involucrada en la regulación hidroelectrolítica y la tensión arterial, regulando la absorción de agua en los túbulos renales y produciendo vasoconstricción, también es relevante en la respuesta al estrés endócrino actuando en la parte posterior de la glándula pituitaria [Oh (2008), Rotondo et al (2016)]. El desarrollo de receptores afines y no afines a la AVP ha permitido esclarecer su función fisiológica y de comportamiento. Estudios anatómicos y farmacológicos, en animales, han mostrado que la AVP regula varios comportamientos sociales en diversas especies, siendo importante para la agresión, promoviendo y regulando esta acción, también se ha mostrado su papel en los procesos de unión de pareja en ciertas mamíferos, otra función de importancia es la regulación del reconocimiento social, proceso que tiene que ver con la memoria, y es de suma importancia en lo que se refiere al comportamiento social afín [Coldwell et al (2008)]. Otras áreas, donde la AVP juega un papel importante, son las relacionadas con el estrés, respuesta inmune, ansiedad y estados de depresión [Coldwell et al (2008), Harony et al (2010)]. La clasificación actual de la AVP es que se trata de una hormona multifuncional, sin embargo, a pesar de que se han mostrado algunas funciones de esta hormona en el SNC, muchas otras funciones no se entienden bien, hasta ahora, por lo que se requieren muchas más investigaciones sobre esta, para identificar todas sus funciones [Rotondo et al (2016)].

1.4 Núcleos neuronales y circuitos OT-DA-AVP

Las decisiones tomadas ante una situación o el comportamiento ante la misma, de un organismo, se derivan de motivaciones recibidas. Con base en los factores

casuales que controlan el comportamiento, Schopenhauer describe a la motivación como la manera en que el organismo está en posición de elegir, clasificar y buscar medios para lograr la satisfacción, es decir los organismos deciden el camino de mayor satisfacción como función de los factores motivacionales [Schopenhauer (1999), Salamone et al (2012)]. Como mencionamos, la OT, DA y la AVP son elementos que regulan muchas actividades del comportamiento en mamíferos, además, hay diversas estructuras neuronales que liberan o reciben a esos componentes. Entonces, una respuesta resulta de la actividad colectiva de una red de regiones interconectadas que actúan para señalar la importancia de los estímulos, y asignar un valor motivacional, para dirigir la acción más apropiada [Love (2014), Rotondo et al (2016), Cost et al (2017)].

En ciertos mamíferos se presenta el comportamiento social de unión de pareja duradera y cuidado biparental de la descendencia, que se debe a un proceso de motivación que se gesta en diversos núcleos del SNC y está regido por la interacción de la OT, DA y la AVP en estos núcleos [Young et al (2004), Young et al (2011)]. La comprensión de los núcleos neuronales del SNC involucrados en estos procesos se ha logrado con estudios neuro-anatómicos comparativos y farmacológicos realizados en dos clases de topillos de la pradera, una que ejerce un comportamiento de tipo monógama y otra clase con comportamiento de tipo no monógama [Insel et al (1994), Carter (2008), Ross et al (2009)]. Particularmente, se ha clasificado que la AVP, y su receptora, actúan en circuitos cerebrales específicos para facilitar el apego social de una manera específica [Winslow et al (1993)]. Las investigaciones realizadas en las especies los topillos de la pradera monógama y no monógama mostraron mínimas diferencias respecto del distribución de la AVP y OT en el cerebro [Wang et al (1996), Carter et al (2008)], en cambio, si mostraron una gran diferencia entre la ubicación y densidad de los

receptores respectivos [Aragon et al (2004), Insel et al (1992)]. Los circuitos neuronales involucrados, en la unión de pareja única, ya han sido revisados [Lieberwirth et al (2016), Benjamin (2012)].

Los principales núcleos neuronales del SNC que presentan actividad en los circuitos de distribución y receptores de OT, DA y AVP son: la corteza prefrontal (PFC), el núcleo accumbens (NAcc), Septum lateral (LS), base de la estría terminal (BST), área preóptica medial (MPA), amígdala (Amyg), la pituitaria (Pit) y área tegmental ventral (VTA) [Young et al(2004), Baskerville (2010)], Figura 2.

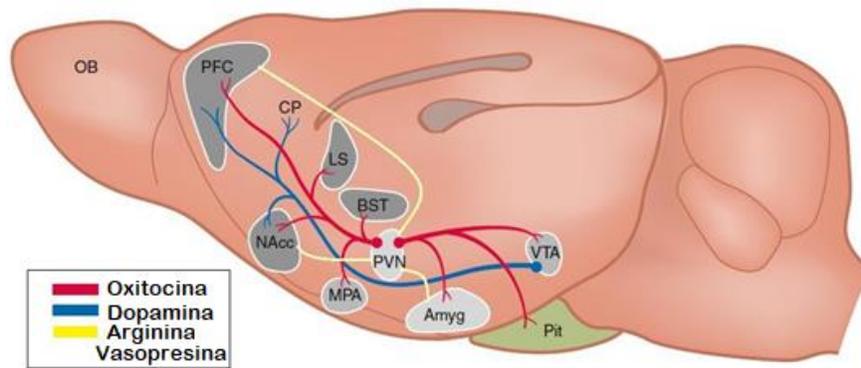


Figura 2. Núcleos neuronales del SNC y circuitos de OT-DA-AVP, implicados en unión de pareja, ruptura del vínculo y memoria de comportamiento social en topillos de la pradera. Modifica de Young (2009).

Por otra parte, el procesamiento de recompensas depende del sistema mesocorticolimbicos dopaminérgico que consiste en neuronas de dopamina en VTA y sus proyecciones al NAcc, corteza prefrontal, Hipocampo y Palladium central y otras áreas cerebrales [Wisa (2002), Kalivas et al (2005)]. El apareamiento de los topillos de la pradera activa el VTA y sus proyecciones neuroanatómicas, por lo que aumenta la actividad de la dopamina en la corteza prefrontal (PFC) y el

NAcc, que corresponden a los circuitos de la motivación [Heimer et al (1991), Klitenik et al (1992)].

En la fase de apareamiento de los topillos de la pradera, las señales olfatorias de la pareja son recibidas por el bulbo olfatorio (OB) y son transmitidas al núcleo medial de la amígdala (MeA), la oxitocina actúa en el MeA, y la AVP actúa en el septum lateral (LS) para facilitar el aprendizaje olfatorio y la memoria de lo percibido. El apareamiento también estimula el incremento de concentración de la oxitocina extracelular en el PFC y del Nacc de la hembra y la vasopresina en el Palladium ventral (VP) del macho, se cree que las proyecciones glutaminérgicas del PFC a NAcc son importantes en proceso de unión de pareja y la activación del sistema OT-DA-AVP en el NAcc propicia la preferencia de pareja. Además, los núcleos neuronales involucrados en el proceso de apareamiento y relacionados con procesos de aprendizaje y memoria de la pareja de apareamiento son: PFC, NAcc, base del núcleo estriado terminal (LS), área preóptica medial (MPA), núcleo paraventricular del hipotálamo (PVN), amígdala (Amyg), área tegmental ventral (VTA) y la pituitaria (Pit). Estas estructuras se activan para reconocimiento y memoria de la pareja de apareamiento, y lo hacen en función de la cantidad de DA, OT y AVP, proceso que genera una serie de respuesta de los topillos de la pradera que presentan un comportamiento social de tipo monógamo, con la primera pareja de apareamiento y de cuidado de la descendencia de tipo biparental [Richter (1998), Russell et al (2003), Ross et al (2009), Nephew (2012)]

Capítulo 2 Neuroimagen Funcional

2.1 Técnicas de neuroimagen funcional

La neuroimagen funcional, y las técnicas relacionadas con neuroimagen, son una herramienta importante para investigar posibles patologías del SNC, principalmente de tipo cognitivos o conductual, estas investigaciones permiten determinar posibles patrones de tratamiento. Las técnicas de neuroimagen son: imagen por resonancia magnética funcional (IRMf), tomografía por emisión de positrones (TEP), electroencefalografía (EEG), magnetoencefalografía (MEG), espectroscopia cercana al infrarrojo (ECI) y estimulación magnética transcraneal (EMT). Otras técnicas, que también se han clasificado funcionales, son: imágenes pesadas a difusión (IPD), imágenes por tensor de difusión (ITD) e imágenes de difusión con alta resolución angular (IDARA), cuya principal utilidad es mostrar integridad de sustancia blanca [Crosson et al (2010)].

En este trabajo se agrupan en tres las técnicas de imagen. El primer grupo incluye, la que mide actividad eléctrica (EEG), magnética (MEG), potenciales de acción inducidos por corrientes iónicas (EMT) y dispersión de frecuencia de luz infrarroja en función de hemoglobina oxigenada (ECI). El segundo grupo es la TEP, que mide directamente el metabolismo como función de la actividad cerebral a nivel basal, en esta técnica un incremento en la actividad neuronal regional incrementa la actividad metabólica, debido al incremento del flujo sanguíneo, que suministra alimento a las células [Crosson et al (2010)]. El tercer grupo corresponde a la IRMf que permite hacer imagen funcional con base a la respuesta de una actividad, este último permite clasificar funcionalidad cerebral cognitiva o de comportamiento de tipo social.

La técnica de IRMf depende de los niveles de oxigenación sanguínea (DNOS, o BOLD, Blood Oxygenation Level Depend, siglas en inglés). El contraste con la técnica DNOS se obtiene, principalmente, por las propiedades paramagnéticas de la hemoglobina desoxigenada (desoxihemoglobina) [Pauling et al (1936)]. Los materiales paramagnéticos tienden a concentrar flujo magnético, lo que provoca variaciones en la susceptibilidad magnética, de tal manera que, utilizando secuencias que permiten registrar estas variaciones, se pueden registrar cambios de la señal de IRM debido a la DNOS. La señal de IRM debido a la DNOS es resultado de la interacción entre la razón del flujo sanguíneo cerebral (rFSC), el volumen sanguíneo cerebral (VSC) y la razón metabólica cerebral de oxígeno (rMCO₂), específicamente en la región activada. La interacción de las diversas variables provoca que el incremento en la rFSC exceda el requerido por actividad cerebral específica; por lo tanto, la concentración relativa de oxihemoglobina por unidad de volumen disminuye, debido a sobrecompensación y perfusión, y resulta en un incremento la señal IRM. [Kim et al (2006)]. Con la técnica IRMf se puede mapear actividad funcional con resolución espacial de milímetros y resolución temporal de segundos, parámetros suficientes para estudiar función cerebral y su aplicación al medio clínico. Debido a su carácter no invasiva, con esta técnica se pueden realizar estudios longitudinales y de manera repetitiva en poblaciones pediátricas.

2.2 Metabolismo cerebral y flujo sanguíneo

El cerebro es un órgano que requiere, de manera continua, de un alto consumo de energía, ya que las membranas neuronales y los astrocitos necesitan mantener gradientes de concentración iónica de manera constante [Siesjo (1978), Kandel et al (1991)]. La necesidad energética del cerebro requiere de un sistema de suministro energético acoplado y que de manera apropiada responda eficientemente a

demandas energéticas extras provocadas por un incremento metabólico [Kuschinsky et al (1981)]. El incremento metabólico cerebral resulta de estímulos sensoriales, y se acompaña de incremento energético, específicamente de cambios en la razón metabólica cerebral de glucosa ($RMCO_{glu}$) y la razón metabólica cerebral de oxígeno ($rMCO_2$). El requerimiento energético extra, responde con variaciones en el proceso de perfusión cerebral, hacia la región activada, es decir, cambios en el flujo sanguíneo cerebral (FSC) y cambios en el volumen sanguíneo cerebral (VSC) [Roy et al (1890)]. Las variaciones de la señal de IRMf fundamentada en la DNOS se deben a los cambios en el metabolismo oxidativo celular y la perfusión sanguínea en los vasos capilares, es decir, son una serie de procesos que operan de manera conjunta entre sangre oxigenada, sangre desoxigenada, y fenómenos de flujo y volumen sanguíneo [Ogawa et al (1993)]. Si definimos S como la señal en la región activada, entonces, el cambio de señal ($\Delta S/S$) de IRMf es:

$$\Delta S/S = M [\Delta FSC/FSC - \Delta RMCO_2/RMCO_2] - N[\Delta VSC/VSC] \quad 1.1$$

En la ecuación 1.1, $\Delta S = S_0 - S$, $\Delta FSC = FSC_0 - FSC$, $\Delta RMCO_2 = \Delta RMCO_{20} - \Delta RMCO_2$, $\Delta VSC = VSC_0 - VSC$. M y N son constantes que se determinan, sin embargo, sus valores dependen del tiempo de relajación T2 o T2*, para el tipo de secuencias espín-echo (SE) y echo de gradiente (EGR), respectivamente.

En la ecuación 1, el término del lado derecho es positivo, es decir, señal positiva, solo si el primer término del lado derecho (*metabolismo-perfusión*) es mayor que el segundo término (*volumen sanguíneo*). En resumen, un voxel con señal IRMf DNO positiva, resulta de un incremento en sangre oxigenada por la hiperemia funcional, mostrando que el cociente $\Delta RMCO_2/RMCO_2$ es el más relevante de los parámetros fisiológicos.

La comunicación interneuronal es un proceso sináptico que implica varias etapas e inicia cuando un potencial de acción llega a la terminal presináptica, la llegada de este potencial induce la liberación de moléculas neurotransmisoras (glutamato) en el espacio intersináptico, activando los receptores de los neurotransmisores en la terminal posináptica, lo que permite propagación de la señal entre las neuronas. El glutamato extracelular (puntos morados) es llevado a los astrocitos por iones de sodio Na^+ , para convertirlo a glutamina (puntos grises). La glutamina se regresa a la neurona para ser reconvertida en molécula neurotransmisora, Figura 3.

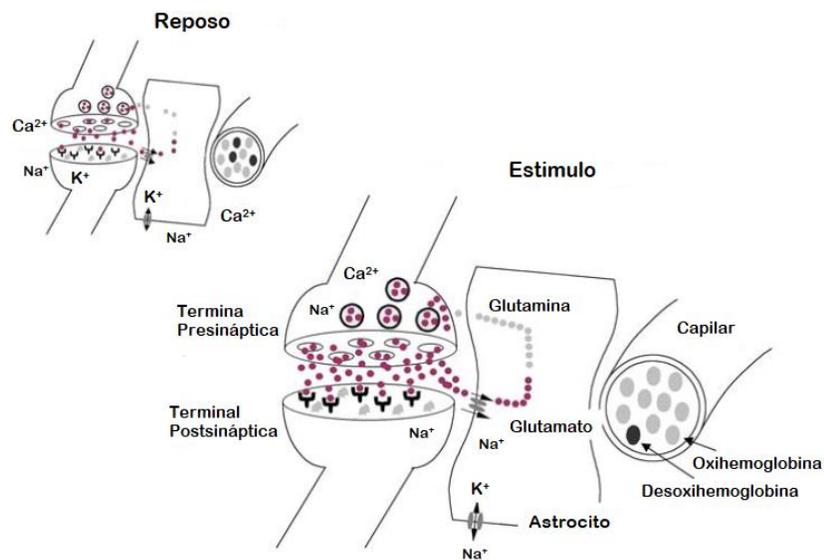


Fig. 3. El cambio de la señal IRMf refleja directamente alteraciones en la energía de la sinapsis glutaminérgica. Modificado de Kida (2006).

De tal manera que la comunicación interneuronal, cuyo fin es propagar señales entre las neuronas, involucra propagación del potencial de acción, mantenimiento de gradientes de concentración iónica dentro y fuera de la membrana, reciclado de glutaminérgicos, liberación y actualización de neurotransmisores. Todos los procesos descritos requieren incremento en el consumo de energía, que principalmente proviene del adenosín trifosfato (ATP). El ATP es proporcionado por la oxidación de glucosa en neuronas y astrictos, de tal manera que, el oxígeno,

recurso para la oxidación, es suministrado por la hemoglobina sanguínea (oxihemoglobina), por lo que existe una estrecha relación entre una señal IRMf DNOS y las variaciones de FSC y $RMCO_2$, como lo muestra la ecuación (1) [Raichle et al (1987), Ogawa and Tank et al (1990), Ogawa and Glynn et al (1990), Buxton et al (1998), Kruggel et al (1999)].

2.3 Tiempos de relajación T2 y T2*

Los parámetros M y N , de la ecuación (1), dependen del tiempo de relajación T2 o T2*, este tiempo se conoce como tiempo de relajación transversal. La técnica IRM utiliza dos tipos de tiempo de relajación para captar señal, el tiempo de relajación T1 (relajación longitudinal), que es el tiempo en que los espines nucleares regresan a su estado de mínima energía, Figura 4a, y el tiempo de relajación T2 (relajación transversal), que es el tiempo en que los espines se desfasan en el plano transversal a la dirección del campo magnético principal B_0 , Figura 4b.

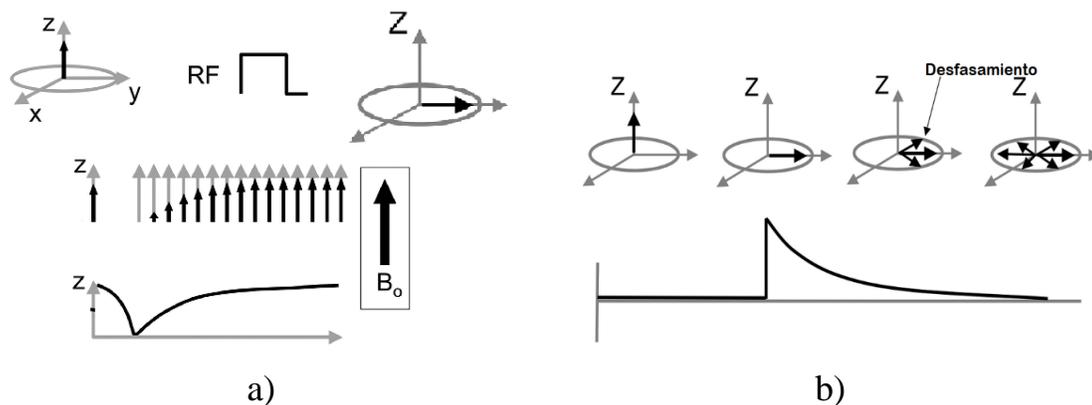


Figura 4. a) relajación longitudinal T1. b) relajación transversal T2. Ambos procesos suceden después de aplicar y retirar un pulso de radio frecuencia (RF) de 90°.

El caso particular de los tiempos de relajación T2, existen dos variantes que son: T2 y T2*, ambas miden tiempos de relajación transversal (es decir, el tiempo en que decae la señal de resonancia magnética debido al desfase de los espines Figura

3b). La principal diferencia entre el T2 y T2* es que T2 se utiliza en la señal en la familia de secuencia espín eco (SE) y T2* se utiliza en la familia de secuencias eco de gradiente (EGR), además, esta última considera inhomogeneidades del campo magnético principal [Mriquestions].

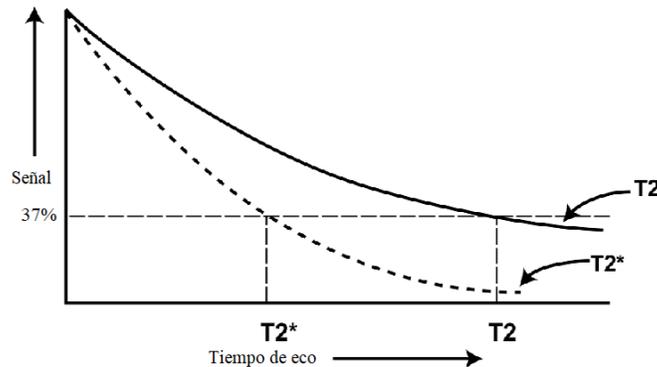


Figura 5. Relajación de T2 y T2* .

Los tiempos T2* son mucho más corto que los tiempos T2, Figura 5. Los tiempos de relajación T2 se utilizan con la familia de secuencia SE, cuya principal característica es que se obtiene con un arreglo de dos pulsos de RF en el orden de 90°-180°. Por su parte, los tiempos de relajación T2* se utilizan con la familia de secuencias eco de gradiente, cuya característica principal es que utiliza un solo pulso de RF de 90° y un re-enfase realizado con gradientes, debido a que el pulso de 180° destruye la señal T2* [Chavhan et al (2009)].

2.4 Relación oxihemoglobina, desoxihemoglobina y T2, T2*

La desoxihemoglobina (DOH) en los vasos sanguíneos, por ser paramagnética, se comporta como un medio de contraste endógeno para señales de IRM [Edvinsson et al (1993)]. La de DOH provoca cambios locales en el gradiente de campo magnético entre el vaso sanguíneo y el tejido que lo rodea [Ogawa y Glyn et al (2009)], Figura 4. Esas variaciones microscópicas, del gradiente del campo

magnético, son resultado de la diferencia de la susceptibilidad magnética entre el tejido interno que rodea el vaso y la DOH paramagnética contenida en los capilares. Cuando una región de la corteza cerebral incrementa su actividad como respuesta a una tarea, se extrae una fracción de oxígeno de la oxihemoglobina (OH), lo que se traduce en una caída de la OH en el capilar y un incremento de dióxido de carbono (CO_2) y de DOH. Debido a que el flujo sanguíneo cerebral es controlado localmente y en respuesta a variaciones de O_2 y CO_2 , después de unos segundos (2-6 segundos), se incrementa el FSC, presentando variaciones también el VSC, para suministrar más OH, y desplazar la DOH. El reabastecimiento de sangre oxigenada induce variaciones en los gradientes de campo local interno y externo al capilar (Figura 6, etapa donde se obtiene la IRM DNOS).

