



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**MAESTRÍA EN CIENCIAS (NEUROBIOLOGÍA)**  
**INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA**

**EFFECTOS DE LA FORMACIÓN DE VÍNCULOS DE PAREJA SOBRE LA  
CONECTIVIDAD FUNCIONAL CEREBRAL EN *MICROTUS OCHROGASTER***

**TESIS**  
**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:**  
**MAESTRA EN CIENCIAS**

**PRESENTA:**  
**MARÍA FERNANDA LÓPEZ GUTIÉRREZ**

**TUTORES PRINCIPALES**  
**DR. SARAEL ALCAUTER SOLÓRZANO**  
**INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA**

**DRA. WENDY PORTILLO MARTÍNEZ**  
**INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA**

**MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR**  
**DRA. VERÓNICA MIREYA RODRÍGUEZ CÓRDOVA**  
**INSTITUTO DE NEUROBIOLOGÍA**

**DR. ROBERTO MERCADILLO CABALLERO**  
**UAM IZTAPALAPA**

**QUERÉTARO, MÉXICO, OCTUBRE 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.

**Universidad Nacional Autónoma de México**  
Instituto de Neurobiología

Los miembros del Jurado certificamos que la tesis elaborada por: María Fernanda López Gutiérrez, cuyo título es: “Efectos de la formación de vínculos de pareja sobre la conectividad funcional cerebral en *Microtus ochrogaster*” se presenta como uno de los requisitos para obtener el grado de Maestría en Ciencias (Neurobiología) y cumple con los criterios de originalidad y calidad requeridos por la División de Estudios de Posgrado de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Firma

**Presidente**

Dr. Luis Concha Loyola

**Secretario (Tutor)**

Dr. Sarael Alcauter Solórzano

**Vocal**

Dra. Azalea Reyes Aguilar

**Suplente**

Dra. Rebeca Corona García-Cabral

**Suplente**

Dr. Roberto Mercadillo Caballero

Aprobado por el Comité Académico

---

**Coordinador del Programa**

Dra. Maricela Luna Muñoz

# RESUMEN

## EFFECTOS DE LA FORMACIÓN DE VÍNCULOS DE PAREJA SOBRE LA CONECTIVIDAD FUNCIONAL CEREBRAL EN *MICROTUS OCHROGASTER*

El topillo de la pradera, *Microtus ochrogaster*, se ha convertido en un modelo roedor relevante en el estudio de conductas sociales complejas. Estudios previos han relacionado el vínculo de pareja en el topillo de la pradera con cambios plásticos cerebrales en múltiples regiones. Sin embargo, la interacción entre estas regiones y su relevancia en conductas socio-sexuales no ha sido descrita completamente. En este trabajo, la técnica de imagen por resonancia magnética funcional en estado de reposo (rsfMRI) permitió explorar los cambios longitudinales en regiones relacionadas al vínculo de pareja. Se obtuvieron datos basales de rsfMRI de topillos de la pradera machos y hembras y se compararon con datos rsfMRI obtenidos a las 24 horas y dos semanas de cohabitación con cópula. Entre las 48 y 72 horas de cohabitación, los topillos presentaron una preferencia significativa por su pareja. Nuestros hallazgos sugieren la existencia de una red cerebral que engloba cambios longitudinales significativos en la corteza cingulada anterior, núcleo olfatorio anterior, giro dentado, hipocampo dorsal, septum lateral, corteza medial prefrontal, corteza retrosplenial, hipocampo ventral, y el área tegmental ventral. Adicionalmente, se encontró que la conectividad funcional cerebral basal de subredes específicas predice el nivel de expresión de conductas afiliativas al inicio de la cohabitación. Además, el cambio a largo plazo de una subred está asociada con la fortaleza del vínculo de pareja. En general, nuestros hallazgos evidencian cambios plásticos a nivel de redes cerebrales asociados al proceso del vínculo social y proveen un método novedoso para el estudio de la neurofisiología de conductas sociales.

# SUMMARY

## EFFECTS OF PAIR BONDING ON *MICROTUS OCHROGASTER* BRAIN FUNCTIONAL CONNECTIVITY

*Microtus ochrogaster*, the prairie vole, has become a valuable rodent model to study complex social behaviors. Previous studies have related pair bonding in the prairie vole with plastic changes in several brain regions. However, the interaction between these regions and their relevance in socio-sexual behaviors has yet to be described. In this study, we used resting state functional magnetic resonance imaging (rsfMRI) to explore the longitudinal changes in brain regions previously associated with pair bonding. Prairie voles were scanned at baseline, after 24 hours and two weeks of cohabitation with a sexual partner. Between 48 and 72 hours of cohabitation, voles showed significant preference for their partner. Network based statistics showed no sex differences in functional connectivity but revealed a common network with significant longitudinal changes in the anterior cingulate cortex, anterior olfactory nucleus, dentate gyrus, dorsal hippocampus, lateral septum, medial prefrontal cortex, retrosplenial cortex, ventral hippocampus, and ventral tegmental area. Furthermore, baseline functional connectivity in three sub-networks predicted the level of affiliative behavior in the first hours of cohabitation. Finally, a relationship was found between the strength of the pair bond a functional connectivity subnetwork. Overall, our findings evidenced the association between network-level changes and the process of social bonding, providing a novel approach to further investigate the neurophysiology of complex social behaviors.

# AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Dr. Fernando Barrios Álvarez, por abrirme las puertas a su laboratorio, a Leopoldo Gonzáles Santos y a los integrantes del laboratorio C-12, por su apoyo siempre disponible; al Dr. Raúl Paredes y al laboratorio D-11 por darme la bienvenida en su espacio de trabajo; y a los miembros del laboratorio C-13.

A Francisco Camacho Barrios, por su imprescindible apoyo en el manejo de los topillos y el mantenimiento de la colonia; y al Dr. Luis Concha Loyola y al Dr. Juan José Ortiz Retana, por su ayuda y su gran labor en hacer del Laboratorio Nacional de Imagenología por Resonancia Magnética, un espacio idóneo para hacer investigación de vanguardia.

A la Dra. Verónica Rodríguez Córdova y al Dr. Roberto Mercadillo Caballero, por su tutoría y constantes aportaciones durante el desarrollo de este proyecto.

Gracias a los sinodales, a la Dra. Azalea Reyes Aguilar, al Dr. Luis Concha Loyola, a la Dra. Rebeca Corona García-Cabral y al Dr. Roberto Mercadillo Caballero por las pertinentes observaciones a este escrito.

Un profundo agradecimiento a los tutores de este proyecto, al Dr. Sarael Alcauter Solórzano y a la Dra. Wendy Portillo Martínez, por su invaluable guía, conocimiento y constante apoyo, sin los cuales este proyecto no hubiera sido posible.

Agradecimientos por su amable apoyo al personal técnico del Instituto de Neurobiología:

A la Dra. Deisy Gasca de la Unidad de Análisis Conductual

Al MVZ. José Martín García Servín y a la Dra. Alejandra Castilla León del Laboratorio Universitario de Bioterio

A la Dra. Nuri Aranda de la Unidad de Enseñanza y a Leonor Casanova

Al M. en C. Alberto Lara Rubalcava y a los responsables de la Unidad de Cómputo

A la Lic. Ma. De Lourdes Lara Ayala de la Unidad de Videoconferencia

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología

CVU: 600922 Becario No: 626152

Donativos: CONACyT 252756, 253631; PAPIIT-DGAPA IN212219, IN253631, 202818, 210215; INPER 212503230-21216-05-15, 2018-1-163, NIH P51OD11132.

Doy gracias a mi esposo, Nacho, por quererme tanto y siempre creer en mí, por estar conmigo en esta aventura de principio a fin y por levantarme cuando más lo necesitaba.

A mi papá, Fernando, por su amor y apoyo siempre incondicional que hicieron posible este trabajo y este increíble viaje, y a mi mamá, Irma Araceli, quien siempre estará ahí.

A mis hermanas, Daniela y Helena, por iluminar mi vida, aunque no siempre las vea.

A mi familia y a mis amigos de siempre, por su enorme cariño y por la compañía de la que nunca tengo suficiente.

# ÍNDICE

RESUMEN	II
SUMMARY	III
AGRADECIMIENTOS	IV
ÍNDICE	VI
1. INTRODUCCIÓN	7
2. ANTECEDENTES	12
3. JUSTIFICACIÓN	17
4. HIPÓTESIS	17
5. OBJETIVO	17
6. SUJETOS, MATERIAL Y MÉTODOS	19
7. RESULTADOS	32
8. DISCUSIÓN	38
9. CONCLUSIONES	47
REFERENCIAS	I
APÉNDICE	X



# **1. INTRODUCCIÓN**

## **1.1 El vínculo social**

La palabra vínculo en un contexto social puede definirse como una relación de apego entre dos o más individuos (Bowlby, 1969; Broad et al., 2006). En todas las especies de mamíferos, el vínculo es una estrategia de vida que promueve la supervivencia de la siguiente generación. En el ser humano, que evolucionó como un animal social, un vínculo también se puede referir a cualquier relación social con la pareja, padres, familiares, amigos, etc. (Lee y Lok, 2012). Siendo un elemento esencial en la vida diaria de las poblaciones humanas, el vínculo social tiene un crucial impacto psicológico, fisiológico, y conductual en los individuos (Lieberwirth y Wang, 2014), incluso pudiéndose considerar como la base de la civilización (Seeman y Crimmins, 2001). Uno de los vínculos más relevantes que constituye la base familiar en el ser humano es el vínculo de pareja.

### **1.1.1 El vínculo de pareja**

El vínculo de pareja es un patrón de conducta sexual en especies animales, en el cual los machos y hembras sexualmente maduros conviven de manera relativamente permanente (Fletcher et al., 2015). Este tipo de vínculo puede ocurrir en tres contextos distintos: un macho teniendo vínculo con varias hembras (poliginia), una hembra teniendo vínculo con más de un macho (poliandria), y la monogamia, en la cual el vínculo de pareja se forma entre una hembra y un macho, generalmente de manera exclusiva y sostenida. A su vez este tipo de vínculo puede subdividirse en monogamia social, en la cual hay una asociación selectiva entre una hembra y un macho pero no hay exclusividad sexual, y la monogamia sexual, en la cual los individuos que han formado un vínculo de pareja sólo se aparean entre sí (Carter et al., 1995). La monogamia se considera una forma poco común de conducta sexual en especies mamíferas, estimándose en alrededor del 3% (Rutberg, 1983). Sin embargo, en humanos es el tipo de vínculo socio-sexual de mayor preponderancia, estando presente en más del 80% de las sociedades humanas (Chapais, 2013).

### **1.1.1.1 Monogamia**

Se ha propuesto que a lo largo de la evolución, el ser humano desarrolló la tendencia a una conducta monógama que se atribuye a una necesidad de división de labor entre la hembra y el macho, así como a la participación activa del macho en el cuidado parental dado el alto costo que implica criar a la progenie (Chapais, 2013; Fletcher et al., 2015; Gavrilets, 2012). De acuerdo con esta idea, la formación de un vínculo de pareja monógamo permite que los hijos reconozcan a sus padres de manera constante, y subsecuentemente condujo al surgimiento de un nuevo tipo de familia, el cual promovió el desarrollo de inteligencia social y de comunidades humanas cooperativas (Fletcher et al., 2015; Gavrilets, 2012).

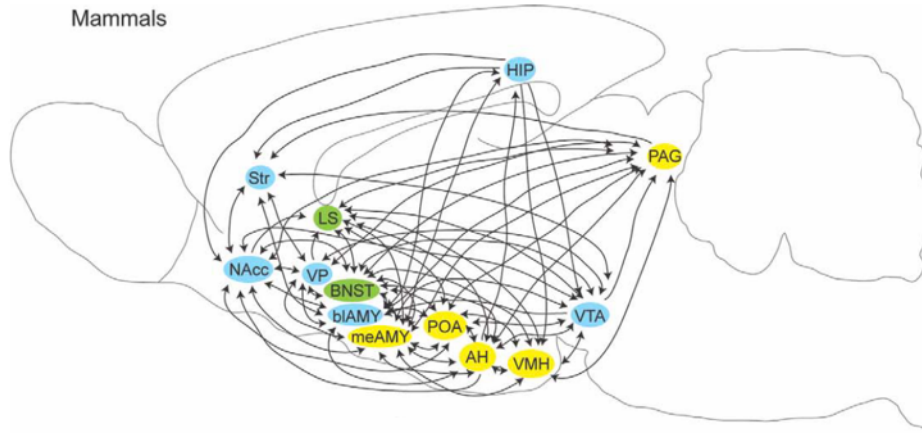
La permanencia del vínculo en una pareja socio-sexual tiene un impacto profundo en el bienestar social, cognitivo, y emocional de los mismos. Las relaciones maritales estables se han asociado a una disminución en depresión psicológica, incremento en la esperanza de vida y a una mejor respuesta inmunológica y salud cardiovascular (Kiecolt-Glaser et al., 2010). La estabilidad de una pareja incluso tiene impacto sobre su descendencia, ya que se ha encontrado que padres que constituyen un vínculo de pareja estable, tienden a mejorar el panorama de sus hijos a través de una mayor seguridad emocional y una disminución de conductas de riesgo como la delincuencia y consumo de drogas (Davies y Cummings, 1994; Stein y Vythilingum, 2009). Diversos trabajos han observado que hijos de familias con ausencia del padre tienen un mayor riesgo de contraer enfermedades y presentar un pobre desarrollo social y emocional (Waldfoegel et al., 2010). Cabe mencionar que un déficit o anomalía en la formación de vínculos sociales es una característica central de un gran número de psicopatologías, incluyendo el autismo, trastorno obsesivo-compulsivo, y estrés post-traumático (Bartz y Hollander, 2006). Dado que los vínculos sociales, incluyendo el vínculo de pareja, son un aspecto vital para una adecuada calidad de vida en el ser humano, resulta relevante y necesario estudiar los fundamentos neurobiológicos que los subyacen.

## **1.2 Neurobiología de la conducta social**

Los vínculos sociales son resultado de mecanismos hormonales y la activación de circuitos cerebrales emocionales, circuitos de recompensa y reconocimiento sensorial (Broad et al., 2006). El desarrollo de modelos que describen el procesamiento inter-regional de información ha llevado

a la denominación de redes neuronales funcionales que describen los patrones de actividad y reflejan una conducta (Kelly y Goodson, 2014). Actualmente se han descrito dos redes principales que están altamente conservadas en mamíferos y en vertebrados: la red de conducta social y el sistema mesolímbico de recompensa (Lauren A. O'Connell y Hofmann, 2011). La primera, a través de la liberación de hormonas esteroides y neurotransmisores, regula conductas sociales como la reproducción, la agresión, y el cuidado parental; el segundo evalúa la prominencia, i.e. (*saliency*) estímulos sensoriales o aspectos de estímulos que destacan por encima de otros (Uddin, 2015), a través de señalización dopaminérgica (L. A. O'Connell y Hofmann, 2012). Ambos circuitos constituyen la red de toma de decisiones sociales (SDM: social decision-making), la cual gobierna la evaluación de estímulos y la conducta social (Johnson et al., 2017) (Figura 1). Algunas regiones cerebrales que constituyen estas redes son el hipotálamo anterior (AH), el núcleo *accumbens* (NAcc), el hipocampo (HIP), el *septum* lateral (LS) la amígdala medial (MeA), el área preóptica (POA), entre otras (Ko, 2017; Lauren A. O'Connell y Hofmann, 2011). Los circuitos neuronales previamente mencionados se modulan a través de la liberación de hormonas esteroides y neurotransmisores, entre los cuales se puede mencionar la dopamina (DA), la oxitocina (OXT), la arginina vasopresina (AVP), el ácido gama-amino-butírico (GABA), glutamato, y el factor liberador de corticotropina (CRF) (Lieberwirth y Wang, 2014; K. A. Young et al., 2011). Como ejemplo, se ha encontrado que una red de conectividad funcional constituida por el hipocampo, la corteza medial prefrontal (mPFC), la corteza cingulada anterior (ACC) y la amígdala es requerida para la consolidación de la memoria de reconocimiento social en ratones, proceso que se encuentra mediado por transcripción de CREB, un factor de plasticidad neuronal (Tanimizu et al., 2017).

La diversidad en la dinámica e interacción dentro de una región y entre redes, resulta en una plasticidad cerebral que tiene repercusión directa en la conducta socio-sexual típica de cada especie y de cada sexo, (Johnson y Young, 2017; L. A. O'Connell y Hofmann, 2012). Dado lo anterior, conocer a detalle los mecanismos neurobiológicos de la conducta social es una tarea compleja, pero ha alcanzado progresos importantes.