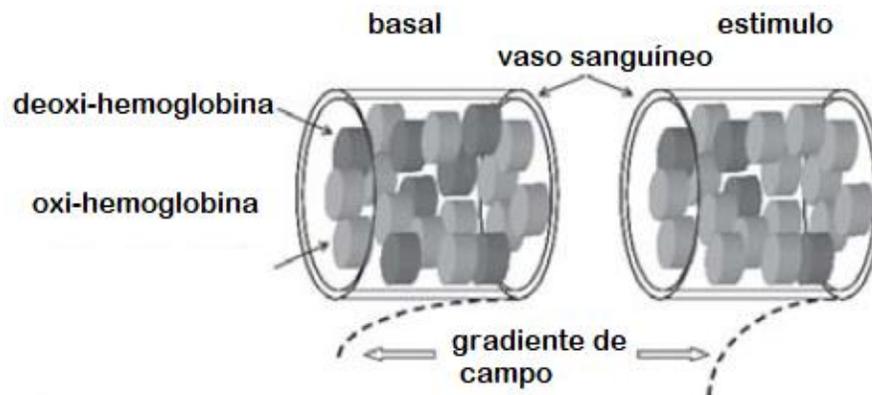


Figura 6. Estado basal, la OH y DOH generan un gradiente de campo, línea punteada. Post estímulo (2-6 segundos) disminuye la DOH, e incrementa el gradiente de campo. Modificado de Kida (2006).

Este incremento del gradiente, además, genera una diferencia de susceptibilidad magnética dentro y fuera de los capilares, fenómeno que produce variaciones en los valores de los tiempos de relajación T_2 o T_2^* , Figura 7.

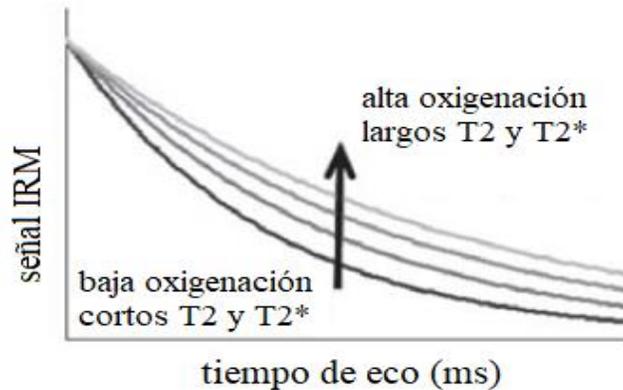


Figura 7. Señal de IRM como función del tiempo de eco y en base a niveles de oxigenación sanguínea y valores de los tiempos de relajación T2 y T2*. Modificada de Kida et al (2006).

Cuando se utiliza la secuencia pesada a T2 o T2*, es decir, medir tiempos de relajación T2 o T2*, la elección de T2 o T2* depende de la intensidad del campo magnético externo (campo magnético principal B₀). El campo magnético principal, es dado por el equipo utilizado para obtener las IRMf DNOS, y los hay desde 0.32 Teslas (0.32 T) hasta 21 Teslas (21 T). Es importante hacer notar que lo que realmente afecta los tiempos de relajación T2 y T2* está estrechamente relacionado con la relajación transversal del agua en la sangre intra capilar (intra) y del tejido que rodea al capilar (extra) [Bauer et al (1992), Yablonskiy et al (1994)], Figura 8.

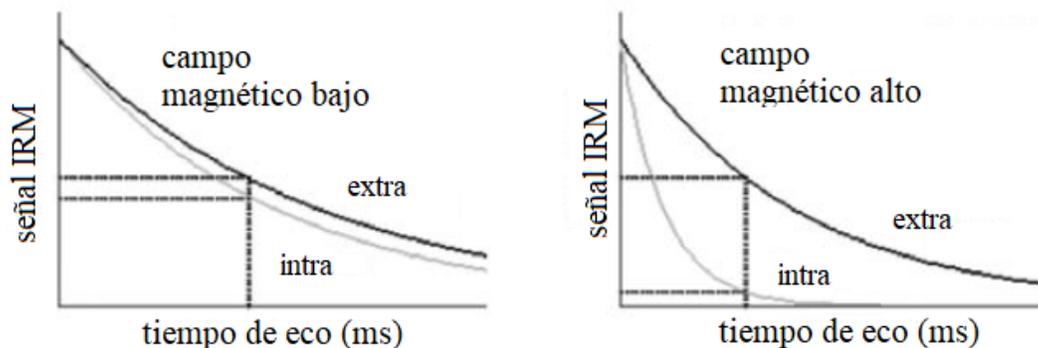


Figura 8. Señal de IRM como función de los tiempos de eco y en base a niveles de oxigenación sanguínea y valores de los tiempos de relajación T2 y T2* intra y extra capilares. Modificad de Kida (2006).

Entonces, los campos magnéticos menores o igual a 3.0 T utilizan, principalmente, secuencias pesadas T2*, es decir, secuencias que adquieren señal DNOS utilizando tiempos de relajación T2*, y estas secuencias pertenecen a la familia de EGR. Por otra parte, para campos magnéticos mayores de 3 T, la adquisición de señal DNOS se realiza, principalmente, con secuencias pesadas a T2, por lo que se utilizan secuencias de la familia de SE [Thulborn et al (1982)]. El concepto de pesado se refiere a que en la secuencia a T2 o T2*, se adquiere señal del tejido en el desfaseamiento T2 o T2*.

En esta técnica de imagen la ponderación a T2 o T2* se utiliza para detectar cambios de la susceptibilidad magnética debido a variaciones en OH y DOH, variaciones del orden 1-5%, por lo que existen algunas limitaciones para esta técnica:

- El FSC es un marcador indirecto de la actividad neuronal y no se muestra de manera directa la actividad neuronal.
- Las dimensiones de la región, que presentan flujo sanguíneo regulado, son del orden de milímetros en diámetro.
- Existe un retraso entre la actividad neuronal y el incremento de FSC de 2-6 segundos.
- Como el cambio es muy pequeño (2-5%), son comunes los artefactos por movimiento.
- La secuencia pesada a T2* son muy susceptibles a inhomogeneidades del campo magnético.

A pesar de los inconvenientes descritos, esta técnica de imagen proporciona información sobre la actividad neuronal, sin embargo, es importante que las secuencias de pulsos diseñadas para este fin cumplan ciertos requisitos: el primero es que la secuencia debe ser sensible a cambios en los tiempos de relajación T2 o T2*, el segundo, ser capaz de registrar señales DNOS intrínsecamente bajas, con diferencia de valores porcentuales del orden de unidades, con respecto a valores

basales, y el tercero, debe tener suficiente resolución espacial y temporal para cubrir múltiples puntos de manera temporal y distribuido espacialmente en todo el cerebro.

La técnica DNOS y las propiedades paramagnética y diamagnética de la DOH y OH, respectivamente, proporciona imágenes oscuras en aquellos voxel que tiene vasos [Ogawa y Tank et al (1990), Ogawa y Lee (1990)]. Esas propiedades de la hemoglobina son las causantes de que la señal debido DNOS como función de la ponderación a T2 o T2* [Fox et al (1988), Turner et al (1991), Jezzard et al (1994)]. Se esperaría que, con la actividad neuronal, proceso que implica un incremento en el consumo de oxígeno, el nivel de desoxihemoglobina en la sangre también aumentara, y la señal de resonancia magnética (RM) disminuyera, sin embargo, lo que se observa es un aumento en la señal de RM, que implica una disminución en la desoxihemoglobina, debido a que la actividad neuronal, y un pequeño aumento en la extracción de oxígeno de la sangre, inducen un incremento mucho mayor en el flujo sanguíneo cerebral, trayendo consigo más oxihemoglobina, Figura 4. Por lo tanto, el efecto masivo sobre la actividad neuronal es una disminución regional de la DOH paramagnética, resultando un incremento de la señal RM. Estas conclusiones están soportadas por los resultados obtenidos con la técnica TEP y estudios de espectroscopia cercana al infrarrojo (NIRS por sus siglas en inglés). Estas técnicas demostraron incremento en oxihemoglobina, y disminución de la desoxihemoglobina tras la activación, también se incrementa la cantidad total de hemoglobina, como un reflejo del incremento del volumen de sangre [Fox et al (1988), Villringer et al (1993)].

2.5 Paradigmas en imagen dependiente de los niveles de oxigenación sanguínea

Por lo descrito en los párrafos anteriores, la técnica de imagen funcional DNOS es complicada en el sentido que involucra parámetros fisiológicos relacionados con suministro de hemoglobina oxigenada (OH), deslavado de hemoglobina desoxigenada (DOH), variaciones en flujo y volumen sanguíneo, en regiones cerebrales activadas, y el subsecuente registro de estas variaciones, que no representan más que una variación porcentual de entre 1-5% de su estado basal. Sumado a lo anterior, están los parámetros que se ajustan en los equipos de imagen para poder realizar los registros de manera confiable, al utilizar secuencias ponderadas a T2 o T2*, que como describimos, están es función de la intensidad del campo magnético que se utiliza para el experimento.

Sin embargo, la técnica de imagen funcional DNOS ha motivado a muchos grupos a realizar estudios para mapear la actividad cerebral, de tal manera que desde la década de los 90 del siglo pasado han surgido un gran número de trabajos con esta técnica de imagen. El primer estudio de la actividad cerebral en humanos, lo realizaron utilizando un agente de contraste exógeno para mapear la corteza visual [Belliveau et al (1991)]. Poco después, se mapeo la función sensitiva y motora [Kwong et al (1992), Bandettini et al (1992)]. También, se han realizado estudios en otros mamíferos no humanos, y utilizando un equipo de 7.0 Teslas se ha aplicado esta técnica para mapear el cerebro de roedores, donde la tarea consistía en aplicar estímulos al roedor durante el escaneo. Otro grupo, en los laboratorios AT & T Bell, mostro que se puede obtener mapeo cerebral funcional con esta técnica de imagen [Ogawa y Glynn et la (1990)]. Para generar mapas cerebrales de regiones de interés, con esta técnica, se realiza un volumen grande de escaneo de manera sucesiva del cerebro completo para detectar actividad, recopilando una gran cantidad de

imágenes con información, proceso que requiere de dos fases: el reposo, es decir, el sujeto bajo estudio no realiza tarea alguna, y la actividad, es decir el sujeto hace cierta tarea. La técnica IRMf DNOS obtiene información de activación de un sistema (una región cerebral específica), como resultado de la modulación a la respuesta de estímulos externos. Estos estímulos (tareas) pueden ser tareas cognitivas, auditivas, visuales, sensitivos y ejecutivos.

Un arreglo particular de estímulos se conoce como paradigmas. Un paradigma es una tarea construida de tal manera que tenga una estructura temporalmente organizada, la tarea puede ser de uno solo tipo o diversas tareas, lo cual implica registrar más de un área cerebral a la vez, con la condición de que la estructura temporal del paradigma se arregle de tal manera que una vez se presente la tarea y continuación la inactividad (reposo), este proceso se conoce como periodo de actividad-reposo. Las tareas propuestas deben basarse en predicciones de comportamientos del tipo cognitivo, motor, visual o auditivo, es decir, el experimentador debe crear la estructura del paradigma basado en una hipótesis sobre la región o regiones, neuroanatómicas que participarán, para poder clasificar la diferencia entre las tareas de actividad-proceso [Turner et al (1993), Brockway (2000), Buchanan et al (2000)].

Los paradigmas se han clasificado principalmente en tres: el primero se clasifica como paradigma por bloques, cuya finalidad es mantener actividad neuronal asociada a la tarea realizada [Glover (1999)]. El segundo se clasifica como paradigma relacionado a eventos, este detecta variaciones transitorias en la variación de la hemodinámica lo que permite realizar análisis de correlatos neuronales con base a respuestas conductuales [Amaro et al (2006)]. El tercero es una combinación de los dos anteriores [Donaldson (2004)].

2.6 Imagen por resonancia magnética funcional en estado de reposo

La técnica de imagen DNOS, descrita, utiliza paradigmas basados en tareas o estímulos. Técnica que resultado ser una herramienta muy útil para entender algunas funciones cerebrales. Su principio se basa en utiliza cambios de la señal de IRM, relativos a una línea basal, que se derivan de variaciones en el metabolismo producidas por realizar alguna tarea o resultados de un estímulo. Con esto, se puede inferir la neuroanatomía que se activa y que además está en estrecha relación con la tarea o estímulo aplicado al sujeto bajo estudio.

Surgió una variante de esta técnica, en la década de los 90's del siglo pasado, donde se adquieren imágenes de actividad metabólica, sin aplicar una tarea o estímulo durante la adquisición de estas, por lo que se etiqueto como estado de reposo. La clasificación actual de esta técnica es: imagen por resonancia magnética funcional en estado de reposo (IRMfer) o imágenes por resonancia magnética de conectividad funcional. Con esta técnica, se puede registrar actividad neuronal sincronizada de diferentes regiones cerebrales, actividad que se presenta de manera espontánea y de la que siempre se obtienen registros correlacionados de diferentes áreas del cerebro. El cerebro siempre está activo, aun sin que el sujeto realice alguna actividad o se le aplique un estímulo. Este sistema, en reposo, consume en promedio 20% del oxígeno que inspira el sujeto y un promedio del 50% de glucosa consumida, a través de los alimentos. Cuando se presenta cambios metabólicos neuronales, en respuesta a un estímulo externo o tarea impuesta, se ha mostrado que solo se incrementa, aproximadamente, de 1% a 5%, los consumos de oxígeno y glucosa [Raichle et al (2006)], por lo que se intuye que el alto consumo energético del cerebro en reposo implica actividad continua en este [Fox et al (2007), Lord et

al (2013)]. Han surgido varios estudios, a partir de la mitad de la década de los 90 del siglo pasado, que muestran actividad fisiológica espontánea de frecuencia bajas, registradas en el rango de 0.01hz hasta menores a 0.1 Hz [Buzsaki et al (2004)]. El primero en reportar esta actividad continua, o fluctuaciones fisiológicas en la corteza motora, debido a ondas de baja frecuencia (0.01-0.1 Hz) fue Biswal [Biswal et al (1995)]. Este trabajo muestra resultados de fluctuaciones fisiológicas espontáneas de baja frecuencia (~0.08Hz) de actividad cerebral en el estudio de un sujeto en condición de reposo, proceso que se clasifico como “actividad continua” o “estado de reposo”. Antes de este trabajo, las frecuencias registradas en este rango, o frecuencias mayores o igual a 0.1 Hz no se consideraban variaciones producidas por el metabolismo fisiológica debido a actividad neuronal, en su lugar era considerado ruido producido por la electrónica del equipo de adquisición o por actividades fisiológicas tales como frecuencia cardiaca o respiratoria [Krüger et al (2001), Martini et al (2007)]. Por ejemplo, la frecuencia respiratoria registra fluctuaciones fisiológicas en un rango de frecuencias de 0.18–0.25 Hz [Wu et al (2005), Martini et al (2007)], en tanto que el ritmo cardiaco presenta fluctuaciones fisiológicas para frecuencias en el rango 0.9–1.1 Hz, principalmente. Aunque se ha registrado ritmo cardiaco que genera ruido en frecuencias bajas (<0.1 Hz), su contribución es mínima [Shmueli et al (2007)]. Por otra parte, se hizo una clasificación de rangos de frecuencias, por Cordes, en: frecuencias bajas (0.0-0.1 Hz), frecuencia respiratoria (0.1-0.5 Hz) y frecuencia cardiaca (0.6-1.1 Hz) y reporta que los mapas funcionales generados con la técnica IRMfer tiene una contribución de 90%, principalmente, de frecuencias bajas en mapas de conectividad auditivo y visual y de 70% en mapas de conectividad motora. Por lo que las contribuciones del ruido cardiaco y respiratorio en frecuencias bajas, no contribuye de manera significativa [Cordes et al (2001)]. Otro trabajo, basados en técnicas alternas, han mostrado que los registros de fluctuaciones en frecuencias

bajas pertenecen a actividad cerebral en reposo [Arieli et al (1995), Myhew et al (1996), Lu et al (2007)]. Además, el actual estado de desarrollo de herramientas de análisis de imagen permite reducir y filtrar frecuencias de señales de interés que corresponde a ruido fisiológico, artefactos de movimiento o de adquisición y señal de interés.

2.7 IRMfer y redes neuronales en reposo

La técnica IRMfer presenta tres principales ventajas sobre la técnica de IRMf obtenida con paradigmas específicos. La primera es que con la técnica de IRMf se pueden clasificar estructuras cerebrales definidas, en tanto que la técnica de IRMfer está enfocada en fluctuaciones espontáneas de todas y cada una de las estructuras cerebrales, registrando actividad en diferentes áreas en un solo proceso de obtención de imágenes. La segunda, en la técnica IRMf requiere que el sujeto esté atento a instrucciones específicas de alguna tarea o responda a un estímulo, por su parte, la técnica IRMfer se puede aplicar en sujetos que no tiene capacidad para poner atención a tareas específica. Por último, la tercera, y no menos importante, con la técnica de IRMfer se construyen mapas de conectiva cerebral de manera espacio temporal, mostrando que el cerebro no es una agrupación de estructuras con actividad individual, más bien, son muchos módulos trabajando en sincronía [Shadlen et al (1998), Lee et al (2013)].

Con esta técnica se han clasificado varias redes neuronales en reposo (RNR), tanto en mamíferos humanos como no humanos [Damoiseaux et al (2006), Petermann et al (2009), Lee et al (2013)]. Entre las redes que destacan están: la red somatosensorial, que fue la primera red clasificada en 1995 por Biswal [Biswal et al (1995)]. La red modo basal (RMB), y tal vez sea el más fundamental, aunque

poco entendido (DMN de Default Mode Net en inglés) [Reichle et al (2001), Reichle (2015), Gusnard et al (2001), Greicius et al (2003), Raichle (2015)]. La red visual que se extiende sobre la corteza occipital [Leopold and Logothetis (2003), Leopold, Murayama et al (2003), De Luca et al (2006), Power et al (2011)]. La red auditiva que consiste del giro de Heschl, el giro temporal superior y la ínsula posterior [Smith et al (2009)]. La red de atención [Fox et al (2006)]. La red de lenguaje que incluye las áreas de Broca y Wernicke, además se extiende a las regiones subcorticales prefrontal, parietal [Tomasi et al (2012)]. Por último, la red que incluye el tálamo, el cerebelo y los ganglios basales [Zhang et al (2008), O'Reilly et al (2010), Di Martino et al (2008)]. Otro trabajo en humanos ha identificado RNR involucradas en la ejecución del control de la atención, que modula la atención del control cognitivo, alojados en la red dorsal de atención, compuesta por campos visuales frontales y surcos interparietales [Lee et al (2013)]. Los trabajos para clasificar las RNR, están enfocados en entender su funcionamiento, así como estimar la posible conectividad entre ellas. La clasificación de las RNR tiene por objetivo mostrar posibles desarrollos atípicos, procesos de degeneración, variaciones inter-sujetos o condiciones patológicas. Esto ha generado gran interés en desarrollar técnicas para medir lo que se ha clasificado como conectividad funcional (cf) en el cerebro y relacionar los patrones de conectividad con la información sobre los límites estructurales y las propiedades de la respuesta funcional de las mismas [Horwitz (2003), Van Dijk et al (2010)]. El concepto de conectividad cerebral se define como la correlación temporal de la señal derivada de eventos neurofisiológicos remotos [Van Dijk et al (2010)], con la característica importante que un evento, no necesariamente influya sobre los otros posibles eventos, es decir, los eventos fisiológicos pueden ser correlacionados porque son eventos neurofisiológicos o estímulos activados de manera independiente [Cordes et al (2000)].

Esta técnica de imagen es muy sensible, debido a que la actividad que registra se hace en frecuencias muy bajas (≤ 0.1 Hz), sin embargo, y debido al desarrollo de software para procesar se puede aplicar esta técnica para discriminar frecuencias de fluctuación fisiológica por actividad neuronal de frecuencias fisiológicas naturales, en muestras en estado de alerta, [Peteremanna et al (2009), Lee et al (2013)], en muestras en fase de anestesia general [Vincent et al (2007)], así como sueño profundo [Horovitz et al (2009)], sueño ligero [Larson-Prior et al (2009)] y fase de anestesia ligera [Greicius et al (2008)]. Además, estudios en humanos y otras especies, han mostrado coherencia de tipo espacio temporal de la actividad correlacionada en el cerebro [Fox et al (2006), Lee et al (2013)]. Se han creado diversas técnicas de IRM para discriminar señal útil de ruido fisiológico, entre estas la más utilizada es la secuencia de imagen eco planar IEP (EPI, siglas en inglés). La Figura 9 muestra una relación de los tiempos en que suceden algunos fenómenos fisiológicos y los tipos de secuencias utilizadas con la técnica de IRM.

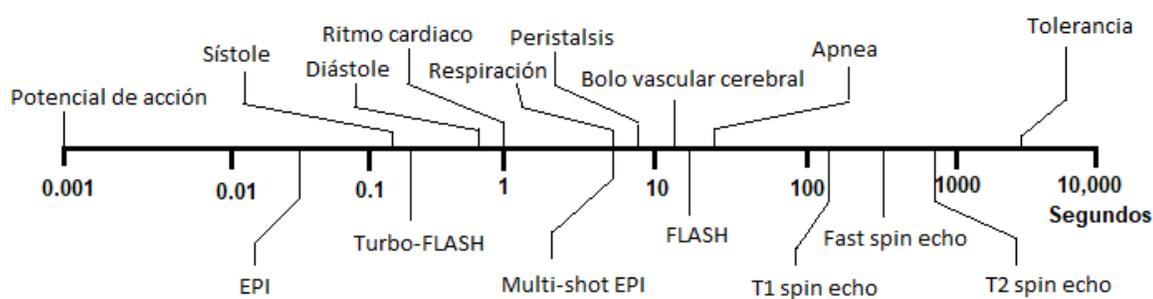


Figura 9. Tiempos de procesos fisiológicos y tipos de secuencias utilizadas en IRM con base al proceso.

La técnica de IRMfer proporciona información muy importante para generar mapas cerebrales, que se clasifican como redes neuronales en reposos (RNR), en una sola sesión de escaneo. El tiempo promedio, aunque depende de los parámetros en la secuencia, para realizar el escaneo total es del orden de 6 minutos, a diferencia de

escaneos con la técnica IRMf que pueden durar hasta el doble de tiempo. La técnica IRMfer tiene la versatilidad de obtener imágenes en humanos en estado de sueño ligero, anestesia ligera, etc., además, se puede aplicar a grupos que van desde recién nacidos, hasta persona con problemas de atención, así como a otros mamíferos no humanos.