**Figura 1. Regiones asociadas al circuito de toma de decisiones sociales (SDM) en mamíferos.**

Las regiones de la red de conducta social se representan en amarillo, las regiones del sistema de recompensa mesolímbico están marcadas en color azul y las regiones que comparten ambas redes se encuentran representadas en color verde. Leyenda de regiones: estriado (Str), área ventral tegmental (VTA), pallidum ventral (VP), núcleo accumbens (NAcc), amígdala medial (meAMY), sustancia gris central (PAG), hipotálamo ventromedial (VMH), amígdala basolateral (blaAMY), núcleo del lecho de la estria terminal (BNST), área preóptica (POA), hipotálamo anterior (AH), hipocampo (HIP) y septum lateral (LS). Tomado de (Lauren A. O'Connell y Hofmann, 2011).

El interés en dilucidar los mecanismos neurobiológicos de la conducta sexual humana a mayor profundidad ha conducido a emplear modelos animales cuyas estrategias de vida sean comparables a las humanas y permitan realizar estudios traslacionales. Entre algunos, se puede mencionar al mono tití (*Callithrix spp.*), al ratón californiano (*Peromyscus californicus*), y al topillo de la pradera (*Microtus ochrogaster*), el último obteniendo una gran popularidad en los últimos años por el gran número de ventajas descritas a continuación (K. A. Young et al., 2011).

### 1.2.1 Topillo de la pradera (*Microtus ochrogaster*)

El topillo de la pradera (*Microtus ochrogaster*) es un roedor socialmente monógamo que vive en madrigueras y su hábitat natural son los pastizales del medio oeste de E.E. U.U. y sur de Canadá (Figura 2). Estos pequeños mamíferos usualmente se encuentran en grupos familiares multi-generacionales, con una única pareja teniendo crías en un nido compartido en el cual ambos progenitores participan en el cuidado de las crías (Insel, 1997; K. A. Young et al., 2011). La estrategia socialmente monógama del topillo de la pradera se ha atribuido a las adversidades del ecosistema del cual es nativo, como es la disponibilidad de alimento (Cole et al., 1979; Young et al., 2011). Lo que hace al topillo de la pradera un modelo neurobiológico interesante, es que tienen un comportamiento social altamente desarrollado que fue descrito en campo y se puede

manifestar en un entorno de laboratorio, incluso siendo criados en cautiverio (Carter et al., 1995; Insel, 1997).

Algunas de las peculiaridades conductuales que posee esta especie es la formación de vínculos de pareja, y si llegara a ocurrir la muerte de uno de ellos, solamente el 20% de las veces el sobreviviente aceptará una nueva pareja (Lieberwirth y Wang, 2016). Las crías de la pareja usualmente permanecen en el grupo familiar y sólo son sexualmente activas cuando lo abandonan. Las hembras sexualmente maduras cambian a un estado de receptividad sexual a las 24 horas de ser expuestas a señales químicas de la orina de un macho no emparentado, con el cual si se aparean repetidamente durante al menos 6 horas o cohabitan durante 24 horas, se formará un vínculo de pareja (Williams et al., 1992). Otras conductas sociales observadas es que muestran agresividad territorial y selectiva hacia conespecíficos que consideran extraños, y presentan cuidado biparental o aloparental (Insel, 1997; Lieberwirth y Wang, 2016; K. A. Young et al., 2011). En el cuidado biparental tanto el padre como la madre muestran conductas de protección hacia las crías (Ahern et al., 2011), mientras que el cuidado aloparental es aquel provisto por individuos ajenos a los padres (Kenkel et al., 2017).

Dado el alto grado de conservación que se ha encontrado en los aspectos neurobiológicos sociales entre estos animales y los humanos, el topillo de la pradera ha demostrado ser de gran utilidad para la investigación enfocada a la depresión, autismo, vínculos sociales, apoyo social, adicciones y drogas de abuso, etc. (K. A. Young et al., 2011).



Figura 2. Ejemplares adultos de topillo de la pradera (*Microtus ochrogaster*).

## 2. ANTECEDENTES

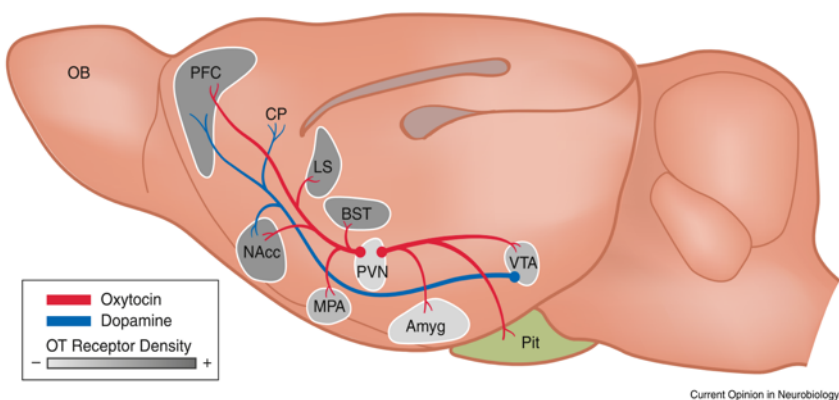
### 2.1 Modulación de la conducta social en *Microtus ochrogaster*

#### 2.1.1 El papel de la oxitocina, dopamina, y arginina-vasopresina en diferentes estrategias de vida

La OXT, DA y AVP son neurotransmisores cuya liberación tiene un papel central en la manifestación de conductas socio-sexuales en mamíferos y algunos vertebrados. A través de estudios histológicos, se ha encontrado que la activación de receptores de OXT modula la red de saliencia social (SSN) en topillos de la pradera machos (Johnson et al., 2017). Esta red incluye múltiples nodos de la red SDM, la corteza prefrontal, y el núcleo paraventricular (PVN) (Johnson et al., 2017). Otras conexiones relevantes son aquellas entre el órgano vomeronasal, el bulbo olfatorio accesorio, y la amígdala medial (MeA), los cuales tienen un rol importante en el procesamiento de señales químico-sensoriales involucradas en la formación de la preferencia de pareja o vínculo de pareja (Johnson y Young, 2017; Ko, 2017; K. A. Young et al., 2011) (Figura 3). En el caso de la DA, se ha reportado que juega un papel importante en la regulación del vínculo de pareja a través del sistema mesolímbico, el cual se ha asociado a la motivación (K. A. Young et al., 2011), y se estaría liberando en regiones específicas como el NAcc para que exista una adecuada expresión de la conducta posterior a la formación del vínculo (Zuoxin Wang y Aragona, 2004).

El topillo de la pradera tiene la ventaja de la realización de estudios comparativos, ya que otras especies de topillos cercanamente emparentadas, *Microtus montanus* y *Microtus pennsylvanicus*, comparten muchas características con *M. ochrogaster* a excepción de su comportamiento social: ambas especies no son socialmente monógamas, los machos no manifiestan cuidado parental y las madres abandonan a sus crías a los 14 días del parto (Insel, 1997; K. A. Young et al., 2011). Al comparar la distribución de receptores para OT y AVP, estos se encuentran expresados en circuitos cerebrales distintos. Como ejemplo, en *M. ochrogaster* y *M. pinetorum*, ambas especies siendo

socialmente monógamas, los receptores de OT se encuentran en regiones asociadas al circuito de recompensa, como el NAcc, el núcleo del lecho de la estria terminal (BNST) y la mPFC; mientras que en *M. montanus* y *M. pennsylvanicus* se expresan en el *septum* lateral (LS), el hipotálamo ventral medial, y en la amígdala anterior cortical (K. Gobrogge y Wang, 2016; Ross et al., 2009; K. A. Young et al., 2011). Adicionalmente, las especies de topillo monógamas expresan receptores de DA en el BNST, en el postero-dorsal de la MeA, y el área ventral tegmental (VTA), además de presentar una inervación de terminales dopaminérgicas importante en el NAcc y caudado putamen. Las especies de topillos promiscuos presentan un número bajo de células dopaminérgicas en el BNST y la MeA postero-dorsal (K. A. Young et al., 2011). Consecuentemente, se ha propuesto que las diferencias en la distribución de receptores en estas especies resultan en una actividad de circuitos cerebrales particular de la que derivan distintas estrategias de vida (Insel, 1997; Ko, 2017; K. A. Young et al., 2011).



**Figura 3. Ilustración esquemática del circuito neuronal dopaminérgico y de oxitocina involucrado en la formación del vínculo de pareja en el topillo de la pradera.**

Las densidades de receptores de OT se muestran como un gradiente en las distintas regiones donde inervan proyecciones de este neuropéptido. Leyenda de regiones: corteza prefrontal (PFC), caudado putamen (CP), área ventral tegmental (VTA), núcleo paraventricular (PVN), núcleo accumbens (NAcc), amígdala (Amyg), núcleo del lecho de la estria terminal (BNST), área preóptica medial (MPA), y septum lateral (LS). Modificado de (Lieberwirth y Wang, 2016).

En el topillo de la pradera se ha encontrado evidencia de dimorfismo sexual en circuitos de neurotransmisión involucrados en la neurobiología del vínculo de pareja. Se ha encontrado que existe una expresión y distribución diferencial de AVP en el BNST, la MeA, el *pallidum* ventral (VP), y el LS en machos respecto a las hembras (Bamshad et al., 1993; Lim y Young, 2004; Z Wang, 1995), así como en la expresión de receptores de OXT en el hipocampo (Rice et al., 2017).

Sin embargo, aún no existe un consenso sobre si la formación del vínculo de pareja es un proceso dimórfico entre sexos o no.

La identificación de estas regiones como mediadoras de la formación del vínculo es información muy relevante para comprender el mecanismo de este último. Sin embargo, estos estudios consisten en la administración de fármacos que fungen como agonistas o inhibidores de la actividad de una región específica; por lo que no se está considerando la participación conjunta de una o más regiones en el proceso de la formación del vínculo. Resultaría necesario dilucidar la interacción entre estas estructuras para entender el proceso a mayor profundidad.

### **2.1.2 El vínculo de pareja y cambios en la conectividad cerebral**

Una hipótesis actual en relación a los cambios plásticos que ocurren como resultado de la formación de un vínculo de pareja propone que la formación de éste consiste de dos procesos plásticos distintos: la formación de la representación neural de la pareja, y la preferencia selectiva por la pareja, i.e. el mantenimiento del vínculo (Walum y Young, 2018). Durante este proceso, se crea una asociación entre las propiedades reforzantes del sexo y la cópula, con la identidad olfativa de la pareja (Ulloa et al., 2018; L. J. Young y Wang, 2004; L. J. Young et al., 2005). La liberación de OXT, DA y AVP durante las interacciones socio-sexuales de los topillos de la pradera, necesariamente desencadenaría la modulación de múltiples regiones de la red SDM que expresan sus respectivos receptores, induciendo los cambios plásticos requeridos para la formación y establecimiento del vínculo (Cho et al., 1999; Johnson y Young, 2015; L. J. Young y Wang, 2004). Por ejemplo, se ha encontrado que la formación del vínculo de pareja incrementa la neurotransmisión dopaminérgica en el NAcc, lo cual favorece el mantenimiento del vínculo y también activa receptores opioides asociados a la agresión hacia conespecíficos (Resendez et al., 2016). Según el trabajo de Amadei y colaboradores (2017), registros electrofisiológicos mostraron que la mPFC y el NAcc presentan un alto grado de conectividad funcional que podría estar modulado por la liberación de OT y DA. Al manipular la conectividad funcional, i.e. la sincronía de la actividad neuronal de este circuito, se pudo acelerar la formación de un vínculo de pareja a través de la modulación de una conducta de afiliación social en hembras topillo, siendo esta el acurrucamiento o contacto lado a lado (*huddling*) con un macho. Esto quiere decir que la interacción de circuitos neuronales es sujeta a cambios plásticos observables que tienen repercusión



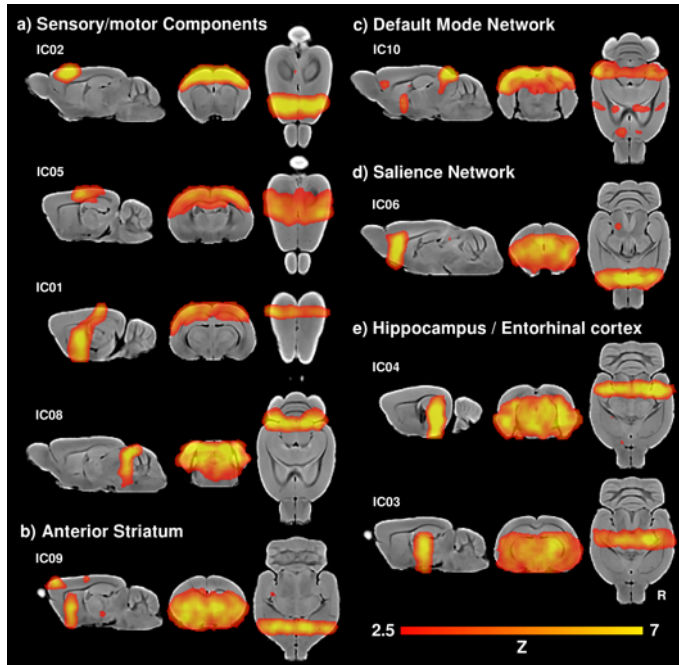
directa en la manifestación de la conducta social, pero resulta necesario determinar el papel de otras regiones o circuitos que puedan estar involucrados en este proceso.

### 2.1.3 Conectividad funcional

Los trabajos anteriores han logrado describir la forma en cómo interactúan algunas regiones neuronales, sin embargo, la necesidad de emplear métodos invasivos impide observar un panorama más amplio sobre la integración y modulación de las regiones que constituyen estas redes. La imagen de resonancia magnética funcional en estado de reposo (rsfMRI) es una técnica que permite observar la conectividad funcional de redes neuronales a gran escala (Mateo et al., 2017). La conectividad funcional se puede definir como la correlación temporal entre dos medidas neurofisiológicas de distintas regiones del cerebro (Bijsterbosch et al., 2017; Friston et al., 1993). En el caso de la rsfMRI, esta definición implica que la conectividad funcional puede dar información sobre la relación entre patrones de activación neuronal, es decir, las señales espontáneas de BOLD (blood oxygen level dependent; dependiente de nivel de oxigenación sanguínea), entre dos sitios anatómicamente separados del cerebro (van den Heuvel y Hulshoff Pol, 2010). La conectividad funcional ha demostrado estar correlacionada con actividad neuronal (Mateo et al., 2017), y está sujeta a cambiar durante procesos plásticos como es en procesos de aprendizaje y memoria tanto en humanos (Jolles et al., 2013) como en roedores (Nasrallah et al., 2016).

Al realizar estudios de rsfMRI en topillos de la pradera macho, nuestro grupo de trabajo halló evidencia importante sobre la presencia de distintas redes neuronales, en el cual se identificaron 10 y 30 componentes de conectividad funcional. Entre ellos se pudieron identificar componentes putativos de la red por defecto o de modo basal (*default mode network*; DMN), y red de prominencia (*salience*), las cuales se ha sugerido que están asociadas a comportamientos de carácter social (Ortiz et al., 2018)(Figura 4). En la red por defecto, incluso se observa una correlación en la actividad entre la corteza prefrontal y el NAcc, regiones que, según los circuitos propuestos por varios autores, están asociadas a conductas socio-sexuales (Lieberwirth y Wang, 2016; Johnson y Young, 2017). Algunos de los componentes de conectividad funcional podrían mostrar un cambio en la correlación de la conectividad si hubiera una modulación de una conducta, como es la formación de un vínculo de pareja. La realización de un mayor número de estudios que

permitían describir la naturaleza de estas redes y su modulación plástica con mayor precisión y amplitud permitiría dilucidar la interacción entre estas en conductas sociales.



**Figura 4. Redes en estado de reposo del topillo de la pradera.**

Identificación de 10 componentes de conectividad funcional a través de análisis independiente de componentes (ICA), donde se observan. **a)** Componentes sensorio/motores, incluyendo el motor (IC02), corteza parietal (IC01, IC05), colículos (IC08). **b)** Estriado y corteza de asociación frontal **c)** Red por defecto o de modo basal (*default mode network*). **d)** Red de prominencia (*saliency*). **e)** Hipocampo y corteza entorrinal (IC03, IC04). Tomado de (Ortiz et al., 2018).