Por otra parte, el tipo de secuencia, sus parámetros, y el campo magnético principal B_0 , son fundamentales para obtener información confiable de RNR activas, ya que las fluctuaciones registradas son de frecuencias muy bajas. Las secuencias pesadas T2 o T2*, junto con la técnica de imagen eco planar (IEP, EPI por sus siglas en inglés) son la herramienta clave para realizar IRMf dirigida por paradigmas o en estado de reposo. La Técnica IEP permite obtener imágenes rápidas, en promedio un corte en 100 milisegundos (100 ms), con un solo pulso (disparo) de radio frecuencia (RF), colectando información al variar los gradientes de fase (G_{pe}) y de frecuencia (G_{fe}). La familia de secuencias EGR consiste en excitar a los espines con un pulso de RF con cualquier ángulo $\alpha \leq 90^\circ$, y, por tratarse de un eco, el re-enfase se hace con los gradientes de fase. Por su parte, para la familia de secuencias SE utilizamos dos pulsos de RF en el orden (90° - 180°), el segundo pulso es para re-enfazar a los espines, y así generar el eco, Figura 10.

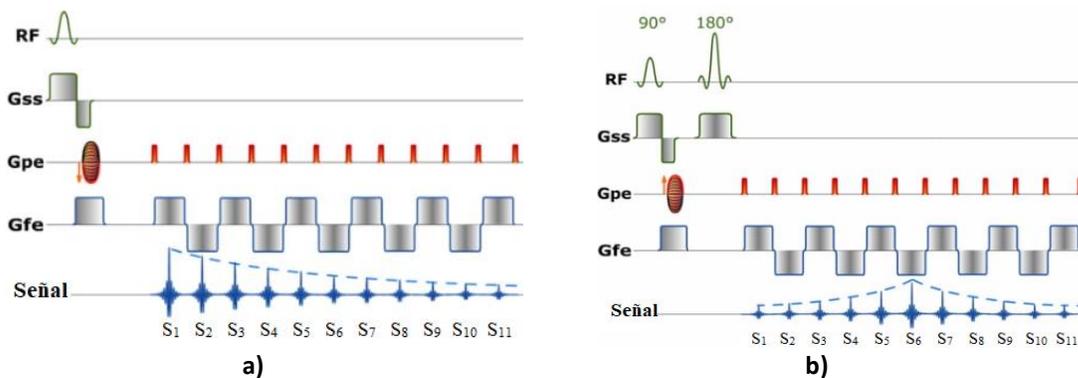


Figura 10. a) Diagrama de secuencia EGR, con un solo pulso de RF.
 b) Diagrama de secuencias SE con dos pulsos de RF.
 Registro de señales S1, S2...

Como se mencionó, la DOH actúa como contraste endógeno, sin embargo, esta es reemplazada por OH, debido a la actividad neuronal lo que implica incremento de volumen sanguíneo intravascular (VSC) (apartado 2.2, ecuación 1, y apartado 2.4, Figura 6). Debido a que DOH es paramagnética y la OH es diamagnética, la activación neuronal provoca cambios en las concentraciones de estos dos materiales disminuyendo sus razones R y R^* , para cada componente [Thulborn et al. 1982; Ogawa et al. 1990], lo que permite registrar contraste DNOS $T2(1/R2)$ y $T2^*(1/R2^*)$, por consiguiente, señales de cambios en la actividad neuronal basados en proceso hemodinámicos.

Los micro gradientes (apartado 2.4) de campo magnético alrededor de los vasos y capilares sanguíneos, que contiene DOH, producen contraste DNOS de dos maneras [Bandettini et al. 1994; Weisskoff et al. 1994]. El primer contraste se debe al que los espines intravoxel se desfazan, fenómenos más probables cerca de los vasos sanguíneos grandes, y provoca pérdida de la señal pesada a $T2^*$, la cual se registran técnicas de imagen EGR. El segundo tipo de contraste se debe a que los espines se difunden en los micro gradientes, lo que provoca reducción en la señal pesada a $T2$, la cual se registra con técnicas de imagen SE. Sin embargo, el contraste se incrementa linealmente con la intensidad de B_0 , por lo tanto, incremento en la intensidad del campo provoca incremento en el contraste de imágenes pesadas a $T2$ con respecto al contraste en imágenes pesada a $T2^*$. Por ejemplo, en un campo de 4T se logran mejores contrastes DNOS en tejido que en vasos grandes, utilizando secuencias de la familia SE [Yacoub et al. (2001)]. En resumen, para lograr contraste DNOS se pondera el escaneo a $T2$ o $T2^*$, como función del B_0 , resultando que: en $B_0 \leq 3.0$ Teslas las secuencias

GRE_T2* son las que se utilizan, en tanto que las secuencias SE_T2 se utilizan en $B_0 \geq 3.0$ Teslas.

2.8 Imagen por resonancia magnética en pequeñas especies

El uso de pequeñas especies, como modelos animales en investigación de ciencias básicas y preclínicas, es esencial para el desarrollo de estrategias en biociencias y neurociencias [Lewies et al 2002)]. Los modelos en especies pequeñas a nivel biociencias permiten descubrir comportamiento a nivel molecular, para posteriormente interpolar estos resultados a diagnóstico en humanos y su posible aplicación terapéutica, incrementándose los modelos en estas muestras debido a que el comportamiento de una molécula, estudiada en un modelo de enfermedad particular, es diferente in vivo que in vitro, y por cuestiones éticas las pruebas no se pueden realizar en humanos [Cunha et al (2014)].

También han surgido algunos modelos en especies pequeñas que permiten realizar investigación en neurociencias, entre las que destacan: neuroanatomía, conectividad neuroanatómica y respuestas de comportamientos social. Una herramienta que ha incrementado el número de estos modelos son las técnicas de imagen [Zerbi et al (2015)]. Las técnicas de imagen, ajustadas a pequeñas especies, permite hacer estudios en modelos animales de manera longitudinal, para realizar el seguimiento de procesos patológicos o de comportamiento de algún fármaco de prueba [Cucha et al (2014)]. Una definición adecuada de lo que las técnicas de imagen representan, para los modelos en especies pequeñas, es la presentada por Zanzonico que dice “un modo apropiado para evaluar estructuras biológicas y funcionalidad in vivo de manera no invasiva, y que permite registro cuantitativo, en estado de salud y patológico, lo proporciona las modalidades de imagen adaptadas a especies pequeñas” [Zanzonico (2011)]. Hay dos ventajas de utilizar

técnicas de imagen, para realizar investigación de especies pequeñas. La primera tiene que ver con reducir el número de la muestra y la segunda, de mayor importancia, reducir la variabilidad biológica, considera la compleja interacción entre los procesos fisiológicos y bioquímicos que suceden de manera natural. Esta última se refiere a que cada muestra trabaja a su propio ritmo biológico.

Otra característica relevante de la investigación en especie pequeñas con técnicas de imágenes es que los equipos de imagen utilizados son similares los equipos de imagen utilizados en humanos, por lo que resulta factible interpolar, tanto las técnicas diseñadas, los modelos desarrollados, y los resultados obtenidos con esta técnica, a protocolos en humanos [Weissleder et al (2001), Kagadis et al (2010), Zanzonico (2011)]. Las modalidades de imagen realizadas en especie pequeñas incluyen la técnica de tomografía computada (TC), tomografía por emisión de positrones (TEP), tomografía por emisión de un solo positrón (TESP), ultrasonido (US) e imagen por resonancia magnética (IRM). De las técnicas mencionadas, la técnica IRM tiene un rango más amplio de aplicaciones que incluyen desde imágenes estructurales de alta resolución hasta imágenes funcionales de diversos tipos, siendo la técnica más utilizada en especies pequeñas, además de ser una técnica no invasivo, que junto con la técnica de US no utilizan radiación ionizante. Todas las técnicas mencionadas, también se utilizan en la clínica médica en humanos, sin embargo, es importante notar que la resolución con la que se realiza la obtención de información en humanos y especies pequeñas es diferente, como se muestra en el Cuadro I [Kiessling et al (2011)].

Modalidad	Resolución Espacial		Mejoras en Modelo Preclínico vs Clínico
	Clínico	Preclínico	
IRM	~ 1mm	≤ 100μm	Alto Campo Magnético, Mejores Gradientes y Bobinas
TEP	~ 5mm	1-2mm	Reducción de Tamaño de Detector en Diámetro
TESP	~ 1cm	0.5-2mm	Colimador Pinhole (Magnificación del Resultado)
TC	1-2mm	≤ 200μm	Alta Cantidad de Rx, Pequeños Puntos Focales
US	1-2mm	≤ 100μm	Rastreo con Altas Frecuencias

Cuadro I. Comparación en resolución y mejoras en hardware de los equipos preclínicos vs equipos clínicos.

Las técnicas de imagen, aplicadas a especies pequeñas, se pueden clasificar como no invasiva, en el sentido de que, la mayoría de las veces no se sacrifica a la muestra y se realizan estudios longitudinales. Sin embargo, se pueden clasificar, principalmente, en dos grupos. El primer grupo lo constituyen las técnicas que utilizan radiación ionizante para obtener información, grupos al que pertenecen las técnicas de TEP, TESP, TC, por su parte el segundo grupo lo constituyen las técnicas de US e IRM, cuya principal característica es que no utiliza radiación ionizante, y que para obtener la información excita el tejido y reciben un eco como respuesta, el cual reconstruyen para generar imagen u otro tipo de información de este. Es importante resaltar que la mayoría de los estudios de imagen realizados en pequeñas especies se llevan a cabo con la técnica IRM, con equipos que tiene campo magnético con intensidades desde 4.7 Teslas (4.7T) hasta 21 Teslas (21T) [Kiesslinger et al (2011)].

La mayoría de los estudios de imagen en modelos de especies pequeñas para biociencias y neurociencias se han realizado en ratones y ratas, debido a su manejo y versatilidad, en el sentido de inocular molecular, tumores etc., y en algunas especies por sus comportamientos. Sin embargo, la mayoría de estas especies no

tienen comportamientos de tipo social complejos, similar al del humano. El caso del topillo de la pradera es particular por dos razones. La primera, se puede mantener en laboratorios como se hace con ratas y ratones y la segunda tiene que ver con que una subclase de estos presenta comportamientos sociales similares al humano.

Capítulo 3 IRMfer de Topillos de la Pradera

3.1 Topillos de la pradera

Como mencionamos, los modelos de investigación en animales, y particularmente en especies pequeñas, se consideran de utilidad cuando sus resultados pueden ser traslacionales, en consecuencia, estos modelos deben poder simular patologías o comportamientos psicosociales humanos. En particular, la neurobiología del comportamiento social complejo humano ha sido difícil de estudiar en animales típicos de laboratorio, rata o ratón, ya que difícilmente manifiestan comportamiento social similar al humano.

El comportamiento social particular, de una clase de topos de la pradera [McGraw et al (2010)], ha permitido utilizarlo como modelo animal de especies pequeñas, y los trabajos realizados en este modelo han contribuido a una mejor comprensión de la neurobiología y genética de la vinculación social [Young et al (2001), Numan et al (2003), Bales et al (2007)], cuidados parentales [Olazábal et al (2005), Rilling et al (2014), Keebaugh et al (2015)], protección social [Smith et al (2014)], efectos en su comportamiento social adulto por experiencias de vida infantil [Ahern et al (2009), Perkeybile et al (2013), Barrette et al (2015)], y depresión relacionada con comportamiento social [Grippe et al (2007), Scotti et al (2015), Bosch et al (2016), McNeal et al (2017)]. Un estudio del topillo de la pradera demostró que la estimulación unilateral del bigote y estímulos del olfato realizados con nuevos olores inducen cambios en la señal DNOS [Yee et al (2016)], lo que muestra la viabilidad de estudios de neuroimagen funcional DNOS en estos modelos animales. Hasta ahora, la mayoría de los trabajos realizados, para estudiar este tipo de comportamiento social del topillo de la pradera, se centran en moléculas y neurotransmisores, así como, la clasificación de las estructuras del SNC que

generan las moléculas o neurotransmisores, o que de alguna manera están relacionadas con estas. Actualmente, no hay trabajos que caractericen la organización neuroanatómica funcional cerebral y que se hayan realizado con técnicas de neuroimagen DNOS en estado de reposo, en esta especie en particular. En este contexto, clasificar mapas cerebrales en el topillo de la pradera, para describir conectividad cerebral, y poder correlacionar estos mapas con comportamientos psicosociales, permitirá realizar investigación en este modelo animal que posteriormente se puede hacer traslacional al humano.

Actualmente, se han identificado en roedores varias redes en estado de reposos [Hutchison (2010), Joncker et al (2011), Mechling et al (2014), Nasrallah et al (2014), Stafford et al (2014)], Zerbi et al (2015), Gozzi et la (2016)], primates no humanos [Vincent et al (2007), Rilling et al (2007), Hutchison et al (2011), Martini et al (2011), Barks et al (2015)] y humanos [Biswal et al (1995), Xiong et al (1999), Cordes et al (2000), Zhang et al (2008)]. Logrando clasificar varias redes, entre las que destacan: la red de modo basal [Sheline et al (2009), Raichle et al (2001), Raichle (2015)], compuesta principalmente por cortezas prefrontal medial, del cíngulo posterior y la corteza latero parietal. La red modo basal ha sido muy estudiada en modelos animales, debido a que, alteraciones en su conectividad se asocian a una variedad de desórdenes neuropsiquiátricos en humanos, por ejemplo, utilizando IRMfer en modelos animales se han observado alteraciones en esta red, en depresión [Sheline et al (2009)], Alzheimer [Sorg et al (2007)], esquizofrenia [Whitfield-Gabirlei et al (2009)], y autismo [Whashington et al (2014)], entre otras.

En este trabajo, mostramos el mapeo cerebral, que se deriva de la conectividad funcional en estado de reposo (IRMfer), de un grupo de topillos de la pradera con la hipótesis de que este mapeo es capaz de evidenciar redes cerebrales a gran escala, incluyendo redes sensitivas y de asociación, así como la red modo basal.

3.2 Muestra

En este protocolo se trabajó con una muestra de 13 topillos de la pradera (*Microtus ochrogaster*). La muestra consistió solo de machos con edad de doce semanas, un peso promedio de 54.15 ± 5.24 gramos. La muestra se obtuvo de una colonia descendiente de seis parejas, donadas por el Dr. Larry J. Young de la Universidad de Emory, EUA. Toda la colonia de topillos de la pradera se mantiene en condiciones de resguardo similar a ratas y ratones, es decir, la muestra se alojó en un cuarto con luz controlada (ciclos de luz- oscuridad de 14:10), a una temperatura promedio de 23°C . La muestra, al igual que toda la población de topillos, se alimentaron con una dieta basada principalmente en dieta de conejo HF-5326 (LabDiet, St. Louis, MO, USA), agregando a esta dieta avena y semillas de girasol, el proceso de hidratación se realizó con suministro de agua a libre demanda. Algo relevante a mencionar es que cada muestra escaneada siempre se mantuvo en convivencia con el resto de la población, como lo hacía habitualmente, por lo que nunca se les privo de interacción social, solo al momento de realizar el escaneo para las imágenes de resonancia magnética.

3.3 Preparación de la muestra

La preparación de la muestra se compone básicamente de dos etapas:

La primera etapa consiste en anestesiarse al topillo para manipularlo y poder colocarlo en el cartucho donde se fijará para la obtención de imágenes. La manipulación de estos es más complicada que la manipulación de ratas y ratones, debido a que no están acostumbrados, como ratas y ratones de laboratorio, a ser manipulados por el humano. El sistema de inducción consiste de una caja de acrílico transparente de $9 \times 9 \times 17 \text{ cm}^3$ conectada a una manguera (negra), por la que se hace llegar la mezcla de aire-isoflurano utilizando un vaporizador conectado a

un sistema de aire filtrado para reducir la humedad. La caja de acrílico tiene una manguera de salida (blanca) dirigida a un filtro para evitar isoflurano en el cuarto. Figura 11.



Figura 11. Inducción del topillo

En la inducción, cada topillo de la pradera fue anestesiado con isoflurano en una mezcla de aire a una concentración del 3% de isoflurano, proceso que tomo en promedio 3 minutos.

La segunda etapa de preparación del topillo consiste en colocarlo, previa inducción, en el cartucho para la obtención de las imágenes. Antes de colocar el topillo se tiene que preparar el cartucho con dos dispositivos, el primero sirve para mantener una temperatura promedio de 27°C con un sistema que calienta agua y la hace circular (Thermo Fisher Scientific Inc.) hacia un cojinete de silicón (almohadilla azul) (SA Instruments, Inc. Stony Brook NY, EUA), y el segundo para monitorear la frecuencia respiratoria con una almohadilla sensor neumático (blanca redonda) compatible con el equipo de resonancia magnética (SA Instruments, Inc. Stony Brook NY, EUA), esta almohadilla tiene alta sensibilidad al movimiento del

abdomen, y esta manda señal de aire hacia una interfase, que vía fibra óptica lo traduce a una computadora colocada fuera del cuarto donde se obtienen las imágenes, Figura 12.

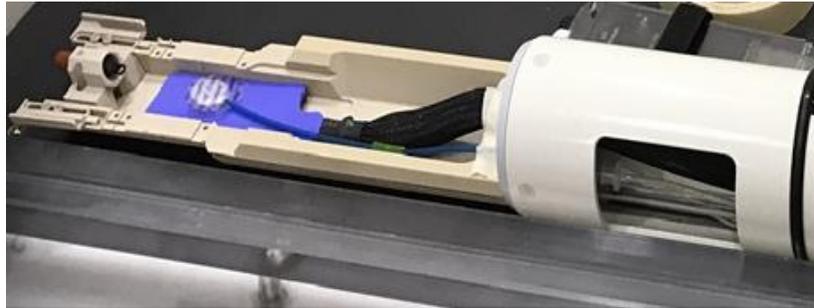


Figura 12. Cartucho, almohadilla con agua caliente (azul) y sensor de respiración (blanco).

Finalmente, el topillo anestesiado es colocado en la boquilla, sistema por el cual se hace llegar al topillo una combinación de aire-isoflurano al 1%, a través de un sistema de mangueras que esta debajo del cartucho, con la finalidad de inducir una sedación ligera y continua, durante todo el de rastreo. La sedación ligera tiene como fin evitar que este proceso influya en la actividad neuronal espontanea. La fijación de la cabeza del topillo, para su inmovilización, se logra con una barra mordedura donde se colocan los incisivos de este, Figura 13.



Figura 13. Colocación del topillo en el cartucho.

Este cartucho es colocado en un soporte, que permite acoplar el cartucho a la bobina. La temperatura corporal del topillo se monitoreó con una sonda rectal (SA Instruments, Inc. Stony Brook NY, EUA). El protocolo de imagen se programó en el software de aplicación Paravision-6 (Bruker, Ettlingen, Germany). Al terminar la sesión de obtención de imágenes por resonancia magnética, cada topillo se regresa a su alojamiento, gracias a que la recuperación de la anestesia es rápida, del orden de 30 segundos. Todos los procedimientos aplicados a la muestra de topillos se realizaron de acuerdo al “Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud” del Ministerio de Salud Mexicano, órgano que se apega al Instituto Nacional de Salud “Guía para el cuidado y uso de Animales de Laboratorio” (NIH Publicación No. 8023, revisado 1978, y **Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999**). Además, el protocolo fue aprobado por el comité del cuidado animal del Instituto de Neurobiología, de la Universidad Nacional Autónoma de México, Campus UNAM-Juriquilla.

3.4 Adquisición de imágenes

Hay dos parámetros de importancia a considerar al momento de adquirir imágenes funcionales, particularmente funcionales en estado de reposos, que son: la resolución temporal y la resolución espacial, de tal manera que resulta muy importante elegir protocolos de imagen por resonancia magnética que permitan maximizar resolución temporal y espacial, esto implica realizar adquisiciones rápidas para conciliar las dos resoluciones requeridas. La técnica de imagen eco-planar representa una gran ventaja para realizar este tipo de secuenciadas, debido a que con un solo tiempo de repetición se puede obtener un volumen cerebral completo [Pfeuffer et al (2002)]. Con esta técnica se pueden obtener varios volúmenes en tiempos cortos, con baja resolución anatómica, pero de muy alta resolución espacial

y temporal [Wiener et al (1996)]. La resolución espacial está estrechamente relacionada con la unidad de medida, el voxel, de imágenes obtenidas con la técnica de resonancia magnética, debido a que, un incremento en el tamaño del voxel reduce la resolución espacial, aunque incrementa la cantidad de tejido escaneado logrando mayor calidad en imágenes funcionales, por otra parte, una reducción en el tamaño del voxel, implica una reducción en la calidad de la imagen funcional, específicamente la relación señal/ruido, pero a cambio proporciona más información espacial, y reduce los artefactos por volumen parcial (por ejemplo, grandes voxels pueden incluir vasos, y consecuentemente pulsaciones, que influyen en las frecuencias de la señal funcional en estado de reposo) [Howseman et al 1999]. Para lograr un equilibrio entre el tamaño del voxel y la resolución tempo-espacial se utilizan en la secuencia tiempos de repetición del orden de pocos segundos y voxels del orden de micras, en la medida de ellos posible, Por otra parte, hay procesos de pos-procesamiento de imágenes que permiten realizar corrección temporal y espacial de los cortes de cada volumen de imágenes. Otros parámetros que influyen en la calidad de la imagen son: la respiración, vibraciones de la muestra durante el escaneo, debido al ruido producido por el equipo de escaneo, etcétera. Para reducir los efectos de estos parámetros es necesario realizar preprocesamiento en las imágenes obtenidas [Sladky et al (2011)].

Las imágenes se adquirieron con un equipo Bruker Pharmascan 70/16 US de 7.0 teslas (7T) (Bruker, Ettlingen, Germany), y una bobina de transmisión/recepción (T/R), enfriada por helio, CryoProbe TR (Bruker, Ettlingen, Germany). Se adquirieron dos secuencias de imágenes, iniciando con las funcionales en estado de reposo y posteriormente las anatómicas en formato 3D de alta resolución, debido al tiempo de duración de cada una.