### 3. JUSTIFICACIÓN

Estudios previos han encontrado una base neurofisiológica en desórdenes asociados a la conducta social, como es el trastorno obsesivo-compulsivo, la depresión, adicciones, el trastorno del espectro autista, entre otros; así como en el desarrollo de vínculos sociales, de conductas afiliativas, y en el cuidado parental. Al ser aspectos fundamentales en el bienestar del ser humano, la comprensión de los mecanismos neurobiológicos que los subyacen podrá permitir el desarrollo de tratamientos más efectivos o terapias que pueden mejorar la calidad de vida de personas que padecen las diversas condiciones, y que pueden comprometer la salud a través de la conducta social. En el modelo *Microtus ochrogaster*, se han hecho hallazgos importantes sobre cómo el desarrollo del vínculo de pareja y la manifestación de conductas socio-sexuales, son consecuencia de cambios plásticos en el cerebro, lo cuales influyen en la supervivencia y bienestar de este roedor. No obstante, estos mecanismos no han sido del todo dilucidados porque son parte de un proceso complejo que implica la participación de múltiples circuitos neuronales en el tiempo. La exploración de estos mecanismos a través de la técnica de imagenología por resonancia magnética en estado de reposo, un método novedoso con un gran número de ventajas y escasamente realizado en otros modelos, podría proveer información relevante sobre la neurobiología del vínculo social y la modulación de esta en el topillo de la pradera; además que, de ser implementado, este método tendría grandes alcances en el estudio de las conductas sociales complejas.

### 4. HIPÓTESIS

La formación del vínculo de pareja producirá cambios plásticos en la conectividad funcional de regiones neuronales que modulan la conducta socio-sexual de *Microtus ochrogaster*.

### 5. OBJETIVO

Describir la conectividad funcional de las redes en estado de reposo antes y después de la formación del vínculo de pareja en el modelo *Microtus ochrogaster*.

## 5.1 OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar los cambios longitudinales de conectividad funcional cerebral en tres tiempos distintos: conectividad basal, después de 24 horas de cohabitación, y dos semanas después de la cohabitación.
- Evaluar la expresión de conductas afiliativas en el topillo de la pradera durante las primeras 6 horas de cohabitación.
- Evaluar la formación del vínculo de pareja entre las 48 y 72 horas de cohabitación.
- Explorar los correlatos entre la conectividad funcional con la expresión de conductas afiliativas y de vínculo de pareja.

## 6. SUJETOS, MATERIAL Y MÉTODOS

### 6.1 Sujetos

#### 6.1.1 *Microtus ochrogaster*

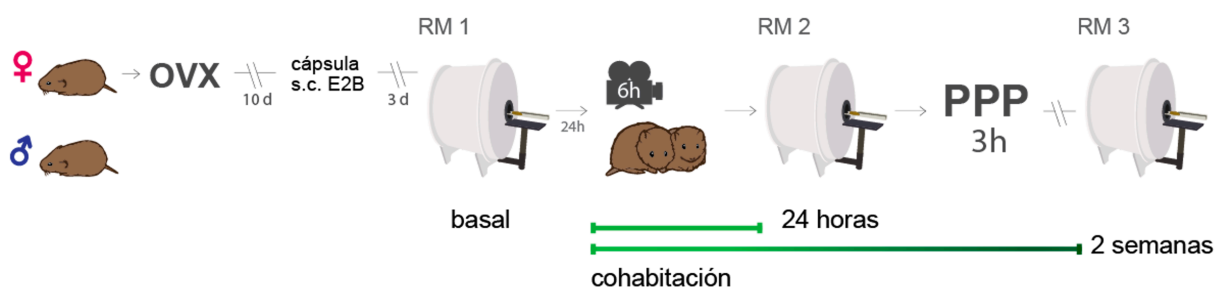
Se utilizaron topillos de la pradera hembra y macho (*Microtus ochrogaster*) adultos (12 semanas de edad) y sexualmente inexpertos. Los animales son descendientes de parejas generosamente donadas por el Dr. Larry J. Young de su colonia en Emory University. Previamente, todos los animales fueron destetados a los 21 días de nacidos y alojados en cajas de acrílico de 48×25×20 cm con sujetos del mismo sexo y en una habitación con ciclo de luz controlado (14:10 luz-oscuridad), a una temperatura de 23°C. Las pruebas conductuales se realizaron durante la fase de luz por ser la parte del ciclo donde se muestran activos. A los sujetos se les proveyó de alimento para conejo (LabDiet, St. Louis, MO, USA), avena, semillas de girasol y agua *ad libitum* dentro de las instalaciones del Instituto de Neurobiología, UNAM.

Catorce días antes de la realización de la primera prueba conductual, las hembras fueron sometidas a cirugía de ovariectomía bilateral bajo anestesia con sevoflorano; primero administrando una dosis de inducción al 3% y posteriormente al 2-2.5% como dosis de mantenimiento. Después de las cirugías, las hembras fueron alojadas en cajas individuales para su recuperación. Transcurridos 10 días de recuperación de la cirugía, una cápsula de tubo de silástico (Dow Corning™ Silastic™ Laboratory Tubing; Thermo Fisher Scientific, Pittsburg, USA) fue implantada en las hembras vía s.c. para recibir una liberación lenta de benzoato de estradiol (BE; 17β-estradiol; Sigma Aldrich, Missouri, E.E.U.U) disuelto en aceite vegetal (0.5 mg/mL de BE) cuatro días antes de las pruebas experimentales para inducir receptividad sexual (Ström et al., 2012). Los experimentos se llevaron a cabo de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-CZOO-199) y con la aprobación del Comité Local de Bioética del Instituto de Neurobiología (protocolo 072).

#### 6.1.2 Diseño experimental

Sujetos de ambos sexos ( $N=16$  machos intactos y  $N=16$  hembras ovariectomizadas (OVX) y con cápsula s.c. de BE), fueron sometidos a tres sesiones de adquisición de imágenes por resonancia magnética (RM). La primera sesión de RM se realizó con el fin de obtener un rsfMRI basal antes

de las sesiones conductuales. Un día después de la primera sesión se inició el protocolo de cohabitación, donde a cada sujeto se le asignó una pareja del sexo opuesto no emparentada y de manera aleatoria, y cada pareja fue alojada y monitoreada en una caja de acrílico limpia con el fin de permitir cópula e interacción libre con el topillo del sexo opuesto. Una vez iniciada la cohabitación, los animales ya no fueron separados de su pareja y permanecieron en su caja hogar durante el transcurso de todo el experimento, únicamente siendo separados para pruebas conductuales y sesiones de RM. Transcurridas 24 horas de cohabitación, los sujetos fueron sometidos a una segunda sesión de RM para obtener un rsfMRI posterior al inicio de la cohabitación y de interacción socio-sexual. Con la finalidad de determinar si los sujetos formaron un vínculo de pareja, se llevó a cabo la prueba de preferencia de pareja (PPP) después de la segunda sesión de RM, es decir, entre las 48 y 72 horas de cohabitación. Una vez transcurridos 14 días de cohabitación, se realizó la tercera sesión de RM (Figura 5). De acuerdo con reportes previos, el vínculo de pareja en el topillo de la pradera y sus conductas asociadas se establecen por completo a las dos semanas (14 días) de cohabitación (Aragona et al., 2006; K. L. Gobrogge et al., 2007; McNeal et al., 2014).



**Figura 5. Diseño experimental y secuencia cronológica de los protocolos experimentales.**

Las topillas fueron bilateralmente ovariectomizadas antes de los protocolos de RM y de conducta. Después de un período de recuperación de 10 días, se les implantaron cápsulas de silástico con E2B (benzoato de estradiol) vía subcutánea para inducir receptividad sexual 4 días antes del protocolo de cohabitación. Una vez que las parejas de topillos llevaron a cabo el protocolo de cohabitación, cada una fue alojada en su propia caja hogar durante el transcurso de todo el experimento, únicamente siendo separadas para pruebas conductuales y sesiones de RM. OVX: cirugía de ovariectomía. RM: sesión de adquisición de imágenes de resonancia magnética. PPP: prueba de preferencia de pareja.

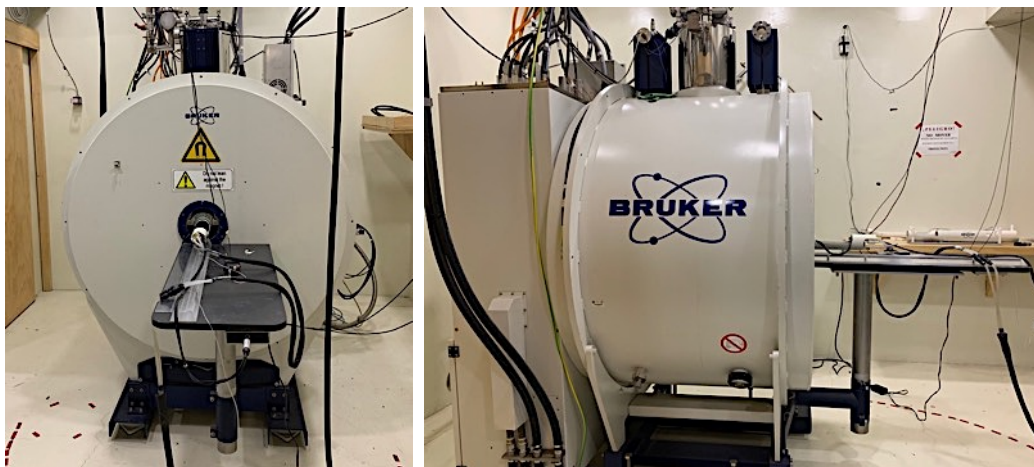
## 6.2 Resonancia magnética

Para poder describir las redes involucradas en la conducta sexual de formación de vínculo de pareja en *Microtus ochrogaster*, se utilizaron técnicas de adquisición de imágenes por resonancia

magnética, incluyendo la obtención de imágenes sensibles a cambios en la concentración de oxígeno en la sangre (BOLD, por las siglas en inglés de *Blood oxygenation level dependent*) para estudiar la conectividad funcional, y la adquisición de imágenes estructurales como referencia anatómica.

### 6.2.1 Adquisición de imágenes

La adquisición de imágenes se realizó con un equipo de resonancia magnética de 7 Teslas *Bruker Pharmascan 70/16US*, (Bruker, Ettlingen, Alemania), utilizando una bobina de transmisión/recepción *MRI CryoProbe* (Bruker, Ettlingen, Alemania) (Figura 6). Los protocolos de imagen se llevaron a cabo a través del software *Paravision-6* (Bruker, Ettlingen, Alemania). Antes de iniciar la secuencia de resonancia funcional fMRI, se adquirieron mapas de campo de una máscara elipsoide del cráneo para optimizar la homogeneidad del campo magnético local. Se obtuvieron imágenes rsfMRI BOLD utilizando una secuencia ecoplanar spin-eco (SE-EPI) de una duración de 10 minutos: tiempo de repetición (TR) = 2000 ms, tiempo de eco (TE) = 19 ms, ángulo de inclinación (*flip angle*, FA) = 90°, campo de visión (*field of view*, FOV) = 18 × 16 mm<sup>2</sup>, MD = 108 × 96, teniendo así una dimensión de voxel de 0.167 × 0.167 mm<sup>2</sup>, y un grosor de rebanada de 0.7 mm (Figura 7, b). Posteriormente se realizó un escaneo anatómico utilizando una adquisición rápida spin-eco Turbo-RARE con los siguientes parámetros: TR = 1800 ms, TE = 38 ms, factor RARE = 16, número de promedios (NA) = 2, campo de visión (FOV) = 18 × 20 mm<sup>2</sup>, una dimensión de matriz (MD) = 144 × 160, y un grosor de rebanada de 0.125 mm, resultando en voxeles isométricos de 0.125 × 0.125 × 0.125 mm<sup>3</sup> (Figura 7, c).



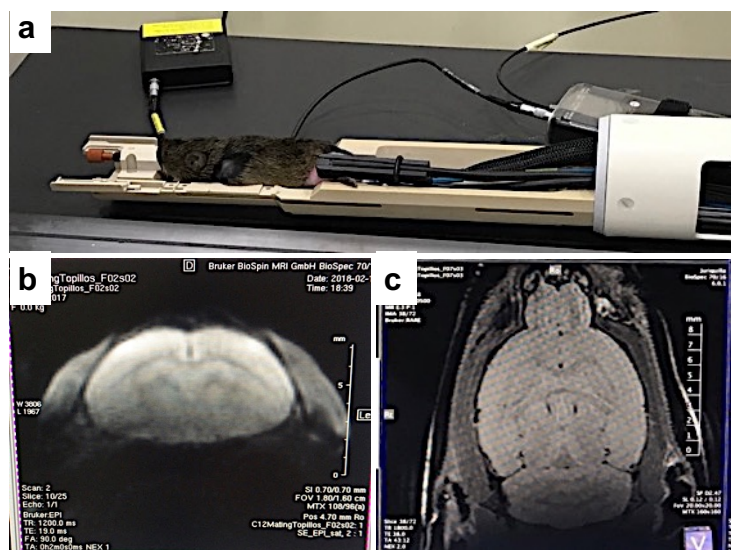
**Figura 6. Equipo de resonancia magnética.**

Resonador magnético de 7 Teslas *Bruker Pharmascan 70/16US*, (Bruker, Ettlingen, Alemania) para animales pequeños en las instalaciones del Laboratorio Nacional de Imagenología por Resonancia Magnética en el Instituto de Neurobiología, UNAM.

Dado que la adquisición de imágenes por resonancia magnética implica mantener inmóviles a los sujetos y los topillos de la pradera no se habitúan a inmovilización forzada (Yee et al., 2016), los animales fueron anestesiados durante las sesiones de adquisición para evitar movimiento excesivo y generación de estrés. El protocolo de anestesia consistió en una inducción con una mezcla de oxígeno con isoflurano al 3% para el posicionamiento del sujeto en la cama de la antena, momento en el cual la cabeza de los animales fue inmovilizada con una barra fijadora de incisivos y mantenida en su posición por un adaptador adecuado para ese fin (Figura 7a). Una vez que los sujetos fueron posicionados de manera segura, el isoflurano en la mezcla de anestesia se redujo al 2% y se les administró un único bolo de 0.05 mg/kg de dexmedetomidina (Dexdomitor, Zoetis, México) diluido en solución salina vía subcutánea. Cinco minutos después de la inyección del bolo, la dosis de isoflurano se disminuyó y mantuvo a una concentración 0.5% durante el resto de la sesión. De acuerdo con algunos reportes, la combinación de ambos anestésicos a dosis bajas es óptima para protocolos de rsfMRI en roedores y resulta en un estado de conectividad cerebral más similar al de vigilia en comparación a otros anestésicos como el isoflurano por sí solo, uretano y alfaloralosa (Grandjean et al., 2014; Paasonen et al., 2018). Sin embargo, tanto la mezcla y dosis de anestésicos como la vía de administración fueron previamente estandarizados para este trabajo en topillos de la pradera y fue suficiente para mantener al animal sedado en el tiempo requerido. El tiempo desde la inducción de la anestesia hasta la finalización de la última secuencia de adquisición de RM fue de aproximadamente 75 minutos. La temperatura corporal se mantuvo



utilizando una cama térmica de agua caliente circulante, la frecuencia respiratoria fue monitoreada con un sensor de almohadilla neumática, y la saturación de oxígeno en la sangre se registró a través de un pulso-oxímetro infrarrojo, todos los instrumentos siendo compatibles para resonancia magnética (SA instruments Inc., Stony Brook NY). La adquisición de imágenes de RM era iniciada cuando los registros fisiológicos se encontraban estabilizados (~15 minutos después de inyección del bolo). Después de las sesiones de adquisición, los animales fueron monitoreados hasta su completa recuperación de la anestesia y fueron colocados nuevamente en su caja hogar.



**Figura 7. Adquisición de imágenes de resonancia magnética.**

a) Fotografía que detalla la sujeción de un topillo en la cama del resonador con los accesorios de monitoreo fisiológico colocados y se encuentra preparado para ser ubicado en el interior del magneto. b) Ejemplo de una imagen funcional fMRI ecoplanar spin-eco de un sujeto adquirida en estado de reposo. c) Ejemplo de una imagen anatómica spin-eco Turbo-RARE pesada a T2. Fotografías tomadas por la autora.