La secuencia utilizada, para obtener imágenes funcionales en estado de reposo, es la técnica de imagen eco planar espín-echo (SE-EPI, siglas en inglés). Una desventaja de las imágenes del tipo EPI es que estas se distorsionan por las inhomogeneidades del campo magnético principal B_0 , inhomogeneidades que en cerebro se presentan debido a cambios tejido- aire, tejido-liquido, por ejemplo, los senos paranasales. Estas inhomogeneidades de interfases provocan pérdida de señal. Mucha de esa pérdida de señal no se puede recuperar, sin embargo, parte de la señal perdida, que solo ha sido desplazada de su posición, se puede recuperar y se reubicar a su posición original. Esto se logra realizando, previo a la adquisición de la secuencia EPI, un mapa del campo B_0 de tipo elipsoide para cubrir el cerebro completo de la muestra. Este mapa se obtiene con una utilidad del software Paravision PV6.0 (Bruker BioSpin, Ettlingen, Germany) [Bruker, 2014]. Con este proceso reducimos, al máximo, los efectos de las inhomogeneidades del campo magnético principal e incrementamos la calidad de la imagen.

Los parámetros de la secuencia SE-EPI para la imagen funcional son: tiempo de repetición, en milisegundos, ($TR = 2000$ ms), tiempo de eco ($TE = 19$ ms), ángulo de excitación, en grados, ($FA = 90^0$), campo de visión, en milímetros, ($FOV = 18 \times 16$ mm²), tamaño de matriz ($TM = 108 \times 96$). Para obtener voxeles con un grosor igual a 0.7 milímetros, y de 0.167×0.167 mm² en el plano. El tiempo total para obtener las imágenes funcionales fue de diez minutos (10 min.)

El tiempo para adquirir las imágenes estructurales es largo, por esta razón, en el proceso de obtención de las imágenes, primero se adquieren las imágenes funcionales y luego las estructurales. Ambas imágenes se obtuvieron en la muestra, sin embargo, solo se utilizaron 7 estructurales debido a que el resto tenían artefacto de movimiento. La secuencia que se utilizó para las imágenes estructurales es una de adquisición rápida con realce de relajación (Turbo_RARE, también conocida como Rapid Spin Echo RSE, Fast Spin Echo FSE, Turbo Spin Echo TFE). Los

parámetros de la secuencia Turbo_RARE para la imagen estructural son: TR = 1800 ms, TE = 38 ms, factor RARE de 16, FOV = 18 x 20 mm², TM = 144x160, grosor de corte de 0.125 milímetros (Slice Thickness = 0.125 mm), para obtener voxels isométricos de 0.125 x 0.125 x 0.125 mm³, realizando dos promedios de la adquisición. El estudio estructural tiene una duración de 38.24 minutos.

3.5 Preprocesamiento de datos

Las imágenes estructurales 3D de alta resolución, solos siete elementos de la muestra debido a que el resto de los elementos resultaron de muy baja calidad, fueron corregidas de inhomogeneidades de la intensidad de la señal utilizando el software N4ITK [Tustison et al (2010)] con un filtro adaptativo [Manjon et al (2010)], esta inhomogeneidades son resultado de la variación de la sensibilidad de la antena. Después de la corrección de inhomogeneidades, se procede a hacer una normalización espacial de estas imágenes para crear una imagen representativa (*plantilla*), utilizando un método implementado en las herramientas de normalización avanzada (ANTs, siglas en inglés) [Tustison et al (2010), Avants et al (2011)], desarrollado por Avants [Avants et al (2010)]. Se obtuvieron imágenes cerebrales segmentadas utilizando la herramienta de extracción cerebral (BET, siglas en inglés) [Smith (2002)], herramienta que esta implementada en las utilerías del software FSL v5.0.9 [Smith et al (2004)]. El software FSL es una librería de herramientas dedicadas al procesamiento de imágenes cerebrales y es la abreviación de FMRIB's Software Library, desarrollado por el grupo FMRIB de la Universidad de Oxford, Reino Unido. Finalmente se segmentaron los tejidos con una herramienta automatizada de segmentación de FSL, FAST v4 [Smith (2002), Smith et al (2004)].

Se realizan varios preprocesamientos, con utilerías del software FSL v5.0.9, a las imágenes funcionales de los topillos de la pradera, con la finalidad de reducir al máximo factores no deseados y aquellos que están fuera del alcance del proceso de su adquisición, La primera medida para reducir estos factores es eliminar los primeros cinco volúmenes adquiridos, ya que el proceso de estabilización del vector de magnetización en estas secuencias tarda de dos a tres volúmenes de adquisición, esto se conoce como inestabilidad de los datos iniciales. Posteriormente se procede a hacer la corrección temporal de cortes, los datos de IRMf, los que utilizan paradigmas y los que se realizan en estado de reposos, recaban la información en planos transversales a la dirección de adquisición, cada corte es un arreglo de voxeles, con una dimensión para cada lado del voxel en el corte, generando dos dimensiones del voxel, y una tercera dimensión dada por el grosor de corte. En el caso particular de las imágenes de topillos de pradera cada volumen cerebral consta de 25 cortes, el cual se obtuvo en 1.2 segundos (1200 ms) que es igual al TR, es decir, el tiempo aproximado entre el primer corte y el último es aproximadamente el TR. En consecuencia, si hay correlación de actividad entre el primer corte y el último, estos estarán desfasados por un tiempo aproximado al TR. Para corregir este desfase temporal se hace una corrección temporal de corte (Slice-Timing Correction, en inglés) [Sladky et al (2011)], con los métodos de corrección de interpolación temporal. La idea de esta técnica es considerar los valores que se obtienen, predecir cómo puede cambiar un valor consecutivo de este mismo, en intervalos de tiempo corto, y utilizar estos valores como respuestas de la señal funcional. Existen tres formas de interpolación, la lineal, de ranura (spline, siglas en inglés), y la sinc. La lineal, como su nombre lo indica, consiste en trazar una recta a través de los valores conocidos y de esta manera se deducen, interpolan, los valores restantes del comportamiento de la señal. La interpolación de ranura se utilizan curvas no rectas para unir los datos conocidos y de esa manera interpolar

los valores restantes. Por último, la interpolación *sinc* utiliza particularmente la ecuación $sinc(t) = \frac{\sin(\pi t)}{\pi t}$, para deducir valores futuros de los datos como función del comportamiento de la gráfica de la función *sinc*. En resumen, cada interpolación deduce futuros valores, con base al comportamiento de la gráfica, y con estos valores se realiza la corrección temporal de los datos. La corrección temporal en las imágenes funcionales en reposo de los topillos de la pradera se realizó con la interpolación *sinc* [Friston et al (2007)]. El segundo preprocesamiento es la corrección de movimiento de cabeza. Si bien la muestra está anestesiada, durante la obtención de las imágenes, para minimizar movimientos, siempre existe el riesgo de ligeros movimientos sea por reacciones de la muestra o por hiperventilaciones derivados de la anestesia. Con la técnica de corrección de movimientos reducimos al máximo estos. Las herramientas matemáticas utilizadas para corrección de movimiento consideran que estos se derivan de posibles rotaciones y/o traslaciones, como si se tratara de un cuerpo rígido, es decir no hay deformaciones en estos movimientos. Estas rotaciones y/o traslaciones tiene solo seis grados de libertad: rotación de tres ángulos, relacionada cada uno con cada eje (x,y,z) y traslación en tres ejes [Friston et al (2007)]. Para realizar la corrección de movimiento se utiliza el proceso conocido como registro de cuerpo rígido, donde se hace un registro de cada volumen con un volumen de referencia (por ejemplo, el primer volumen), realizando un proceso de traslación y rotación de cada volumen hasta lograr el mejor registro con la referencia [Smith et al (2004)], el objetivo es que las estructuras anatómicas representadas en todos los volúmenes coincidan en su ubicación espacial.

Las imágenes funcionales obtenidas en los topillos de pradera son de baja resolución, desde el punto de vista anatómico, por lo tanto, se superponen en un

mapa de imágenes con mayor detalle anatómico que permita referenciar los resultados funcionales con localización anatómica lo más precisa posible.

El registro de las imágenes funcionales con la plantilla es simplemente llevar a estas al espacio de la plantilla, lo que se logra con una transformación lineal de doce grados de libertad que incluyen: rotaciones, traslaciones, escalamiento e inclinación, cada una de las cuales incluye tres grados de libertad, relacionado con cada uno de los tres ejes principales), y una transformación no-lineal (ajustes locales, i.e. aplicadas sólo en regiones específicas en vez de en todo el objeto). Una vez realizadas las transformaciones espaciales, para registrar las imágenes funcionales en las estructurales, cada elemento registrado es re-escalado a una resolución final de 0.4x.04x0.4 mm³, para poder hacer el análisis en el software FSL v5.0.9.

3.6 Análisis de componentes independientes

La técnica de análisis de componentes independientes (ICA, siglas en inglés), es una técnica que separa un conjunto de señales en componentes independientes. Esta técnica considera que los datos observados son una combinación lineal de fuentes de señal estadísticamente independientes, específicamente, dado un grupo de n señales $\mathbf{x}_i(t)$ discretas y temporalmente independientes:

$$\mathbf{x}_1(t), \mathbf{x}_2(t) \dots \mathbf{x}_n(t)$$

Las cuales se pueden representar por una matriz de datos \mathbf{X} , ecuación 3.1

$$\mathbf{X} = \begin{pmatrix} x_1(t) \\ x_2(t) \\ \vdots \\ x_n(t) \end{pmatrix} \quad 3.1$$

Por otra parte, se debe considerar que las señales se generaron como una combinación lineal de m fuentes de señales independientes:

$$s_1(t), s_2(t) \dots s_m(t)$$

de tal manera que cada elemento de la matriz \mathbf{X} , ecuación 3.1, es una combinación lineal de las señales y los términos a_{ij} , ecuación 3,2:

$$x_i(t) = a_{i,1}s_1(t) + a_{i,2}s_2(t) + \dots + a_{i,m}s_m(t), \quad \text{para } i = 1 \dots n. \quad 3.2$$

que representado en forma matricial es:

$$\mathbf{X} = \mathbf{A}\mathbf{S} \quad 3.3$$

La matriz \mathbf{A} es desconocida, y cada uno de sus elementos representa la contribución relativa de cada intensidad de señal proporcionada por cada fuente independiente $s_i(t)$ a la combinación $x_i(t)$. El objetivo de ICA es recuperar las señales $\check{s}_j(t)$, ecuación 3.4, cuando se tiene únicamente la información del vector $x_i(t)$, con lo que se obtienen estimaciones de las fuentes, para adquirir la matriz de separación \mathbf{W} , que es la matriz inversa de la matriz \mathbf{A} ($\mathbf{W} = \mathbf{A}^{-1}$). Esta matriz minimiza los elementos $a_{i,j}$ de la combinación lineal $x_i(t)$, de tal manera que se puede construir una combinación lineal de la señal $\check{s}_j(t)$ de la siguiente manera:

$$\check{s}_j(t) = w_{j,1} x_1(t) + w_{j,2} x_2(t) + \dots + w_{j,n} x_n(t) \quad 3.4$$

La ecuación 3.4 se puede representar en forma de matricial, ecuación 3.5, y que es muy similar a la ecuación 3.3, solo que en esta última se utiliza la matriz \mathbf{W} .

$$\hat{\mathbf{S}} = \mathbf{W} \mathbf{X} \quad 3.5$$

Con este proceso estadístico se garantiza que las fuentes de señales sean consideradas, también, estadísticamente independientes. La Figura 14 es una representación en forma de diagrama del proceso descrito y que realiza ICA para separar diferentes fuentes [Ganesh et al (2011)].

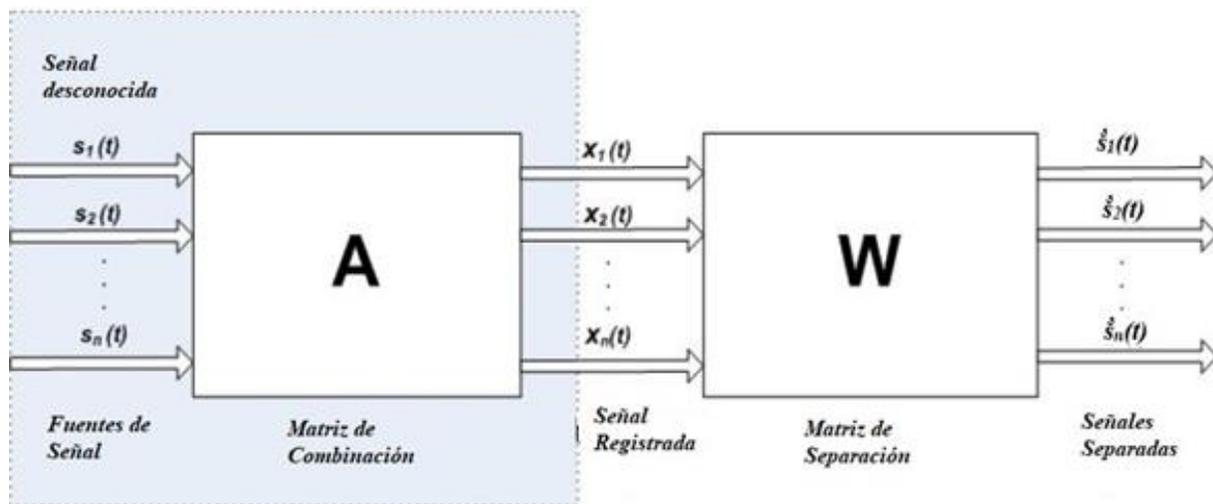


Figura 14. Diagrama de bloques de separación de fuentes ocultas (BSS, siglas en inglés). $s(t)$ son las fuentes, $x(t)$ las señales registradas, $\hat{S}(t)$ son las fuentes estimadas, A es la matriz de combinación y W es la matriz de separación.

El análisis estadístico realizado con ICA es utilizado en casi todos los análisis que se realizan en imagen funcionales, porque proporciona información con énfasis en las variaciones y ortogonalidad de las fuentes de señales. Esta característica del análisis garantiza obtener mapas de actividad, es decir, fuentes de señal, que resultan relativamente sencillos de interpretar. Sin embargo, para obtener mapas de actividad confiables, con ICA, se necesita que los datos cumplan tres premisas [Ganesh et al (2011)]:

- *Las fuentes a considerar tienen que ser estadísticamente independientes.* es decir, el resultado de una no influye en el resultado de la otra y viceversa.

- *Las componentes independientes deben tener una distribución no- Gaussiana.* Es decir, que de acuerdo con el teorema del límite central la distribución de una suma de las señales independientes con distribución arbitraria no tienda a una distribución gaussiana. Es imposible separar fuentes con distribuciones gaussianas por el método ICA.

- *La matriz de combinación debe ser invertible.* Si esto no se cumple, entonces no podemos obtener la matriz de separación.

El análisis estadístico ICA permite obtener información de voxels en la imagen que presentan actividad, fuentes de señal, al mismo tiempo y relacionadas entre sí. Esto permite construir estructuras espacio-temporal de los datos, a través de mapas espaciales estadísticamente independientes [Beckmann et al (2005)]. Por ejemplo, para obtener la actividad de la segunda fuente $\hat{s}_2(t)$, es decir, la segunda componente independiente, se multiplica el segundo renglón de la matriz W, por el vector X [Ganesh et al (2011)]. Algo importante de los análisis ICA es que en estadísticas de orden superior es mejor la dispersión de la solución, es decir, permite una mejor clasificación de señal como función de la activación respecto de la señal de ruido fisiológicos [Wu et al (2006)]. Analizados realizado con ICA identifican componentes que parecen presentar correspondencia funcional relevante de redes corticales tales como circuito sensitivo-motor y visual [McKeown et al (1998), Wu et al (2006), Gregory (2011)], así como, componentes relacionadas a procesos fisiológico, como ritmo cardiaco, respiración y ruido no fisiológico, como artefactos de la imagen [Behzadi et al (2007)].

Capítulo 4. Resultados

Las imágenes obtenidas de la muestra de los topillos de la pradera son de dos tipos, estructurales y funcionales. Con las estructurales se genera la plantilla para superponer los resultados del análisis estadístico de las imágenes funcionales.

4.1 Plantilla de cerebro de topillo de la pradera

La plantilla del cerebro del topillo de la pradera que se obtiene presenta alto contraste entre sustancia gris, sustancia blanca y líquido cefalorraquídeo, en consecuencia, se logran diferenciar estructuras anatómicas gruesas, entre las que destacan los bulbos olfatorios, cerebelo y tronco cerebral como se muestra en la Figura 15a. Se creó una máscara binaria de sustancia no gris con ayuda de la segmentación del tejido, que incluye a la sustancia blanca (WM, siglas en inglés), fluido cerebroespinal (CSF, siglas en inglés) vasos y arterias grandes, Figura 15b, la información de la máscara binaria se utiliza para extraer señal asociada principalmente con ruido fisiológico y minimizar su efecto mediante un modelo de ajuste lineal generalizado. Por último, se crea una imagen 3D, Figura 15c.

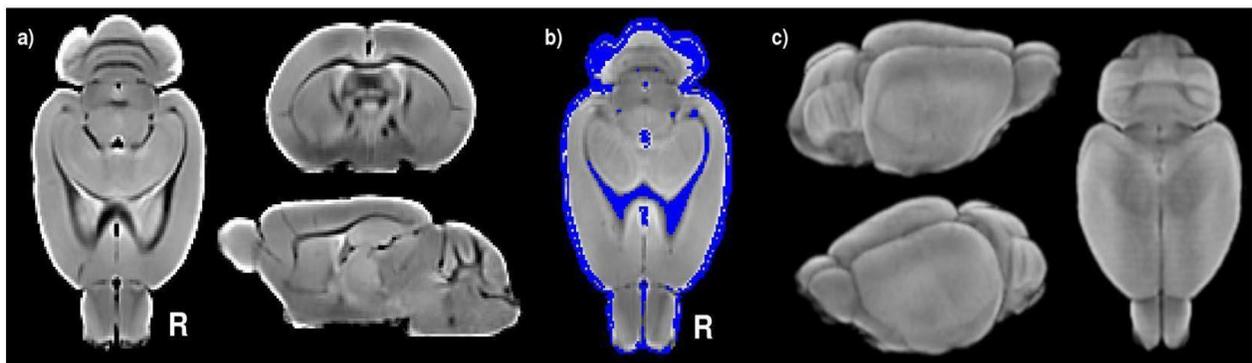


Figura 15. Plantilla de cerebro del topillo mostrando estructuras e intensidades. a) cortes axiales, coronal y sagital, (b) Máscara binaria de sustancia no gris (azul), y (c) Reproducción 3D. Modificado de Ortiz et al [228].

Se realizó un análisis de ICA por gupos (gICA, siglas en inglés), para mostrar redes neuronales funcionales a gran escala en el topillo de la pradera, utilizando la utilidad de “Descomposición Optimizada Lineal Multivariada Exploratoria en Componentes Independientes” (MELODIC, siglas en inglés) [Psich.colorado.edu, Beckmann et al (2004)], implementada en FSL. El análisis gICA se hizo concatenando las series temporales de todos los sujetos, con la finalidad de obtener componentes representativas de la muestra [McKeown et al (1998)]. La cantidad de componentes se estableció en 10 y 30, ya que estos números de redes han sido previamente explorados en humanos [Beckmann et al (2005), Xiong et al (1999), Di Marino et al (2008), Honey et al (2009)] y modelos animales [Rilling et al (2007), Jockers et al (2011), Hutchison et al (2011), Lu et al (2012), Nasrallah et al (2014), Mehling et al (2014), Gozzi et al (2016) Zhou et al (2016), Gorges et al (2017)]. Los mapas gICA se escalaron a puntajes Z y se estableció un punto de corte en $Z \geq 2.3$, basado en un modelo mixto Gaussiano/Gamma y un enfoque de prueba de hipótesis alternativo para identificar los voxeles conectados sobre los voxeles de fondo [Hartvig et al (2000), Wu et al (2006)]. Los mapas gICA fueron inspeccionados visualmente y etiquetados sobre su distribución y ubicación anatómica, para lo cual utilizamos el atlas del cerebro de ratón en coordenadas estereotáxicas de Paxinos [Paxinos et al (2008)].

4.2 Análisis gICA de 10 componentes

El análisis gICA de 10 componentes muestra cuatro estructuras asociadas con corteza motora y sensorial, la potencial red de selección/atención y la red modo basal, algunas estructuras centradas en el cuerpo estriado, el tálamo y el hipocampo ventral, Figura 14. Además, el registró de regiones de tipo artefacto de origen no cerebral, tanto de gICA10 como de gICA30, Figura 16. La identificación de las

estructuras se basó en la distribución espacial y la localización de sus valores máximos, guiadas con el atlas estereotáxico cerebral de ratón [Paxinos et al 2008)]. Específicamente, tres de las cuatro estructuras sensoriales/motoras mostradas en la Figura 16a presentan patrones de conectividad simétricos, cubriendo principalmente las cortezas motora y somatosensorial (IC01, IC02, IC05), pero también incluye conectividad con el cuerpo estriado y los bulbos olfatorios. La otra estructura etiquetada como sensorial/motora (IC08) mostró un patrón bastante simétrico, sin embargo, los máximos valores se presentaron en colículos, incluyendo grupos bilaterales en el lóbulo occipital caudal (corteza visual). La componente (IC09) muestra conectividad funcional bilateral simétrica en el cuerpo estriado anterior y la corteza frontal de asociación, Figura 16b. La componente etiquetada como red modo basal (IC10) incluye, principalmente, la corteza retrosplenial (cíngulo posterior), occipital (visual), corteza del cíngulo anterior y orbitofrontal medial, así como el hipocampo y el estriado, Figura 16c. La red etiquetada como selección/atención (salience network, siglas en ingles), muestra valores máximos locales en el cíngulo anterior y la región insular bilateral (IC06), Figura 16d. Las componentes (IC03, IC04), cubren el hipocampo y la corteza entorrinal, y también incluye el tálamo bilateral, Figura 14e. Estas regiones también se han relacionado con la red modo basal. Finalmente, se identificó un componente no cerebral, que muestra valores máximos fuera del cerebro, Figura 17a. Esta componente parece influenciada por señal residual del fluido cerebroespinal (CSF).

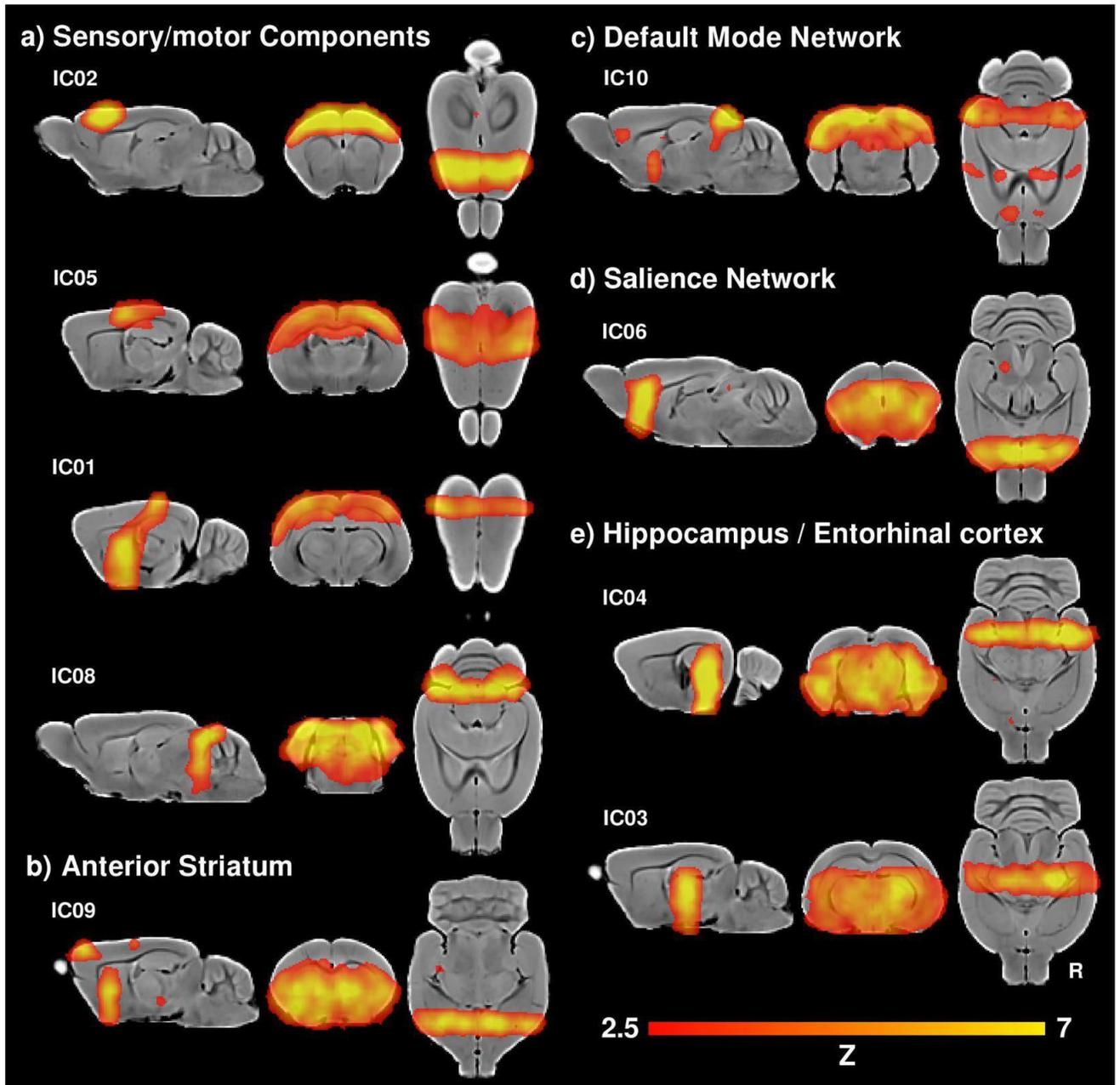


Figura 16. Análisis gICA de 10 componentes. a) Componente sensor/motoras, incluyendo corteza Motora (IC02), corteza parietal (IC01, IC05), colículo (IC08). b) Estriado y corteza frontal de asociación. c) Red modo basal. (d) Red de selección/atención. e) Hipocampo y corteza entorrinal (IC03, IC04). Modificada de Ortiz [Ortiz et al (2018)].

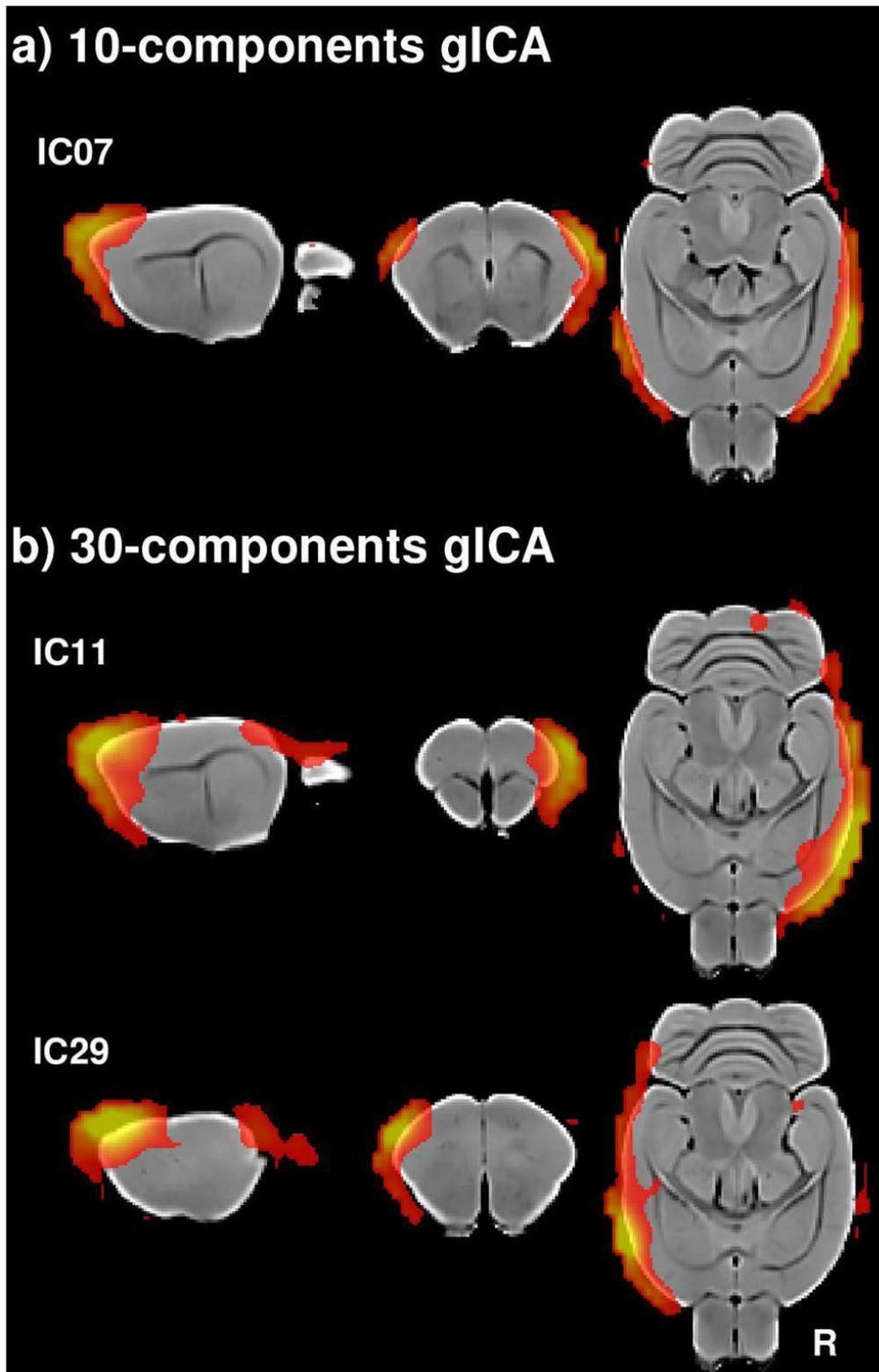


Figura 17. Componentes de artefactos. a) Análisis gICA de 10 componentes. b) Análisis gICA de 30 componentes. Modificada de Ortiz [Ortiz et al (2018)].

4.3 Análisis gICA de 30 componentes

El análisis gICA de 30 componentes registra y muestra regiones previamente identificadas con el análisis de menos componentes, Figura 16, sin embargo, también muestra regiones sin conectividad significativa, Figura 17b

Específicamente el análisis gICA de 30 componentes registra varias estructuras motoras y sensitivas, también identifica la red de modo basal y la red de selección/atención. Aunque la red modo basal fue subdividida en al menos tres componentes, resultado de gICA 10 componentes, algunas de estas fueron adjudicadas al estriado, al hipocampo y a la corteza entorrinal, Figura 18. Sumado a lo anterior, se encontraron tres estructuras que cubren los bulbos olfatorios, Figura 18a, y se identificaron cinco estructuras cerebelares, Figura 18f. Finalmente, se identificaron dos componentes relacionadas con artefactos extra cerebrales, Figura 17b. Otras seis componentes, relacionadas con el área sensorial, mostraron patrones similares, a los encontrados en gICA10, revelando alta simetría en los patrones de conectividad, que principalmente cubren corteza visual, corteza motora y corteza somatosensorial (IC07-IC10, IC19, IC20), Figura 18a. Una de estas componentes gICA mostró un patrón simétrico con valores máximos en los colículos (IC16), Figura 16a. Por otra parte, los bulbos olfatorios mostraron patrones de conectividad funcional muy intensos, Figura 18a, distribuidos en tres componentes: dorsal anterior (IC27), ventral anterior (IC28) y ventral posterior (IC24), contrario a lo registrado en gICA10. La Figura 18b muestra que tres estructuras que al parecer forman parte de la red modo basal, dos anteriores y una posterior, la estructura anterior incluye corteza prefrontal de asociación (IC21) y corteza orbitofrontal (IC04), en tanto que la estructura posterior se refiere a la corteza de asociación parietal y retrosplenial (IC18). La Figura 18c muestra valores máximos en el

cíngulo anterior y regiones insulares (IC15), que corresponden a la red de selección/atención. Estos valores son consistentes con lo identificado en análisis gICA de menos componentes, y también presentan correspondencia similar a las estructuras ya identificadas en el cerebro del ratón [Lu et al (2012), Nasrallah et al (2014), Gozzi et al (2016)]. La Figura 18d muestra cinco estructuras con valores máximos en el cuerpo estriado y corteza adyacente, de las componentes que se encuentran en el estriado, la que se encuentra en el estriado ventral anterior de manera bilateral presenta valor máximo, mientras que los otros cuatro presentan patrones de conectividad, principalmente, de manera unilateral, dos de ellas muestran valores máximos en el hemisferio izquierdo (IC01, IC03) y las otros dos en el hemisferio derecho (IC05, IC12). En la Figura 16e se muestran otras cuatro componentes con patrones de conectividad unilateral dentro del hipocampo y en la corteza entorrinal, distribuyéndose dos en cada hemisferio. El análisis gICA30 muestra estructuras del cerebelo, Figura 18f, a diferencia del mismo análisis con menos componentes, este muestra varias componentes de patrones de conectividad funcional ligados al cerebelo. Cinco componentes muestran distribución bilateral, principalmente dentro del cerebelo, pero también muestran conectividad con corteza frontal, estriado e hipocampo. Finalmente, se encuentran dos estructuras con análisis gICA de más componentes que se etiquetaron como tipo artefacto no cerebral, Figura 15b, mostrando valores máximos fuera del cerebro, lateralmente (IC11, IC29), similar a la componente de tipo artefacto identificadas con el análisis de gICA de 10 componentes (IC07), Figura 17a.

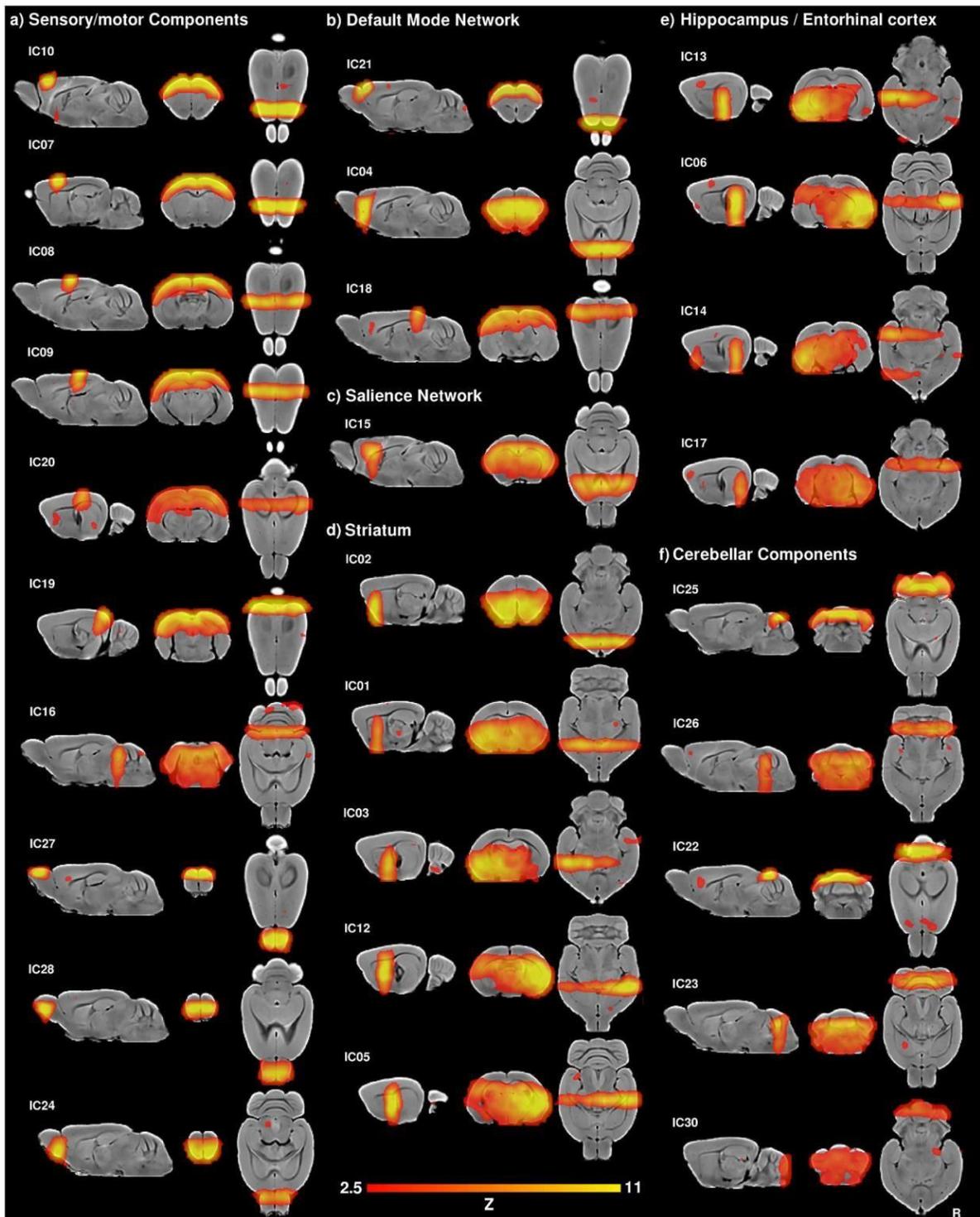


Figura 18. Análisis gICA de 30 componentes. a) Componente sensor/motora (IC07- IC10, IC20), corteza occipital (IC19), colículos (IC16) y bulbo olfatorio (IC24, IC27, IC28). b) Red modo basal (IC21), corteza orbitofrontal (IC04), corteza retrosplenial y corteza parietal (IC18). c) Red de selección/atención (IC15). d) Estriado. e) Hipocampo y corteza entorrinal. f) Componentes Cerebelares. Modificada de Ortiz [Ortiz et al (2018)]

Capítulo 5 Discusión

En este trabajo se identificaron redes funcionales en estado de reposo en el topillo de la pradera, correspondientes a las cortezas motora y sensitiva, incluyendo las potenciales redes de modo basal y de selección/atención. Los resultados obtenidos, concuerdan con resultados similares realizados en: roedores [Jonckers et al (2011), Luet al(2012), Mechling et al (2014), Nasrallah et al (2014), Sforazzini et al (2014), Staffort et al (2014) Grandjean et al (2014), Gozzi et al (2016),135,137-141], hurones [Zhou et al (2016)], primates no humanos [Hutchinson et al (2011), Barks et al (2015)] y humanos [Hagmann et al (2008), Di Martino et al (2008), O'Reilly et al (2010), Martuzzi et al (210)]. La similitud de los resultados en los topillos de la pradera y los obtenidos en otras especies muestra que la aplicación de esta técnica de imagen y su análisis para crear mapas cerebrales es confiable. Por otra parte, los mapas funcionales clasificados en el topillo de la pradera son innovadores, ya que hasta la fecha no se había hecho ninguna clasificación de este tipo de mapas. Esto permite confiar que los estudios de IRMfer en estos roedores son viables, y sirven para caracterizar organización funcional cerebral con potenciales aplicaciones en investigación básica y traslacional enfocada a conductas sociales complejas.

5.1 Redes funcionales en estado de reposo en el topillo de la pradera

Las redes neuronales identificadas en el topillo de la pradera, utilizando el análisis estadístico por grupos gICA, de 10 y 30 componentes, respectivamente, muestran algunas similitudes que se discuten a continuación.

1. Las redes identificadas en las cortezas motora y sensitiva, muestran patrones simétricos entre ambos hemisferios para ambos grupos de componentes.

Las componentes IC02 e IC10, respectivamente, incluyen la corteza motora primaria y secundaria, mientras que las componentes IC01 e IC05 y el rango de componentes IC07-IC09, parecen cubrir corteza somatosensorial y motora. La superposición de la corteza motora y somatosensorial en la misma componente en estado de reposo no resulta sorprendente, debido a la integración sensitivo-motora cortical identificada en roedores y humanos [Wolpert et al (1995)]. De hecho, en estudios en humanos se ha mostrado que la corteza somatosensorial y la corteza motora se localizan dentro de la misma componente, y se refiere a ésta como la red sensoriomotora [Ferezu et al (2007), Martuzi et al (2007)]. Ambos análisis, además, identificaron un componente emergente sorprendentemente similar al colículo y una componente que incluye el lóbulo occipital caudal (corteza visual) y el colículo superior. Estos resultados muestran, de manera robusta, redes en estado de reposo sensorial y motora, similares a las identificadas en el cerebro de ratón y rata [Hutchison et al (2010), Jonckers et al (2011), Gozzi et al (2016)].

2. En ambos análisis, se identificaron las potenciales redes de selección/atención y de modo basal.

El análisis gICA de bajas componentes, identificó una sola estructura de la red modo basal, incluso en aquellas regiones típicas de esta red: la corteza retrosplenial y la corteza orbitofrontal medial, así como, la corteza occipital (visual), el estriado posterior e hipocampo, como lo muestra la Figura 9b. Por su parte, el análisis gICA de más componentes, muestra tres estructuras relacionadas con las regiones de la red modo basal, de las cuales dos son anteriores y una posterior, como lo muestra la Figura 18b. Las componentes anteriores incluyen la corteza de asociación frontal (IC21) y la orbitofrontal (IC04), mientras que la componente posterior incluye la

corteza retrosplenial y la corteza de asociación parietal (IC18). Estudios previos de IRMfer en cerebros de roedores han identificado mapas de conectividad similares de la red modo basal. En particular, un análisis gICA de pocas componentes (5 componentes) identificó la corteza retrosplenial, corteza del cíngulo anterior y corteza orbitofrontal, entre otras estructuras en el cerebro del ratón [Stafford et al (2014)]. Sin embargo, varios estudios han mostrado, en análisis gICA de más componentes, que la red modo basal se segrega en por lo menos una componente anterior y una componente posterior en ratones y ratas [Jonckers et al (2011), Nasllarah et al (2014), Stafford et al (2014)]. Otros estudios, realizados en otras especies, como el hurón [Zhuo et al (2016)] y primates no humanos [Margulies et al (2009), Vincent et al (2010), Hutchison et al (2011), Hutchison et al (2012), Barks et al (2015)], muestran división en componentes anterior y posterior. Esos patrones de segregación son consistentes con la naturaleza de tipo modular de la red modo basal descrita en cerebro humano, siendo la corteza prefrontal medial y la corteza del cíngulo posterior, dos nodos centro (hubs) de regiones con alta conectividad funcional cerebral [Buckner et al (2009), Tomasi et al (2011), Van den Heuvel et al (2013)].

3. En ambos análisis son evidentes componentes subcorticales.

El análisis gICA de menos componentes mostró mapas de estructuras subcorticales bilaterales. Sin embargo, el análisis de gICA de más componentes, también muestra estos mapas, solo que en patrones segregados unilateral (Figuras 16 y 18). Estos resultados son consistentes con resultados previos al utilizar ICA para mostrar componentes bilaterales y unilaterales en el hipocampo y el cuerpo estriado del cerebro de roedores [Hutchison et al (2010), Jonckers et al (2011), Nasrallah et al (2014)]. Cabe mencionar que el análisis de más componentes permitió identificar y clasificar redes que no eran evidentes en el análisis de menos componentes,

específicamente, el de más componentes muestra tres estructuras en los bulbos olfatorios y cinco del cerebelo, los patrones de conectividad de estas estructuras pudieran reflejar cierto grado de segregación funcional en los bulbos olfatorios y cerebelo.

La división de los bulbos olfatorios en tres componentes: un segmento ventral posterior y dos componentes rostrales, de las cuales uno es dorsal y el otro ventral, podría estar relacionada con la organización funcional de los bulbos olfatorios. Esta hipótesis es consistente con estudios realizados que describen que los glomérulos (receptores odorantes en los bulbos olfatorios) se organizan en grupos sensibles a una combinación similar de características moleculares. Al menos, dos conjuntos de grupos han sido definidos, uno en la porción dorsal y otro en la porción lateral posterior de los bulbos olfatorios [Mori (2009)], que parecen coincidir con la distribución general de las componentes aquí identificadas. Sin embargo, se requiere más investigación para entender el papel funcional de estos patrones de segregación.

En general, las redes funcionales en reposo aquí descritas muestran una organización modular y potencialmente jerárquica, que resulta similar a las identificadas en otras especies y en el cerebro humano. Se necesita más investigación para explorar la relevancia funcional de estos patrones de conectividad y su potencial utilidad como biomarcadores de la función neurobiológica y de condiciones patológicas en los topillos de la pradera.

5.2 Red modo basal

En cuanto a la identificación de la red modo basal, los trabajos previos y este trabajo, se basan en la distribución anatómica de los patrones de conectividad, incluyendo principalmente la corteza medial prefrontal y la corteza retrosplenial.