## 6.2.2 Preprocesamiento de datos de resonancia funcional

El pre-procesamiento de los datos se realizó con el software FSL v5.0.9 (Jenkinson et al., 2012). Los primeros volúmenes de cada serie funcional fueron descartados para evitar la inestabilidad de la señal inicial. Después se llevó a cabo una corrección temporal de adquisición de volúmenes y corrección de movimiento utilizando el primer volumen como referencia. Este mismo volumen se utilizó para determinar la transformación de cuerpo rígido a la imagen anatómica correspondiente. Como mapa cerebral, se utilizó un mapa modelo para topillos de la pradera creado previamente (Ortiz et al., 2018). La transformación de cuerpo rígido se combinó con la transformación no lineal definida previamente del mapa cerebral modelo y las imágenes funcionales se llevaron al mapa cerebral modelo y re-muestreadas a una resolución final de  $0.4 \times 0.4 \times 0.4$  mm<sup>3</sup>. Una vez en el espacio del modelo, se obtuvieron los primeros 5 auto-vectores (series de tiempo) dentro de la

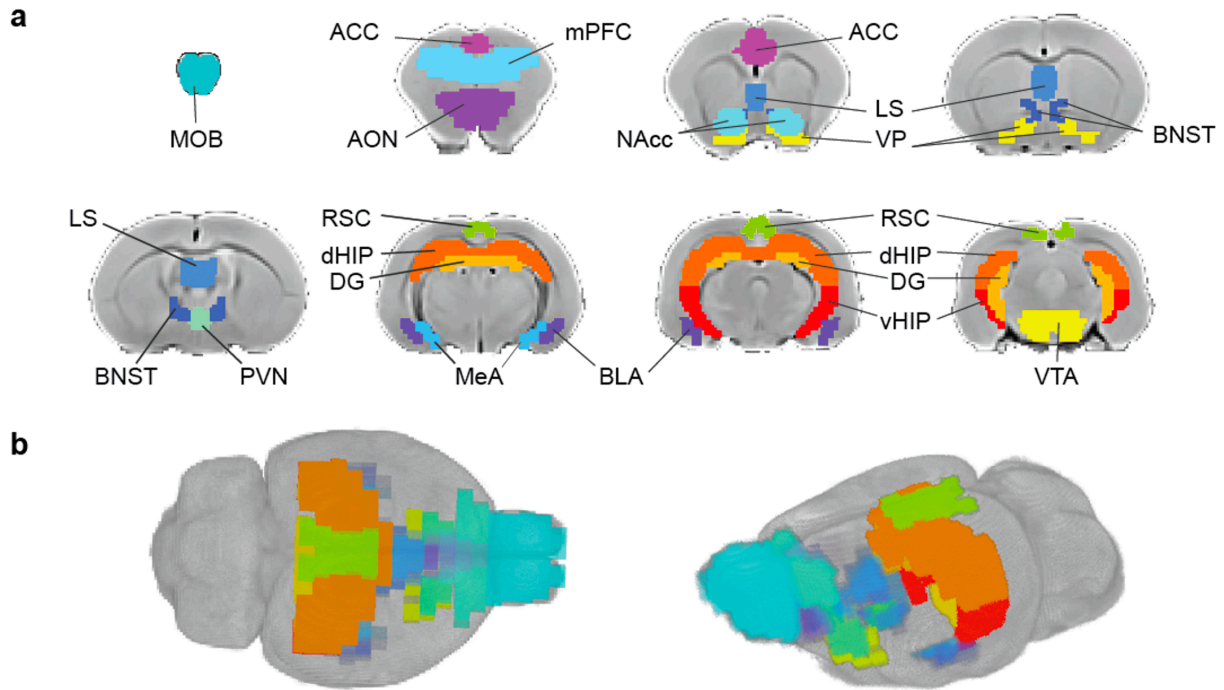
máscara combinada de sustancia blanca y líquido cefalorraquídeo, proporcionada con el template cerebral de topillos (Ortiz et al., 2018), para descartar datos asociados a ruido fisiológico (Behzadi et al., 2007). Para descartar el efecto de estos auto-vectores, aunados a los 6 parámetros de movimiento (3 rotaciones, y 3 traslaciones), se incluyeron como covariables y se realizó la regresión lineal para descartar su efecto, es decir, en adelante se continuó con el análisis de la señal residual del proceso de regresión. Finalmente, los datos fueron filtrados para retener frecuencias entre 0.01 y 0.1 Hz (Gorges et al., 2017) y suavizados con un centro (kernel) gaussiano con un ancho en el máximo medio (*full width half maximum*) de 0.8 mm.

### 6.2.3 Análisis de cambios de conectividad funcional

Para analizar cambios en la conectividad funcional antes y después de la cohabitación, se definieron 16 regiones de interés (ROIs) dada su relevancia en la conducta socio-sexual del topillo de la pradera, (Johnson y Young, 2017; Lieberwirth y Wang, 2016; Walum y Young, 2018), siendo éstas: corteza cingulada anterior (ACC), núcleo olfatorio anterior (AON), amígdala basolateral (BLA), núcleo lecho de la estría terminal (BNST), *septum* lateral (LS), amígdala medial (MeA), bulbo olfatorio principal (MOB), corteza medial prefrontal (mPFC), núcleo accumbens (NAcc), corteza retrosplenial (RSC), núcleo paraventricular (PVN), *pallidum* ventral (VP), área tegmental ventral (VTA), giro dentado (DG), hipocampo dorsal (dHIP), e hipocampo ventral (vHIP) (Lieberwirth y Wang, 2016; Johnson y Young, 2017). Estas regiones fueron definidas manualmente sobre el mapa modelo del topillo de la pradera (Ortiz et al., 2018) junto con la guía visual del atlas anatómico de ratón Allen Brain Mouse Atlas (Lein et al., 2007) con la finalidad de seleccionar el número mínimo de voxels posible que incluyeran a cada una de las regiones mencionadas (Figura 8).

Las series de tiempo promedio de cada región fueron extraídas de los datos de fMRI y se obtuvieron los valores de correlación parcial de Pearson entre todos los pares posibles de regiones de interés, lo cual permitió la construcción de matrices de conectividad específicas para cada sujeto y condición. Dada la incidencia de problemas técnicos, no se adquirieron datos basales de RM de dos sujetos (sesión 1), y de otros dos sujetos no se obtuvieron datos de RM a las dos semanas de cohabitación (sesión 3). Para poder obtener una muestra balanceada, los datos de conectividad faltantes (4 de 96 series de datos esperados) fueron sustituidos con matrices de conectividad

promedio del sexo y sesión de adquisición correspondientes. Para identificar cambios longitudinales de las matrices de conectividad, se llevó a cabo la identificación de redes con cambios significativos por medio un análisis de redes *Network Based Statistics* (NBS), que es un set de herramientas (*toolbox*) desarrollado en MATLAB (The MathWorks, Inc., Natick, Massachusetts, USA) por Zalesky y cols. (2010).



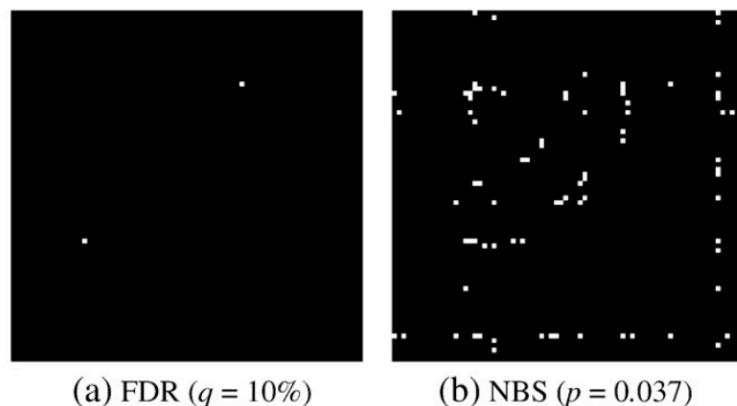
**Figura 8. Regiones de interés para el análisis de cambios en conectividad funcional.**

a) Vistas coronales antero-posteriores del mapa modelo del topillo de pradera con las máscaras de las regiones de interés (ROIs) sobrepuestas en la resolución utilizada para el análisis de conectividad funcional. b) Vistas tridimensionales dorsal (izquierda) y lateral (derecha) de las máscaras de ROIs posicionadas en el mapa modelo del topillo de pradera.