Una descripción más precisa de la red modo basal implicaría la detección de niveles reducidos de conectividad mientras se realizan tareas externas orientadas [Richle et al (2001), Fransson (2006), Richle (2015)], situación que se ha demostrado en primates no humanos [Mantini et al (2011), Braks et al (2015)], pero no ha sido estudiada en roedores debido a la complejidad de implementar neuroimagen funcional con tareas específicas para estas especies. Existen evidencias que respaldan el significado funcional de la red modo basal en roedores, un estudio reciente en ratas mostró modulación de la conectividad funcional entre la corteza prelímbica y la corteza retrosplenial (nodos principales de la red modo basal), alternando periodos de tareas y actividad, resultados que no muestran redes sensoriomotoras [Li et al (2015)]. En este trabajo, utilizando la correlación de lecturas de oxígeno [Francois et al (2012), Li et al (2014)] como una medida de conectividad funcional, se obtuvieron resultados similares a los encontrados en humanos y primates no humanos, sugiriendo la existencia de al menos un precursor de la red modo basal en el cerebro de roedores.

Los estudios realizados en humanos han atribuido la relevancia de la red modo basal a funciones de orden superior relacionados con el comportamiento social humano como la autoconciencia y la teoría de la mente [Mars et al (2012)]. Sin embargo, resultados recientes sugieren la importancia de la integridad de esta red en roedores para mantener los comportamientos sociales adecuados. Se demostró que ratas expuestas al estrés crónico presentan alteraciones del comportamiento relacionadas con ansiedad y depresión, reflejando esto como un incremento en la conectividad funcional de la red modo basal [Henckens et al (2015)]. Otros estudios están enfocados en patologías específicas, por ejemplo, se ha mostrado que estudios de IRMfer en roedores presenta alteraciones en la red modo basal en una serie de modelos de autismo [Whashington et al (2014)] y en estudios donde se induce

depresión por estrés psicosocial [Sheline et al (2009)]. Estos resultados sugieren un vínculo entre la red modo basal en el cerebro de roedores y su comportamiento social. Los resultados obtenidos en los topillos de la pradera, específicamente los mapas de la red modo basal, son muy relevantes, debido a que estos roedores tienen comportamiento social más complejo que el que presentan ratas y ratones, y en algunos aspectos similar al del humano, como se mencionó en la Capítulo 1.

5.3 Posibles Aplicaciones

Las aplicaciones de la neuroimagen funcional de la actividad espontánea en esta especie resultan un modelo interesante en el sentido que presentan algunos comportamientos sociales similares a ciertos comportamientos sociales humanos. Pudiendo utilizarse en alteración en desórdenes psiquiátricos.

Esta plenamente establecido que la modulación del sistema de recompensa en los topillos de la pradera es fundamental para el proceso de vinculación social, estos resultados están estrechamente ligados al estudio de las funciones de la oxitocina, dopamina, y arginina-vasopresina, así como los circuitos neuronales donde se liberan y captan estas, Capítulo 1. Estas componentes neuronales funcionan como un sistema de recompensa para el vínculo de pareja en esta especie [Young et al (2004), Johnson et al (2015), Johnson et al (2016), Johnson et al (2017)]. También, se establecido que la densidad de receptores de dopamina se incrementa significativamente en el núcleo accumbens después de dos semanas de mantener preferencia de pareja [Aragona et al (2006)]. Estos son rasgos característicos de cambios por plasticidad cerebral inducidos por el sistema de recompensa y asociados con vinculación social. Recientemente se demostró, utilizando optogenética y electrofisiología, que la modulación de la conectividad funcional corticoestriatal mejora el comportamiento filial a una pareja [Amadei et al (2017)].

En contraste, estudios de neuroimagen en humanos, dirigidos al amor entre pareja (romántico) y el amor entre hijo y padres han mostrado la importancia de las redes cerebrales asociadas a recompensa, motivación y emoción [Skuse et al (2014, King et al (2016)]. También se ha demostrado, por ejemplo, que el amor de pareja en humanos incrementa la conectividad funcional de las redes de recompensa, motivación y memoria, aún en estado de reposo [Acevedo et al (2011), Song et al (2015)]. Futuros estudios deberán probar si los topillos de la pradera muestran diferencias de la conectividad funcional en estado de reposo antes y después de la vinculación de pareja, especialmente entre la corteza frontal y el cuerpo estriado.

Por otra parte, estudios de neuroimagen en trastornos psiquiátricos relacionados con comportamiento social anormal han identificado alteraciones en la conectividad funcional cerebral en humanos. Entre estos está el espectro autista (EA o ASD, siglas en inglés) que se ha relacionado con una variedad de alteraciones de la conectividad funcional en estado de reposo [Hull et al (2016)]. La investigación de neuroimagen funcional en modelos animales puede contribuir a identificar las bases neurobiológicas de los hallazgos en humanos [Liska et al (2016)]. Como muestra de ello, un estudio reciente en un modelo transgénico de ratón (cntnap2-null), que se enfoca en recrear las características del deterioro en el comportamiento social asociado al EA, que demostró disminución de la conectividad funcional en estructuras distantes y estructuras próximas en regiones media y prefrontal del cerebro, particularmente, la poca interacción social fue asociada con alteraciones de la conectividad de la red modo basal [Liska et al (2017)]. Dado que el topillo de la pradera promete ser un modelo animal interesante para estudiar comportamientos sociales similares al comportamiento humano [McGraw et al (2010)]. La neuroimagen funcional del topillo de la pradera podría expandir los conocimientos que se tienen de la neurobiología de los descubrimientos en humanos relacionados con el EA, en particular, los topillos de

la pradera y los humanos presentan variaciones similares en los genes que están asociados con la distribución de receptores de vasopresina 1a (avpr1a) [Hammock et al (2005)], y con receptores de OT [Hammock et al (2006)], cuyas alteraciones en humanos pueden contribuir a alteraciones sociales identificadas en EA [Kim et al (2002), Wassink et al (2004), Young et al (2015)]. Nuevas investigaciones deberán estudiar la similitud de la conectividad funcional en estado de reposo en ambas especies y la relación de esta conectividad con variaciones genéticas, y de cómo estas variaciones genéticas están relacionadas con el comportamiento social. La disminución de la conectividad funcional entre el núcleo accumbens y la corteza prefrontal, en estudios humanos, se asocia con el trastorno de ansiedad, un trastorno psiquiátrico crónico que hace que el paciente evite situaciones sociales [Skuse et al (2014)]. Por lo que resulta importante investigar si un daño en esta conectividad conlleva el mismo efecto en esta especie, relacionado al vínculo social de pareja de esta especie, utilizando los mapas de conectividad obtenidos. Este resultado sugiere que mecanismos similares pero opuestos pueden mediar la formación de vínculos sociales relevantes y a la vez, el aislamiento social. En consecuencia, la técnica de IRMfer proporciona una herramienta no invasiva que permite identificar circuitos cerebrales asociados a estas conductas complejas. Se sabe que el aislamiento social en topillos de la pradera afecta la neurogénesis [Manning et al (2015)], produce alteraciones en la función neuroendocrina [Lieberwirth et al (2012)], e induce cambios en comportamientos similares a los descritos en el trastorno de ansiedad y estados de ánimo [Grippe et al (2007), Grippe et al (2008)].

Los resultados obtenidos en este trabajo permitieron construir ciertos mapas del topillo de la pradera, con la técnica de imagen por resonancia magnética funcional en estado de reposo. La pregunta importante en este punto es: ¿es posible detectar cambios en la conectividad del topillo de la pradera en estado de reposo similares

a los encontrados en humanos con trastornos afectivos, incluyendo trastorno de ansiedad social? [Greicius et al (2007), Etkin et al (2009), Liao et al (2010), Sheline et al (2010) Veer et al (2010)]. Estudios futuros deberán investigar la relación de las redes funcionales de esta especie como función del abandono de las crías en los primeros años de vida y la variación genética en OT y AVPR1A, así como las variaciones genéticas inducidas por el medio ambiente, que se sabe influyen en su comportamiento social [Olazabal et al (2006), Keebaugh et al (2015), Johnson et al (2015), Johnson et al (2017)].

5.4 Limitaciones

En este trabajo se presentaron factores que pueden ser retos o limitantes. Uno fue ajustar los niveles de anestesia para evitar que la muestra se mueva durante el proceso de escaneo. La técnica de IRMfer tiene la desventaja de proporcionar imágenes de mala calidad, si la muestra a escanear se mueve, sin embargo, algunos de estos inconvenientes se pueden corregir con herramientas de pos-procesamiento. Aun con estas correcciones, se tuvo que descartar un cincuenta por ciento de las muestras estructurales, por su mala calidad.

Las imágenes se obtuvieron con la muestra anestesiada, alterando lo menos posible la actividad espontánea del cerebro, el grado óptimo que utilizamos de anestésico (isoflurano), fue del 1% en el proceso de escaneo, con una mezcla de aire al 2.5%. Se ha demostrado que dosis más altas de isoflurano interrumpen la conectividad cortical bilateral y la conectividad cortical-subcortical en ratones [Veer et al (2010)]. Sin embargo, la dosis utilizada en este trabajo nos permitió identificar conectividad bilateral y cortical-subcortical, sugiriendo que la anestesia no modificó de manera significativa los patrones de conectividad de la actividad espontánea reportada aquí. Aunque es posible obtener neuroimagen funcional en

topillos de la pradera despiertos, los procesos de entrenamiento para esto no reducen los artefactos por movimiento, y sin embargo, inducen un incremento significativo en el estrés del topillo e incluso se ha reportado daño físico bajo este tipo de diseños [Peltier et al (2005)]. El estrés al que se someterían los animales sin anestesia podría afectar significativamente la conectividad funcional [Veer et al (2010)] y promover cambios de comportamiento asociados a la ansiedad y la depresión [Grippe et al (2007)]. En este trabajo se realizaron estudios de neuroimagen en topillos de la pradera machos, una extensión necesaria de este trabajo es hacer lo mismo con topillos de la pradera hembras y comparar si existen diferencias en las redes descritas debido al sexo, ya que muchos de los mecanismos neurobiológicos de la formación del vínculo de pareja son específicos del sexo [Lisa et al (2007), Smith et al (2013), Ulloa et al (2017)].

5.5 Conclusión

Los resultados obtenidos confirman la presencia de redes de conectividad funcional simétricas muy consistentes con aquellas identificadas en otros roedores, primate no humano y humanos. Estos hallazgos permiten sentar las bases para el uso de esta técnica en la investigación básica y traslacional en el topillo de la pradera en tópicos asociados al comportamiento social complejo mostrado por esta especie. Se espera que la IRMfer en esta especie ayude a cerrar la brecha entre las propiedades de la organización funcional cerebral a gran escala, los mecanismos celulares y las bases moleculares relacionados con la cognición social. Para estudios dirigidos al desarrollo normal, adicciones y desórdenes neuropsiquiátricos.

Bibliografía

- Acevedo, B.P., Aron, A., Fisher, H.E., Brown, L.L. (2011) Neural correlates of long-term intense romantic love. *Soc Cogn Affect Neurosci*:1-15.
- Ahern, T. H. and Young, L. J. (2009) The impact of early life family structure on adult social attachment, alloparental behavior, and the neuropeptide systems regulating affiliative behaviors in the monogamous prairie vole (*Microtus ochrogaster*). *Front. Behav. Neurosci.* 3, 17.
- Amadei, E.A., Johnson, Z.V., Kwon, Y.J., Shpiner, A.C., Saravanan, V., Mays, W.D., Ryan, S.J., Walum, H., Rainnie, D.G., Young, L.J., and Liu, R.C. (2017) Dynamic corticostriatal activity biases social bonding in monogamous female prairie voles. *Nature* 546, 297–301.
- Amaro, E., Barker, G.J. (2006) Study design in fMRI: Basic principles, *Brain and Cognition*.
- Aragona, B. J., Liu, Y., Yu, Y.J., Curtis, J.T., Detwiler, J.M., Instel, T.R. and Wang, Z. (2006) Nucleus accumbens dopamine differentially mediates the formation and maintenance of monogamous pair bonds. *Nat. Neurosci.* 9, 133–139.
- Aragona, B.J., and Wang, Z. (2004) The Prairie Vole (*Microtus ochrogaster*): An Animal Model for Behavioral Neuroendocrine Research on Pair Bonding. *ILAR Journal*, Vol 45, Number 1.
- Arieli, A., Shoham, D., Hildesheim, R., Grinvald, A. (1995) Coherent spatiotemporal patterns of ongoing activity revealed by real-time optical imaging coupled with single-unit recording in the cat visual cortex. *J Neurophysiol* 73:2072–2093.
- Arieli, A., Sterkin, A., Grinvald, A., Aertsen, A. (1996) Dynamics of ongoing activity: Explanation of the large variability in evoked cortical responses. *Science* 273:1868–1871.
- Avants, B.B., Tustison, N.J., Song, G., Cook, P.A., Klein, A. and Gee, J.C. (2011) A reproducible evaluation of ANTs similarity metric performance in brain image registration. *Neuroimage* 54, 2033–2044.
- Avants, B.B., Yushkevich, P., Pluta, J., Minkoff, D., Korczykowski, M., Detre, J. and Gee, J.C. (2010) The optimal template effect in hippocampus studies of diseased populations. *Neuroimage* 49, 2457–2466.
- Bales, K.L., Mason, W.A., Catana, C., Cherry, S.R., Mendoza, S.P. (2007) Neural correlates of pair-bonding in a monogamous primate. *Brain Res*, 1184:245-253.
- Bandettini, P. A., Wong, E. C., Hinks, R. S., Tikofsky, R. S. and Hyde, J. S. (1992) Time Course EPI of Human Brain Function During Task Activation. *Magn. Reson. Med.* 25:390-397.
- Barks, S. K., Parr, L. A. and Rilling, J. K. (2015) The Default Mode Network in Chimpanzees (*Pan troglodytes*) is Similar to That of Humans. *Cereb. Cortex* 25, 538–544.
- Barrett, C. E., Arambula, S. E. and Young, L. J. (2015) The oxytocin system promotes resilience to the effects of neonatal isolation on adult social attachment in female prairie voles. *Transl. Psychiatry* 5, e606.
- Bartz, J.A., Hollander, E. (2006) The neuroscience of affiliation: forging links between basic and clinical research on neuropeptides and social behavior. *Horm Behav*, 50:518-528.
- Baskerville, T.A. and Douglas, A.J. (2010) Dopamine and Oxytocin Interactions Underlying Behaviors: Potential Contributions to Behavioral Disorders. *CNS Neuroscience and Therapeutics* 16.
- Bauer, W. R. and Schulten, K. (1992) Theory of contrast agents in magnetic resonance imaging: coupling of spin relaxation and transport. *Magn. Reson. Med.* 26, 16–39.

- Beckmann, C.F., DeLuca, M., Devlin, J.T., Smith, S.M. (2005) Investigations into resting-state connectivity using independent component analysis. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 360:1001–1013.
- Beckmann C.F. and Smith S.M. (2004). Probabilistic independent component analysis for functional magnetic resonance imaging. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, Volume 23, Issue 2.
- Behzadi, Y., Restom, K., Liau, J. and Liu, T. T. (2007) A component-based noise correction method (CompCor) for BOLD and perfusion-based fMRI. *Neuroimage* 37, 90–101.
- Belliveau, J. W., Kennedy, D. N., McKinstry, R. C., Buchbinder, B. R., Weisskoff, R. M., Cohen, M. S., Vevea, J. M., Brady, T. J. and Rosen, B. R. (1991) Functional Mapping of the Human Visual Cortex by Magnetic Resonance Imaging. *Science* 254, 716-719.
- Bandettini, P. A., Wong, E. C., Jesmanowicz, A., Hinks, R. S., & Hyde, J. S. (1994). Spin Echo and gradient echo EPI of human brain activation using BOLD contrast: a comparative study at 1.5T. *NMR in Biomedicine*, 7, 12–20.
- Biswal, B., Yetkin, F.Z., Haughton, V.M., Hyde, J.S. (1995) Functional connectivity in the motor cortex of resting human brain using echoplanar MRI. *Magn Reson Med* 34(4):537–541.
- Bosch, O. J., Dabrowska J., Franklin R., Modi M.E., Johnson Z.V., Keebaugh A.C., Barrett C.E., Ahern T.H., Guo J., Grinevich V., and Rainnie D., (2016) Oxytocin in the nucleus accumbens shell reverses CRFR2-evoked passive stress-coping after partner loss in monogamous male prairie voles. *Psychoneuroendocrinology* 64, 66–78.
- Bosch, O. J., Nair, H. P., Ahern, T. H., Neumann, I. D. and Young, L. J. (2009) The CRF System Mediates Increased Passive Stress-Coping Behavior Following the Loss of a Bonded Partner in a Monogamous Rodent. *Neuropsychopharmacology* 34, 1406–1415.
- Bosch, O.J., Nair H.P., Ahern T.H., Neumann I.D., Young L.J. (2009) The CRF system mediates increased passive stress-coping behavior following the loss of a bonded partner in a monogamous rodent. *Neuropsychopharmacology*, 34:1406-1415.
- Brockway, J. P. (2000). Two functional magnetic resonance imaging (fMRI) tasks that may replace the gold standard, Wada testing, for language lateralization while giving additional localization information. *Brain and Cognition*, 43, 57–59.
- Buchanan, T. W., Lutz, K., Mirzazade, S., Specht, K., Shah, N. J., Zilles, K. (2000). Recognition of emotional prosody and verbal components of spoken language: An fMRI study. *Brain Research. Cognitive Brain Research*, 9, 227–238.
- Bruker (2014). ParaVision 6.0. OPERATING MANUAL. Version 1.0
- Buckner, R.L., Sepulcre, J., Talukdar, T., Krienen, F., Liu, H., Hedden, T., Andrews-Hanna, J.R., Sperling, R.A. and Johnson, K.A. (2009) Cortical Hubs Revealed by Intrinsic Functional Connectivity: Mapping, Assessment of Stability, and Relation to Alzheimer’s Disease. *J. Neurosci.* 29.
- Buxton, R. B., Wong, E. C., and Frank, L. R. (1998). Dynamics of blood flow and oxygenation changes during brain activation: The balloon model. *Magnetic Resonance in Medicine*, 39, 855–864.
- Buzsaki, G., Draguhn, A. (2004) Neuronal Oscillations in Cortical Networks. *Science* 304:1926–1929.
- Caldwell HK, Lee HJ, Macbeth AH, Young WS, (2008). Vasopressin: behavioral roles of an ‘original’ neuropeptide. *Prog Neurobiol.* 84: 1–24. [32]
- Carter, C.S., DeVries, A.C., Getz, L.L. (1995) Physiological substrates of mammalian monogamy: the prairie vole model. *Neurosci Biobehav Rev*, 19:303-314.

Carter, C.S., DeVries, A.C., Taymans, S.E., Roberts, R.L., Williams, J.R., Getz, L.L. (1997) Peptides, steroids, and pair bonding. *Ann N Y Acad Sci*, 807:260-272.

Carter, C.S., Grippo, A.J., Pournajafi-Nazarloo, H., Ruscio, M.G. and Porges, S.W. (2008) Oxytocin, vasopressin and sociality. *Prog Brain Res*; 170:331–336.

Champagne, F., J. Diorio, S. Sharma, and M.J. Meaney, (2001). Naturally occurring variations in maternal behavior in the rat are associated with differences in estrogen-inducible central oxytocin receptors. *PNAS*, 98(22): p. 12736-12741.

Chavhan G.B., Babyn Paul.S., ThomasB., Shroff M.M., Haacke E.M. (2009). Principles, Techniques, and Applications of T2*-based MR Imaging and Its Special Applications, *RadioGraphics*; Volume 29 • Number 5:1433–1449.

Cordes, D., Haughton V.M., Arfanakis K., Wendt G.J., Turski P.A., Moritz C.H., Quigley M.A. and Meyerand M.E. (2000) Mapping functionally related regions of brain with functional connectivity MR imaging. *AJNR Am J Neuroradiol* 21:1636–1644.

Cordes, D., Haughton, V.M., Arfanakis, K., Carew, J.D., Turski, P.A., Moritz, C.H., Quigley, M.A., and Meyerand, M.E. (2001) Frequencies Contributing to Functional Connectivity in the Cerebral Cortex in Resting-state Data. *AJNR Am J Neuroradiol* 22:1326–1333.

Cost K.T., Unternaehrer, E., Plamondon, A., Steiner, M., Meaney M., Atkinson, L., Kennedy J.L. and Felming, A.S. (2017) Thinking and doing: the effects of dopamine and oxytocin genes and executive function on mothering behaviours. *Gene, Brain and Behaviour*, Vol 16, Issue 2: 285-295.

Crosson, B., Ford A., McGregor K.M., Meinzer M., Cheshkov S., Li X., Walker-Batson D., and Briggs R.W. (2010). Functional Imaging and Related Techniques: An Introduction for Rehabilitation Researchers. *Rehabil Res Dev*; 47(2): vii-xxxiv.

Cunha, L., Horvath, I., Ferreira, S., Lemos, J., Costa, P., Vieira, D., Veres, D.S., Szigeti, K., Summavielle, T., Mathe, D., Metello, L.F. (2014) Preclinical Imaging: An Essential Ally in Modern Biosciences. *Mol Diagn Ther* 18:153–173.

De Luca M., Christian F.B., De Stefano N., Matthews P.M., Smith S.M. (2006). fMRI resting state networks define distinct modes of long-distance interactions in the human brain. *Neuroimage*; 29:1359–67.

Damoiseaux, J.S., Rombouts S.A.R.B., Barkhof F., Scheltens P., Stam C.J., Smith S.M. and Beckmann C.F. (2006) Consistent resting-state networks across healthy subjects. *Proc Natl Acad Sci USA* 103:13848–13853.

Dewsbury DA. (1988) In the Comparative Psychology of Monogamy, vol 35. Edited by Leger DW. Lincoln: University of Nebraska Press.

Di Martino A., Scheres A., Margulies D.S., Kelly A.M.C., Uddin L.Q., Shehzad Z., Biswal B., Walters J.R., Castellanos F.X. and Milham M.P. (2008) Functional connectivity of human striatum: A resting state fMRI study. *Cereb Cortex* 18:2735–2747.

Donaldson, D. I. (2004). Parsing brain activity with fMRI and mixed designs: What kind of a state is neuroimaging in? *Trends in Neuroscience*, 27, 442–444.

Edvinsson, L., MacKenzie, E. T., and McCulloch, J. (1993) *Cerebral Blood Flow and Metabolism*. Raven, New York, NY.

Etkin, A. Prater K.E., Schatzberg A.F., Menon V., Greicius M.D. (2009) Disrupted Amygdalar Subregion Functional Connectivity and Evidence of a Compensatory Network in Generalized Anxiety Disorder. *Arch. Gen. Psychiatry* 66, 1361.

- Francis, D.D., L.J. Young, M.J. Meaney, and T.B. Insel, (2002). Naturally occurring differences in maternal care are associated with the expression of oxytocin and vasopressin (V1a) receptors: Gender differences. *J. Neuroendocrinology*, 14: p. 349-353.
- F. Gregory Ashby. (2011) *Statistical Analysis of fMRI Data*. The MIT Press, Cambridge, Massachusetts, London, England.
- Ferezou, I., Haiss, F., Gentet, L.J., Aronoff, R., weber, B. and Peterson, C.C.H. (2007) Spatiotemporal Dynamics of Cortical Sensorimotor Integration in Behaving Mice. *Neuron* 56, 907–923.
- Ferguson, J., L. Young, E. Hearn, M. Matzuk, T. Insel, and J. Winslow, (2000). Social amnesia in mice lacking the oxytocin gene. *Nat Genet*, 25: p. 284 - 288.
- Ferguson, J.N., J.M. Aldag, T.R. Insel, and L.J. Young, (2001). Oxytocin in the medial amygdala is essential for social recognition in the mouse. *J. Neurosci.*, 21: p. 8278-8285.
- Fox, M.D., Corbetta, M., Snyder, A.Z., Vincent, J.L., Raichle, M.E. (2006) Spontaneous neuronal activity distinguishes human dorsal and ventral attention systems. *Proc Natl Acad Sci USA* 103:10046–10051.
- Fox, M.D., Raichle, M.E. (2007) Spontaneous fluctuations in brain activity observed with functional magnetic resonance imaging. *Nat Rev Neurosci* 8:700–711.
- Fox, P.T., Raichle, M. E., Mintun, M. A. and Dence, C. (1988) Nonoxidative Glucose Consumption During Physiologic Neural Activity. *Science* 241, 462-464.
- Francois, J., Conway, M. W., Lowry, J. P., Tricklebank, M. D. and Gilmour, G. (2012) Changes in reward- related signals in the rat nucleus accumbens measured by in vivo oxygen amperometry are consistent with fMRI BOLD responses in man. *Neuroimage* 60, 2169–2181.
- Fransson, P. (2006) How default is the default mode of brain function? Further evidence from intrinsic BOLD signal fluctuations. *Neuropsychologia* 44, 2836–2845.
- Friston KJ, Ashburner JT, Kiebel SJ, Nichols TE, y Penny WD. (2007) *Statistical Parametric Mapping: The Analysis of Functional Brain Images*, Elsevier.
- Ganesh R. N. and Dinesh K. K. (2011) An Overview of Independent Component Analysis and Its Applications. *Informatica* 35; 63–81.
- Getz, L., McGuire, B., Hofmann, J., Pizzuto, T. and Frase, B. (1990) Social organization and mating system of the prairie vole, *Microtus ochrogaster*. Libro: *Social systems and population cycles in voles*. Verlag; p. 69-80.
- Glover, G. H. (1999). Deconvolution of impulse response in event-related BOLD fMRI. *NeuroImage*, 9, 416– 429.
- Gorges, M., Roselli, F., Müller, H.P, Ludolph, A.C., Rasche, V. and Kassubek, J. (2017) Functional Connectivity Mapping in the Animal Model: Principles and Applications of Resting-State fMRI. *Front. Neurol.* 8, 1–14.
- Gozzi, A. and Schwarz, A. J. (2016) Large-scale functional connectivity networks in the rodent brain. *Neuroimage* 127, 496–509.
- Grandjean, J., Schroeter, A., Batata, I. and Rudin, M. (2014). Optimization of anesthesia protocol for resting- state fMRI in mice based on differential effects of anesthetics on functional connectivity patterns. *Neuroimage* 102, 838–847.
- Greicius, M. D, Krasnow, B., Reiss, A.L., Menon, V. (2003) Functional connectivity in the resting brain: a network analysis of the default mode hypothesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* ;100(1):253-8.

- Greicius, M. D., Flores, B.H., Menon, V., Glover, G.H., Solvason, H.B., Kenna, H., Reiss, A.L., and Schatzberg, A.F. (2007) Resting-State Functional Connectivity in Major Depression: Abnormally Increased Contributions from Subgenual Cingulate Cortex and Thalamus. *Biol. Psychiatry* 62, 429–437.
- Greicius, M.D., Kiviniemi V., Tervonen O., Vainionpää V., Alahuhta S., Reiss A.L. and Menon V. (2008) Persistent default-mode network connectivity during light sedation. *Hum Brain Mapp* 29:839–847.
- Grippe, A. J. Gerena, D., Huang, J., Kumar, N., Shah, M., Ughreja, R. and Carter, C.S. (2007) Social isolation induces behavioral and neuroendocrine disturbances relevant to depression in female and male prairie voles. *Psychoneuroendocrinology* 32, 966–980.
- Grippe, A. J., Lamb, D. G., Carter, C. S. and Porges, S. W. (2007) Social isolation disrupts autonomic regulation of the heart and influences negative affective behaviors. *Biol. Psychiatry* 62, 1162–70.
- Grippe, A. J., Wu, K. D., Hassan, I. and Carter, C. S. (2008) Social isolation in prairie voles induces behaviors relevant to negative affect: toward the development of a rodent model focused on co-occurring depression and anxiety. *Depress. Anxiety* 25, E17–E26.
- Gusnard DA, Raichle ME, Raichle ME. (2001). Searching for a baseline: functional imaging and the resting human brain. *Nat Rev Neurosci*; 2:685–94
- Hagmann, P., Cammoun L., Gigandet X., Meuli R., Honey C.J., Wedeen V.J., and Sporns O. (2008) Mapping the structural core of human cerebral cortex. *PLoS Biol* 6: 159.
- Hammock, E. A. D. and Young, L. J. (2005) Microsatellite Instability Generates Diversity in Brain and Sociobehavioral Traits. *Science* 308.
- Hammock, E. A. D. and Young, L. J. (2006) Oxytocin, vasopressin and pair bonding: implications for autism. *Philos. Trans. R. Soc. London B Biol. Sci.* 361.
- Harony, H. Wagner, S. (2010). The Contribution of Oxytocin and Vasopressin to Mammalian Social Behavior: Potential Role in Autism Spectrum Disorder, *Neurosignals*;18:82–97
- Hartvig, N. V. and Jensen, J. L. (2000) Spatial mixture modeling of fMRI data. *Hum. Brain Mapp.* 11, 233–48.
- Heimer, L., Zahm, D.S., Churchill, L., Kalivas, P.W. & Wohltmann, C. (1991). Specificity in the projection patterns of accumbal core and shell in the rat. *Neuroscience* 41, 89–125.
- Henckens, M. J. A. G., Van der Marel, K., Van der Toorn, A., Pillai, A.C., Fernandez, G., Dijkhuizen, R.M. and Joëls, M. (2015) Stress-induced alterations in large-scale functional networks of the rodent brain. *Neuroimage* 105, 312–322.
- Hermans, E.J., Van Marle, H.J.F., Ossewaarde, L., Henckens, M.J.A.G. Qin, S. (2011) Stress-Related Noradrenergic Activity Prompts Large-Scale Neural Network Reconfiguration. *Science* 334.
- Honey, C.J., Sporns O., Cammoun L., Gigandet X., Thiran J. P., Meulic R., and Hagmann P. (2009) Predicting human resting-state functional connectivity from structural connectivity. *Proc Natl Acad Sci USA* 106:2035–2040.
- Horowitz, S.G., Braun A.R., Carr W.S., Picchioni D., Balkin T.J., Fukunaga M. and Jeff H. Duyn. (2009) Decoupling of the brain's default mode network during deep sleep. *Proc Natl Acad Sci USA* 106:11376–11381.
- Horwitz, B. (2003) The elusive concept of brain connectivity. *Neuroimage* 19: 466–470.
- Howseman, A. M., Grootenok, S., Porter, D. A., Ramdeen, J., Holmes, A. P., and Turner, R. (1999). The effect of slice order and thickness on fMRI activation data using multislice echo-planar imaging. *NeuroImage*, 9, 363–376.
- Hull, J. V., Jacokes, Z. J., Torgerson, C. M., Irimia, A. and Van Horn, J. D. (2016) Resting-State Functional Connectivity in Autism Spectrum Disorders: A Review. *Front. psychiatry* 7, 205.

Hutchison, R. M. and Everling, S. (2012) Monkey in the middle: why non-human primates are needed to bridge the gap in resting-state investigations. *Front. Neuroanat.* 6, 29.

Hutchison, R. M. L., Leung S., Mirsattari S.M., Gati J.S., Menon R.S. and Everling S. (2011) Resting-state networks in the macaque at 7T. *Neuroimage* 56, 1546–1555.

Hutchison, R. M., Mirsattari, S. M., Jones, C. K., Gati, J. S. and Leung, L. S. (2010) Functional Networks in the Anesthetized Rat Brain Revealed by Independent Component Analysis of Resting-State fMRI. 3398–3406

<https://doi.org/10.1152/jn.00141>.

Hutchison, R.M., Gallivan, J.P., Culham, J.C., Gati, J.S., Menon, R.S. and Everling, S. (2012) Functional connectivity of the frontal eye fields in humans and macaque monkeys investigated with resting state fMRI. *J. Neurophysiol.* 107, 2463–2474.

Insel, T.R. and L.J. Young, (2000). Neuropeptides and the evolution of social behavior. *Current Opinion in Neurobiology*, 10(6): p. 784-789.

Insel, T.R., Hulihan, T.J. (1995) A gender-specific mechanism for pair bonding: Oxytocin and partner preference formation in monogamous voles. *Behav Neurosci* 109:782-789.

Insel, T.R., Shapiro, L.E. (1992) Oxytocin receptor distribution reflects social organization in monogamous and polygamous voles. *Proc Natl Acad Sci USA*; 89:5981–5985.

Insel, T.R., Wang, Z.X. and Ferris, C.F. (1994) Patterns of vasopressin receptor distribution associated with social organization in microtine rodents. *J Neurosci*; 14:5381–5392.

Jezzard, P., Heinemann, F., Taylor, J., DesPres, D., Wen, H., Balaban, R.S., and Turner, R. (1994) Comparison of EPI Gradient-Echo Contrast Changes in Cat Brain Caused by Respiratory Challenges with Direct Simultaneous Evaluation of Cerebral Oxygenation via a Cranial Window. *NMR in Biomed.* 7, 35-44.

Johnson, Z. V. and Young, L. J. (2015) Neurobiological mechanisms of social attachment and pair bonding. *Curr. Opin. Behav. Sci.* 3, 38–44.

Johnson, Z. V. and Young, L. J. (2017) Oxytocin and vasopressin neural networks: Implications for social behavioral diversity and translational neuroscience. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 76, 87–98.

Johnson, Z.V., Walum, H., Jamal, Y.A., Xiao, Y., Keebaugh, A.C., Inoue, K. and Young, L.J. (2016) Central oxytocin receptors mediate mating-induced partner preferences and enhance correlated activation across forebrain nuclei in male prairie voles. *Horm. Behav.* 79, 8–17.

Jonckers, E., Van Audekerke, J., De Visscher, G., Van der Linden, A. and Verhoye, M. (2011) Functional connectivity fMRI of the rodent brain: comparison of functional connectivity networks in rat and mouse. *PLoS One* 6, e18876.

Kagadis, G.C., Loudos, G., Katsanos, K., Langer, S.G., Nikiforidis, G.C. (2010) In vivo small animal imaging: current status and future prospects. *Med Phys.*37(12):6421–42.

Kalivas, P.W., Volkow, N.D. (2005) The neural basis of addiction: a pathology of motivation and choice. *Am J Psychiatry*; 162:1403–13.

Kandel, E. R., Schwartz, J. H., and Jessell, T. M. (1991) *Principles of Neural Science*. Appleton & Lange, Norwalk, CT.

Keebaugh, A.C., Barrett, C.E., Laprairie, J.L., Jenkins, J. J. and Young, L. J. (2015) RNAi knockdown of oxytocin receptor in the nucleus accumbens inhibits social attachment and parental care in monogamous female prairie voles. *Soc. Neurosci.* 10, 561–570.

- Kida I., and Hyder F. (2006), Capitulo 7, Physiology of Functional Magnetic Resonance Imaging, Energetics and Function. Libro Magnetic Resonance Imaging Methods and Biologic Applications. Editado Prasad P.V.
- Kiessling, F., Pichler B.J., (Editors), Hauff, P. (Co-Editor) (2011) Small Animal Imaging: Basics and Practical Guide. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Parte I, Capitulo I.
- Kim, S.J., Young, L.J., Gonen, D., Veenstra-VanderWeele, J., Courchesne, R., Courchesne, E., Lord, C., BL Leventhal, B.L., Cook Jr, E.H. and Insel T.R. (2002) Transmission disequilibrium testing of arginine vasopressin receptor 1A (AVPR1A) polymorphisms in autism. *Mol. Psychiatry* 7, 503–507.
- Kim S.G., Bendettini P.A., (2006). Principles of Functional MRI, Cap 1, Functional MRI, edit Scott H. Faro y Feroze B. Mohamed, pag 3-19.
- King, L. B., Walum, H., Inoue, K., Eyrich, N. W. and Young, L. J. (2016) Variation in the Oxytocin Receptor Gene Predicts Brain Region? Specific Expression and Social Attachment. *Biol. Psychiatry* 80, 160–169.
- Klitenick, M., Deutch, A., Churchill, L. & Kalivas, P.W. (1992). Topography and functional role of dopaminergic projection from the ventral mesencephalic tegmentum to the ventral pallidum. *Neuroscience* 50, 371–386. [NEW]
- Kuschinsky, W., Suda, S., and Sokoloff, L. (1981) Local cerebral glucose utilization and blood flow during metabolic acidosis. *Am. J. Physiol.* 241, H772–H777.
- Kurta, A. (1995). Mammals of the Great Lakes Region. The University of Michigan Press, Ann Arbor, Michigan, USA.
- Kruggel, F., and von Cramon, D. Y. (1999) Temporal properties of the hemodynamic response in functional MRI. *Human Brain Mapping*, 8, 259–271.
- Krüger G. and Glover G. H. (2001), Physiological noise in Oxygenation sensitive magnetic resonance imaging. *Magn. Reson. Med.* 46, 631.
- Kwong, K. K., Belliveau, J. W., Chesler, D. A., Goldberg, I. E., Weisskoff, R. M., Poncelet, B. P, Kennedy, D. N., Hoppel, B. E., Cohen, M. S., Turner, R., Cheng, H. M., Brady, T. J. and Rosen, B. R. (1992) Dynamic Magnetic Resonance Imaging of Human Brain Activity During Primary Sensory Stimulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 5675-5679.
- Larson-Prior L.J., Zempel J.M., Nolana T.S., Priora F.W., Snyder A.Z. and Raichle M.E. (2009) Cortical network functional connectivity in the descent to sleep. *Proc Natl Acad Sci USA* 106:4489–4494.
- Lee M.H., Smyser C.D., and Shimony J.S. (2013). Resting-State fMRI: A Review of Methods and Clinical Applications. *AJNR Am J Neuroradiol* 34:1866–72.
- Leopold, D.A., Logothetis, N.K. (2003) Spatial patterns of spontaneous local field activity in the monkey visual cortex. *Rev Neurosci* 14:195–205.
- Leopold, D.A., Murayama, Y., Logothetis, N.K. (2003) Very slow activity fluctuations in monkey visual cortex: Implications for functional brain imaging. *Cereb Cortex* 13: 422–433.
- Lewis, J.S., Achilefu, S., Garbow, J.R., Laforest, R., Welch, M.J. (2002) Small animal imaging: current technology and perspectives for oncological imaging. *Eur J Cancer.* 38(16):2173–88.
- Li, J., Ishiwari, K., Conway, M.W., Francois, J., Huxter, J., Lowry, J.P., Schwarz, A.J., Tricklebank, M. and Gilmour, G. (2014) Dissociable Effects of Antipsychotics on Ketamine-Induced Changes in Regional Oxygenation and Inter-Regional Coherence of Low Frequency Oxygen Fluctuations in the Rat. *Neuropsychopharmacology* 39, 1635–1644.
- Li, J., Martin, S., Tricklebank, M.D., Schwarz, A.J., and Gilmour, G. (2015) Task-Induced Modulation of Intrinsic Functional Connectivity Networks in the Behaving Rat. *J. Neuroscience* 35, 658–665.

- Liao, W. Chen, H., Feng, Y., Mantini, D., Gentili, C., Pan, Z., Ding, J., Duan, Z., Qiu, C., Lui, S., Gong, O. and Zhang, W. (2010) Selective aberrant functional connectivity of resting state networks in social anxiety disorder. *Neuroimage* 52, 1549–1558.
- Lieberwirth, C., Liu, Y., Jia, X. and Wang, Z. (2012) Social isolation impairs adult neurogenesis in the limbic system and alters behaviors in female prairie voles. *Horm. Behav.* 62, 357–366.
- Lieberwirth, C., Wang, Z. (2014) Social bonding: regulation by neuropeptides. *Front Neurosci*, 8:1-13.
- Lieberwirth., C., Wang, Z. (2016) The neurobiology of pair bond formation, bond disruption, and social buffering. *Current Opinion in Neurobiology*, 40:8–13.
- Lisa A. McGraw, L.A. and Young, L.J. (2010) the prairie vole: an emerging model organism for understanding the social brain. *Trends Neurosci.* 33(2):103.
- Liska, A. and Gozzi, A. (2016) Can Mouse Imaging Studies Bring Order to Autism Connectivity Chaos. *Front. Neurosci.* 10, 484.
- Liska, A., Bertero, A., Gomolka, R., Sabbioni, M., Galbusera, A., Barsotti, N., Panzeri, S., Scattoni, M.L., Pasqualetti, M. and Gozzi, A. (2017) Homozygous Loss of Autism-Risk Gene CNTNAP2 Results in Reduced Local and Long-Range Prefrontal Functional Connectivity. *Cereb. Cortex* 1–13, <https://doi.org/10.1093/cercor/bhx022>.
- Lord, L.D., Expert, P., Huckins, J.F., Turkheimer, F.E. (2013) Cerebral energy metabolism and the brain’s functional network architecture: an integrative review. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 33, 1347– 1354.
- Love, T.M. (2014) Oxytocin motivation and the role of dopamine. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*; 119:49-60.
- Lu, H., Zou Q., Gu H., Raichle M.E., Stein E.A. and Yang Y. (2012) Rat brains also have a default mode network. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 109, 3979–84.
- Lu, H., Zuo, Y., Gu, H., Waltz, J.A., Zhan, W., Scholl, C.A., Rea, W., Yang, Y., and Stein, E.A. (2007) Synchronized delta oscillations correlate with the resting-state functional MRI signal. *PNAS* vol. 104, no. 46, 18265–18269.
- Manjón, J. V., Coupé, P., Martí-Bonmatí, L., Collins, D. L. and Robles, M. (2010) Adaptive non-local means denoising of MR images with spatially varying noise levels. *J. Magn. Reson. Imaging* 31, 192–203.
- Manning, J. Reynolds, G., Saygin, Z.M., Hofmann, S.G., Pollack, M., Gabrieli, J.D.E. and Whitfield-Gabrieli, S. (2015) Altered resting-state functional connectivity of the frontal-striatal reward system in social anxiety disorder. *PLoSOne* 10, e0125286.
- Mantini, D., Gerits A., Nelissen K., Durand J.B., Joly O., Simone L., Sawamura H., Wardak C., Orban GA., Buckner R.L. and Vanduffel W. (2011) Default mode of brain function in monkeys. *J. Neurosci.* 31, 12954–62.
- Mantini, D., Perrucci, M.G., Del Gratta, C., Romani, G.L., Corbetta, M. (2007) Electrophysiological signatures of resting state networks in the human brain. *PNAS* vol. 104, 13170–13175.
- Margulies, D.S., Vincent, J.L., Kelly, C., Lohmann, G., Uddin, L.Q., Biswal, B.B., Villringer, A., Castellanos, F.X., Milham, M.P. and Petrides M. (2009) Precuneus shares intrinsic functional architecture in humans and monkeys. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 106, 20069–20074.
- Mars, R.B., Neubert, F.X., Noonan M.A.P., Sallet J., Toni I., and Rushworth M.F.S. (2012) On the relationship between the “default mode network” and the “social brain”. *Front. Hum. Neurosci.* 6, 189.
- Martuzzi, R., Murray, M.M., Michel, C.M., Thiran, J.P., Maeder, P.P., Clarke, S. and Meuli, R.A. (2007) Multisensory Interactions within Human Primary Cortices Revealed by BOLD Dynamics. *Cereb. Cortex* 17, 1672–1679.

Martuzzi, R., Ramani, R., Qiu M, Rajeevan, N., Constable, R.T. (2010) Functional connectivity and alterations in baseline brain state in humans. *Neuroimage* 49:823–834.

Mayhew J.E.W., Askew S., Zheng Y., Porrill J., Westby G.W.M., Redgrave P., Rector D.M. and Harper R.M. (1996) Cerebral Vasomotion: A 0.1-Hz Oscillation in Reflected Light Imaging of Neural Activity. *NEUROIMAGE* 4, 183–193.

McGraw, L. A. and Young, L. J. (2010) The prairie vole: an emerging model organism for understanding the social brain. *Trends Neurosci* 33(2): 103.

McKeown, M.J., Makeig, S., Brown, G.G. (1998) Analysis of fMRI data by blind separation into independent spatial components. *Hum Brain Mapp* 6: 160–88.

McNeal, N., Anderson E.M., Moenk D., Trahanas D., Matuszewich L. and Grippo A.J. (2017) Social isolation alters central nervous system monoamine content in prairie voles following acute restraint. *Soc. Neurosci.* 1–11, <https://doi.org/10.1080/17470919.2016.1276473>.

Mechling, A. E., Hennig J., Elverfeldt D.V., Lee H.L., Hubner N.S. and Harsan L.A. (2014) Fine-grained mapping of mouse brain functional connectivity with resting-state fMRI. *Neuroimage* 96, 203–215.

Mori, K. In (2009) *Encyclopedia of Neuroscience* 71–75, <https://doi.org/10.1016/B978-008045046-9.01688-0>. [193.](https://doi.org/10.1016/B978-008045046-9.01688-0)
[Mriquestions. www.mriquestions.com/gre-vs-se.html](http://www.mriquestions.com/gre-vs-se.html).

Nasrallah, F. A., Tay, H.-C. and Chuang, K.-H. (2014) Detection of functional connectivity in the resting mouse brain. *Neuroimage* 86, 417–424.

Nephew B. C. (2012). Behavioral Roles of Oxytocin and Vasopressin, *Libro Neuroendocrinology and Behavior*, Edited by Tomiki Sumiyoshi, Chapter 3.

Numan, M., Insel, T.R. (2003) *The neurobiology of parental behavior*. New York: Springer-Verlag.

O'Reilly, J.X., Beckmann, C.F., Tomassini, V., Ramnani, N., Johansen-Berg, H. (2010) Distinct and overlapping functional zones in the cerebellum defined by resting state functional connectivity. *Cereb. Cortex* 20:953–965.

Ogawa, S. and Lee, T. M. (1990) Magnetic Resonance Imaging of Blood Vessels at High Fields: In Vivo and in Vitro Measurements and Image Simulation. *Magn. Reson. Med.* 16, 9-18.

Ogawa, S., Lee, T. M., Kay, A. R. and Tank, D. W. (1990) Brain Magnetic Resonance Imaging with Contrast dependent on Blood Oxygenation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87, 9868-9872.

Ogawa, S., Lee, T. M., Nayak, A. S. and Glynn, P. (1990). Oxygenation-Sensitive Contrast in Magnetic Resonance Image of Rodent Brain at High Magnetic Fields. *Magn. Reson. Med.* 14, 68-78.

Ogawa, S., Menon, R. S., Tank, D. W., et al. (1993) Functional brain mapping by blood oxygenation level-dependent contrast magnetic resonance imaging. *Biophys. J.* 64, 803–812.

Oh, Y.K. (2008) Vasopressin and vasopressin receptor antagonists. *Electrolyte Blood Press* 6(1):51–55.

Olazábal, D.E. and Young, L.J. (2006) Species and individual differences in juvenile female alloparental care are associated with oxytocin receptor density in the striatum and the lateral septum. *Horm. Behav.* 49, 681–687.

Ophir, A., Phelps, S.M., Sorin, A.B. and Wolff, J.O. (2008) Social but not genetic monogamy is associated with greater breeding success in prairie voles. *Anim Behav*; 75:1143–1154.

Ortigue, S., Bianchi-Demicheli, F., Patel, N., Frum, C., Lewis, J.W. (2010) Neuroimaging of love: fMRI meta-analysis evidence toward new perspectives in sexual medicine. *J Sex Med*, 7:3541-3552.

Ortiz Juan J., Portillo Wendy, Paredes Raul G., Young Larry J. y Alcauter Sarael, (2018) Resting state brain networks in the prairie vole. *SCIENTIFIC REPORTS* 8:1231.

Otten, L. J., Henson, R. N., and Rugg, M. D. (2002). State-related and item-related neural correlates of successful memory encoding. *Nature Neuroscience*, 5, 1339–1344.

Pauling, L. and Coryell, C. D. (1936) The Magnetic Properties and Structure of Hemoglobin, Oxyhemoglobin and Carbonmonoxyhemoglobin *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 22,210-216.

Paxinos, G. and Franklin, K. B. J. (2008) Mouse brain in stereotaxic coordinates. Academic.

Peltier, S.J., Kerssens C., Hamann S.B., Sebel P.S., Smith M.B. and Hu X. (2005) Functional connectivity changes with concentration of sevoflurane anesthesia. *Neuroreport* 16:285–288.

Perkeybile, A. M., Griffin, L. L. and Bales, K.L. (2013) Natural variation in early parental care correlates with social behaviors in adolescent prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Front. Behav. Neurosci.* 7, 21.

Petermann, T., Thiagarajana, T.C., Lebedev, M.A., Nicolelis, M.A.L., Chialvo, D.R., Plenz, D. (2009) Spontaneous cortical activity in awake monkeys composed of neuronal avalanches, *PNAS* vol. 106, no. 37, 15921–15926.

Pfeuffer, J., Van de Moortele, P. F., Yacoub, E., Shmuel, A., Adriany, G., Andersen, P., (2002). Zoomed functional imaging in the human brain at 7 Tesla with simultaneous high spatial and high temporal resolution. *NeuroImage*, 17, 272–286.

Pizzuto, T., Getz, L. (1998) Female prairie voles (*Microtus ochrogaster*) fail to form a new pair after loss of mate. *Behav Proc*; 43:79–86.

Power J.D., Cohen A.L., Nelson S.M., Wig G.S., Barnes K., Church J.A., Vogel A.C., Laumann T.O., Miezin F.M., Schlaggar B.L., and Petersen S.E. (2011). Functional network organization of the human brain. *Neuron*; 72:665–78

Psych.colorado.edu/~anre8906/guides/01-ica.html

Raichle, M.E. (1987) Circulatory and metabolic correlates of brain function in normal humans. In: *Handbook of Physiology—The Nervous System*. Vol. 5. Bethesda, MD: American Physiological Society; 643–674.

Raichle M. E. and Mintun M. A., (2006). Brain work and brain imaging. *Annu. Rev. Neurosci.* 29, 449.

Raichle, M. E. (2015) The Brain's Default Mode Network. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-071013-014030.151>.

Raichle, M.E., MacLeod, A.N., Snyder, A.Z., Powers, W.J., Gusnard, D.A. and Shulman, G.L (2001) A default mode of brain function. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 98, 676–682.

Richter, D. (1988) Molecular events in expression of vasopressin and oxytocin and their cognate receptors. *Am J Physiol* 255(2 Pt2): F207–F219.

Rilling, J. K. Barks S.K., Parr L.A., Preuss T.M., Faber T.L., Pagnoni G., J. Bremner D., and Votaw J.R. (2007) A comparison of resting-state brain activity in humans and chimpanzees. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104, 17146–51.

Rilling, J.K. and Young, L.J. (2014) The biology of mammalian parenting and its effect on offspring social development. *Science* 345.

Ross, H.E., Young, L.J. (2009) Oxytocin and the neural mechanisms regulating social cognition and affiliative behavior. *Front Neuroendocrinol*; 30:534–547.

Rotondo, F., Butz, H., Syro, L.V., Yousef, G.M., Di Ieva, A., Restrepo, L.M., Quintanar-Stephano, A., Berczi, I., and Kovacs K. (2016) Arginine vasopressin (AVP): a review of its historical perspectives, current research and multifunctional role in the hypothalamohypophysial system. *Pituitary* 19:345–355.

- Roy, C.S., and Sherrington, C.S. (1890) On the regulation of blood supply of the brain. *J Physiol*; 1:85–108.
- Russell, J.A., Leng, G., Douglas, A.J. (2003) The magnocellular oxytocin system, the fount of maternity: Adaptations in pregnancy. *Front Neuroendocrinol*; 24:27–61.
- Salamone, J.D., Correa, M. (2012) The mysterious motivational functions of mesolimbic dopamine. *Neuron*; 76:470–85.
- Siesjo, B. K. (1978) *Brain Energy Metabolism*. Wiley, New York, NY.
- Schopenhauer, W. (1999). *Prize Essay on the Freedom of the Will*. Cambridge Texts in the History of Philosophy, G. Zoller, ed. Payne, E.F.J. (trans.) (Cambridge: Cambridge University Press).
- Scotti, M.-A. L., Carlton, E. D., Demas, G. E. and Grippo, A. J. (2015) Social isolation disrupts innate immune responses in both male and female prairie voles and enhances agonistic behavior in female prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Horm. Behav.* 70, 7–13.
- Sforazzini, F., Schwarz, A. J., Galbusera, A., Bifone, A. and Gozzi, A. (2014) Distributed BOLD and CBV- weighted resting-state networks in the mouse brain. *Neuroimage* 87, 403–415.
- Shadlen, M.N., Newsome, W.T. (1998) The Variable Discharge of Cortical Neurons: Implications for Connectivity, Computation, and Information Coding. *J Neurosci* 18:3870–3896.
- Sheline, Y. I. Barch D., Price J.L., Rundle M., Vaishnavi S.N., Snaider A.Z., Mintum ., Wuang S., Coalson R.S., and Racihle M. (2009) The default mode network and self-referential processes in depression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106, 1942–7.
- Sheline, Y. I., Price, J. L., Yan, Z. and Mintun, M. A. (2010) Resting-state functional MRI in depression unmasks increased connectivity between networks via the dorsal nexus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107, 11020–5.
- Shmueli, K., Van Gelderen P., de Zwart, J.A., Horovitz S.G., Fukunaga, M., Jansma, J.M. and Duyn, J.H. (2007) Low-frequency fluctuations in the cardiac rate as a source of variance in the resting-state fMRI BOLD signal. *NeuroImage* 38, 306–320.
- Shulman, G.L., Fiez, J.A., Corbetta, M., Buckner, R.L., Miezin, F.M., Raichle, M.E., Petersen, S.E. (1997) Common Blood Flow Changes across Visual Tasks: II. Decreases in Cerebral Cortex. *J. Cogn. Neurosci.* 9, 648– 663.
- Skuse, D. H. Lori, A., Cubells, J.F., Lee, I., Conneely, K.N., Puura, K., Lehtimäki, T., Binder, E.B. and Young, L.J. (2014) Common polymorphism in the oxytocin receptor gene (OXTR) is associated with human social recognition skills. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 111, 1987–92.
- Sladky R, Friston KJ, Tröstl J, Cunningham R, Moser E., Windischberge C. (2011) Slice-timing effects and their correction in functional MRI, *Neuroimage* 58:588–594.
- Smith, A. S. and Wang, Z. (2014) Hypothalamic Oxytocin Mediates Social Buffering of the Stress Response. *Biol. Psychiatry* 76, 281–288.
- Smith, A. S., Lieberwirth, C. and Wang, Z. (2013) Behavioral and physiological responses of female prairie voles (*Microtus ochrogaster*) to various stressful conditions. *Stress* 16, 531–9.
- Smith, A.S., Wang, Z. (2011) Salubrious effects of oxytocin on social stress-induced deficits. *Horm Behav*, 61:320-330.
- Smith, S. M. (2002) Fast robust automated brain extraction. *Hum. Brain Mapp.* 17, 143–155.
- Smith, S.M., Fox, P.T., Miller, K.L., Glahn, D.C., Fox, P.M., Mackay, C.E., Filippini, N., Watkins, K.E., Toro, R., Laird, A.R. and Beckmann, C.F. (2009) Correspondence of the brain’s functional architecture during activation and rest. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 106, 13040–13045.

- Smith, S.M., Jenkinson, M., Woolrich, M.W., Beckmann, C.F., Behrens, T.E.J., Johansen-Berg, H., Bannister, P.R., De Luca, M., Drobnjak, I., Flitney, D.E., Niazy, R.K., Saunders, J., Vickers, J., Zhang, Y., De Stefano, N., Brady, J.M. and Matthews, P.M. (2004) Advances in functional and structural MR image analysis and implementation as FSL. *Neuroimage* 23(Suppl 1), S208–219.
- Song, H., Zou, Z., Kou, J., Liu, Y., Yang, L., Zilverstand, A., Uquillas, D.O., Zhang, X. (2015) Love-related changes in the brain: a resting-state functional magnetic resonance imaging study. *Front Hum Neurosci*, 9:1-13.
- Sorg, C., Riedl V., Mühlau M., Calhoun V.D., Eichele T., Läer L., Drzezga A., Förstl H., Kurz A., Zimmer C., and Wohlschläger A.F. (2007) Selective changes of resting-state networks in individuals at risk for Alzheimer's disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104, 18760–5.
- Stafford, J. M., Jarrett B.R., Dominguez O.M., Mills B.D., Cain N., Mihalas S., Lahvis G.P., Lattal K.M., Mitchell S.H., David S.V., Fryer J.D., Nigg J.T., and Fair D.A. (2014) Large-scale topology and the default mode network in the mouse connectome. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 111, 18745–18750.
- Stalling, D.T. (1990). *Microtus ochrogaster*. *Mammalian Species* 355:1-9.
- Sun, P., Smith, A., Lei, K., Liu, Y., Wang Z. (2014) Breaking bonds in male prairie vole: long-term effects on emotional and social behavior, physiology, and neurochemistry. *Behav Brain Res*, 265:22-31.
- Swain, J.E., Lorberbaum, J.P., Kose, S., Strathearn, L. (2007) Brain basis of early parent–infant interactions: psychology, physiology, and in vivo functional neuroimaging studies. *J Child Psychol Psychiatry*, 48:262-287.
- Tamarin, R. (1985) *Biology of New World Microtus*. *Am Soc Mamm Spec Pub* 8. Ed.
- Takayanagi, Y., M. Yoshida, I. Bielsky, H. Ross, M. Kawamata, T. Onaka, T. Yanagisawa, T. Kimura, M. Matzuk, L. Young, and K. Nishimori, (2005). Pervasive social deficits, but normal parturition, in oxytocin receptor-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 102: p. 16096 - 16101.
- Thulborn, K.R., Waterton, J.C., Matthews, P.M., Radda, G.K. (1982) Oxygenation dependence of the transverse relaxation time of water protons in whole blood at high field. *Biochem Biophys Acta.*; 714:265–270.
- Tomasi, D. and Volkow, N. D. (2011) Functional connectivity hubs in the human brain. *Neuroimage* 57, 908– 917. 191.
- Tomasi D, Volkow ND. (2012). Resting functional connectivity of language networks: characterization and reproducibility. *Mol Psychiatry*; 17:841–54.
- Turner, R., Jezzard, P., Wen, H., Kwong, K. K., Le Bihan, D., Zeffiro, T. and Balaban, R. S. (1993) Functional Mapping of the Human Visual Cortex at 4 and 1.5 Tesla Using Deoxygenation Contrast EPI. *Magn. Reson. Med.* 29, 277-279.
- Turner, R., Le Bihan, D., Moonen, C. T. W., Despres, D. and Frank, J. (1991) Echo-Planar Time Course MRI of Cat Brain Oxygenation Changes. *Magn. Reson. Med.* 22, 159-166.
- Tustison, N. J., Avants B.B., Cook P.A., Zheng Y., Egan A., Yushkevich P.A., and Gee J.C. (2010) N4ITK: Improved N3 Bias Correction. *IEEE Trans. Med. Imaging* 29, 1310–1320.
- Ulloa, M., Portillo, W., Díaz, N.F., Young, L.J., Camacho, F.J., Rodríguez, V.M. and Paredes, R.G. (2017) Mating and social exposure induces an opioid-dependent conditioned place preference in male but not female prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Horm. Behav.* 97, 47–55.
- Van den Heuvel, M. P., and Sporns, O. (2013) Network hubs in the human brain. *Trends Cogn. Sci.* 17, 683– 696.
- Van Dijk, K.R.A., Hedden T., Venkataraman, A., Evans K.C., Lazar S.W. and Buckner, R.L. (2010) Intrinsic Functional Connectivity as a Tool for Human Connectomics: Theory, Properties, and Optimization. *J Neurophysiol* 103: 297–321.

- Veer, I. M., Beckmann, C.F., Van Tol, M.A., Ferrarini, L., Milles, J., Veltman, D.J., Aleman, J., Van Buchem, M.A., Van der Wee, N.J., and Rombouts, S.A.R.B. (2010) Whole brain resting-state analysis reveals decreased functional connectivity in major depression. *Front. Syst. Neurosci.* 4, 41.
- Villringer, A., Planck, J., Hock, C., Schleinkofer, L. and Dirnagl, U. (1993) Near Infrared Spectroscopy (NIRS): A New Tool to Study Hemodynamic Changes During Activation of Brain Function in Human Adults. *Neurosci. Lett.* 154, 101-104.
- Vincent, J. L., Kahn, I., Van Essen, D. C. and Buckner, R. L. (2010) Functional connectivity of the macaque posterior parahippocampal cortex. *J. Neurophysiol.* 103, 793–800.
- Vincent, J.L., Patel, G.H., Fox M.D., Snyder, A.Z., Baker, J.T., Van Essen D.C., Zempel J.M., Snyder L.H., Corbetta M, and Raichle M.E. (2007) Intrinsic functional architecture in the anaesthetized monkey brain. *Nature* 447:83–86.
- Wang, Z., Zhou, L., Hulihan, T.J. and Insel, T.R. (1996) Immunoreactivity of central vasopressin and oxytocin pathways in microtine rodents: a quantitative comparative study. *J Comp Neurol.*; 366:726–737.
- Washington, S. D., Gordon E.M., Brar J., Warburton S., Sawyer A.T., Wolfe A., Mease-Ference E.R., Girton L., Hailu A., Mbwana J., Gaillard W.D., Kalbfleisch M.L., and VanMeter J.W. (2014) Dysmaturation of the default mode network in autism. *Hum. Brain Mapp.* 35, 1284–1296.
- Wassink, T.H., Piven J., Vieland V.J., Pietila J., Goedken R.J., Folstein S.E. and Sheffield V.C. (2004) Examination of AVPR1a as an autism susceptibility gene. *Mol. Psychiatry* 9, 968–972. 215.
- Weisskoff, R. M., Zuo, C. S., Boxerman, J. L., & Rosen, B. R. (1994). Microscopic susceptibility variation and transverse relaxation: theory and experiment. *Magnetic Resonance in Medicine*, 31(6), 601–610.
- Weissleder, R., Mahmood, U. (2001) Molecular imaging. *Radiology.* 2;219(2):316–33.29.
- Whitfield-Gabrieli, S., Thermenos H.W., Milanovic S., Tsuang M.T., Faraone S.V., McCarley R.W., Shenton M.E., Green A.I., Nieto-Castanon A., LaViolette P., Wojcik J., Gabrieli J.D.E., and Seidman L.J. (2009) Hyperactivity and hyperconnectivity of the default network in schizophrenia and in first-degree relatives of persons with schizophrenia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106, 1279–84.
- Wiener, E., Schad, L. R., Baudendistel, K. T., Essig, M., Muller, E., and Lorenz, W. J. (1996). Functional MR imaging of visual and motor cortex stimulation at high temporal resolution using a FLASH technique on a standard 1.5 Tesla scanner. *Magnetic Resonance Imaging*, 14, 477–483.
- Wise, R.A. Brain reward circuitry: insights from unsensed incentives. *Neuron* 36, 229–240 (2002).
- Winslow, J.T., Hastings, N., Carter, C.S., Harbaugh, C.R., Insel, T.R. (1993) A role for central vasopressin in pair bonding in monogamous prairie voles. *Nature* 365:545-548.
- Wolpert, D., Ghahramani, Z. and Jordan, M. (1995) An internal model for sensorimotor integration. *Science* 269.
- Wu, X., Yao, L., Long, Z.Y., Lu, J. and Li, K.C. (2006) Functional Connectivity in the Resting Brain: An Analysis Based on ICA, Neural Information Processing. *Proceedings, Part I.*
- Wu G., and Li S.J. (2005). Theoretical noise model for oxygenation sensitive magnetic resonance imaging. *Magn. Reson. Med.* 53, 1046.
- Xiong, J., Parsons, L.M., Gao, J.H., Fox, P.T. (1999) Interregional connectivity to primary motor cortex revealed using MRI resting state images. *Hum Brain Mapp* 8:151–156.
- Yablonskiy, D. A. and Haacke, E. M. (1994) Theory of NMR signal behavior in magnetically inhomogeneous tissues: the static dephasing regime. *Magn. Reson. Med.* 32, 749–763.
- Yacoub, E., Shmuel, A., Pfeuffer, J., Van de Moortele, P. F., Adriany, G.,

- Andersen, P., Vaughan, J. T., Merkle, H., Ugurbil, K., & Hu, X. P. (2001). Imaging brain function in humans at 7 Tesla. *Magnetic Resonance in Medicine*, 45(4), 588–594.
- Yee, J. R., Kenkel W.M., Kulkarni P., Moore K., Perkeybile A.M., Toddes S., Amacker J.A., Carter C.S. and Ferris C.F. (2016) BOLD fMRI in awake prairie voles: A platform for translational social and affective neuroscience. *Neuroimage* 138, 221–232.
- Young J.L Wang Z. (2004). The neurobiology of pair bonding, *Nature Neuroscience*, Vol. 7, No. 10.
- Young, K.A., Gobrogge, K.L., Liu, Y., Wang, Z. (2011) The neurobiology of pair bonding: insights from a socially monogamous rodent. *Front Neuroendocrinol*, 32:53-69.
- Young, L. J. and Barrett, C. E. (2015) Can oxytocin treat autism? *Science* 347, 825–826.
- Young, L. J. and Wang, Z. (2004) The neurobiology of pair bonding. *Nat. Neurosci.* <https://doi.org/10.1038/nn1327>.
- Young, L.J., Lim, M.M., Gingrich, B., Insel, T.R. (2001) Cellular mechanisms of social attachment. *Horm Behav.* 40:133-138.
- Zanzonico P. (2011) Noninvasive imaging for supporting basic research. de Small animal imaging. *Capitulo 1*. Springer; p. 3–16.
- Zerbi, V., Grandjean, J., Rudin, M. and Wenderoth, N. (2015) Mapping the mouse brain with rs-fMRI: An optimized pipeline for functional network identification. *Neuroimage* 123, 11–21.
- Zhang, D., Snyder A.Z., Fox M.D., Sansbury M.W., Shimony J.S., and Raichle M.E. (2008) Intrinsic functional relations between human cerebral cortex and thalamus. *J Neurophysiol* 100:1740–1748.
- Zhou, Z.C., Salzwedel, A.P., Radtke-Schuller, S., Li, Y., Seller, K.K., Gilmore, J.H., Shih, Y.Y.I., Fröhlich, F. and Gao, Wei. (2016) Resting state network topology of the ferret brain. *Neuroimage* 143, 70–81.