### 6.2.3.1 Análisis por *Network Based Statistics* (NBS)

La conectividad funcional cerebral a gran escala puede ser modelada como una red o un grafo, un método que cada vez se utiliza con mayor frecuencia para poder describir la complejidad de la función cerebral. Esto es porque se ha observado que el cerebro presenta propiedades organizacionales y topológicas como es la asortatividad, centralidad, agrupamiento (*clustering*), entre otras; haciendo posible el uso de ellas para estudiar las interacciones entre elementos neuronales (Zalesky et al., 2010). Consecuentemente, el modelo de grafo provee un marco ideal

para identificar conexiones estructurales o funcionales asociadas con un efecto particular o un contraste de interés; siendo el caso de este trabajo, los cambios longitudinales en la conectividad funcional cerebral en el topillo de la pradera y los correlatos conductuales con la conectividad funcional. La herramienta de análisis de redes Network Based Statistics (NBS) (Zalesky et al., 2010) emplea un análisis estadístico orientado a identificar componentes o *clusters* de conexiones conectadas entre sí, en vez de enfocarse únicamente en conexiones individuales, proveyendo un método efectivo para identificar las redes que se modulan tras la formación del vínculo de pareja. NBS se enfoca entonces en identificar redes, en vez de conexiones individuales, que cumplen con cierta condición y cuya probabilidad de ser identificadas al azar sea menor que un valor dado (típicamente  $p < 0.05$ ). Dicha probabilidad se calcula permutando los datos originales para generar una distribución nula del tamaño de los componentes más grandes que pudieran identificarse al azar, contra la cual se comparan los datos originales sin permutar. A cada componente identificado, se le asigna un valor  $p$  según su tamaño respecto a la distribución nula del máximo tamaño de componentes. De este modo, la presencia de cualquier componente, exhibido por las conexiones que constituyen el contraste de interés, es utilizado para obtener un mayor poder estadístico del que sería posible si se corrigieran los valores  $p$  de cada conexión de modo independiente, usualmente llevado a cabo a través de un procedimiento para controlar falsos positivos como el de tasa de falsos positivos o FDR (*false discovery rate*) (Zalesky et al., 2010). Dado que en el análisis estadístico de matrices de conectividad implica múltiples pruebas uni-variadas de hipótesis, es necesario controlar la probabilidad de falsos positivos (cometer un error estadístico de tipo I) que a su vez puede resultar en la pérdida de poder estadístico. La diferencia entre la utilización de un método de corrección convencional como el FDR en comparación con el método de NBS, se observó en un estudio involucrando análisis de conectividad cerebral en personas con diagnóstico de esquizofrenia respecto a un grupo control, en el que el NBS demuestra obtener un mayor poder estadístico al identificar una subred en desconexión, mientras que con el método de análisis de conectividad corregido por FDR se encontraron pocos cambios respecto al grupo control (Zalesky et al., 2010) (Figura 9).



**Figura 9. Comparación del método de análisis de redes de NBS con el método de corrección con FDR.**

Matrices de adyacencia mostrando desconexiones (bloques blancos) en un grupo con diagnóstico de esquizofrenia identificado con: (a) el método basado en corrección por FDR; y por (b) NBS. Con FDR se identificó una sola desconexión entre el giro postcentral izquierdo y el opérculo rolándico izquierdo, mientras que con el NBS se identificó una subred en desconexión consistiendo en su mayoría por regiones fronto-temporales y occipito-temporales desconectadas. Tomado de Zalesky et al., (2010)

Al llevar a cabo un análisis por medio de NBS, primero los valores de correlación parcial de las matrices de conectividad fueron transformados a valor  $z$  de Fisher. Se realizó una prueba estadística ANOVA de medidas repetidas a una significancia menor o igual a  $\alpha=0.05$ , para estimar el efecto de sesión, sexo, y su interacción (sesión\*sexo) sobre cada conexión entre los nodos de interés. Finalmente, se estimó la significancia estadística de las subredes identificadas con este umbral (*threshold*) inicial, comparando su tamaño con la distribución nula obtenida mediante 5000 permutaciones. Es importante notar que el tamaño de las componentes se definió considerando la magnitud del valor estadístico de cada conexión y no únicamente mediante el número de conexiones. Para identificar posibles relaciones entre la diversidad conductual de los sujetos y el estado de las redes de conectividad funcional en estado de reposo, se realizaron análisis de NBS utilizando como covariables a las latencias de *huddling* y los índices de preferencia de pareja de los sujetos, utilizando como contraste a cada sesión de RM. De manera similar a lo descrito previamente, para cada covariable se generaron matrices de diseño utilizando los valores de las covariables despromediados de cada sujeto; se definieron las sesiones de RM como contrastes de comparación, se estableció un umbral estadístico, y se llevaron a cabo pruebas *t de student* para comparar las matrices de conectividad con la distribución nula obtenida de 5 mil permutaciones de las mismas, a una significancia menor o igual a  $\alpha=0.05$  y siendo corregidas para múltiples comparaciones.

## 6.3 Análisis de conducta socio-sexual

### 6.3.1 Cohabitación

Un día después de la primera adquisición de imágenes por resonancia, se seleccionaron topillos macho y hembra de la misma edad de manera aleatoria considerando que no estuvieran emparentados entre sí. Después de la asignación en parejas, fueron colocados en cohabitación en una nueva caja hogar con aserrín limpio para promover interacción social *ad libitum*, incluyendo conductas de cópula, para promover la formación de vínculo de pareja. Las primeras 6 horas del protocolo de cohabitación cópula fueron videograbadas para su análisis posterior y se registraron parámetros de conducta sexual de cada pareja.

#### 6.3.1.1 Parámetros de conducta sexual

Los parámetros que se registraron en el macho durante la sesión de cohabitación fueron las latencias de monta, intromisión y eyaculación. En la monta el macho se coloca sobre la parte posterior de la hembra y realiza movimientos pélvicos, pero no hay inserción del pene en la vagina; la intromisión se registró cuando hay monta con inserción del pene, y la eyaculación se registró como una intromisión en la cual se presenta emisión de semen y se observa un intervalo post-eyaculatorio. En las hembras se midió la latencia de lordosis, siendo la lordosis definida como el reflejo de arqueamiento de la espalda y desviación de la cola a un lado que permite la inserción del pene en la vagina. Adicionalmente se registró la latencia de *huddling*, conducta afiliativa en la cual se observa un contacto de lado a lado (Figura 9).

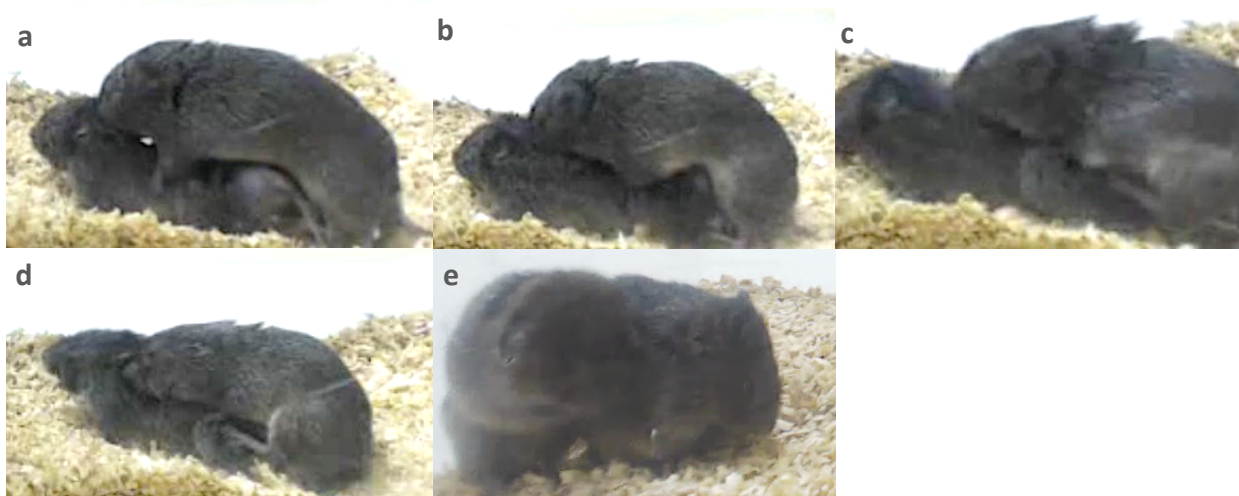


Figura 10. Parámetros de conducta sexual medidos durante las primeras horas de cohabitación.

Topillos de la pradera macho y hembra mostrando conductas socio-sexuales durante el protocolo de cohabitación. a) lordosis (hembra), b) monta (macho), c) intromisión (macho), d) eyacuación (macho), e) *huddling* (ambos). Capturas de video tomadas por la autora.

### 6.3.2 Prueba de preferencia de pareja

Para evaluar la formación de vínculos de pareja entre topillos de la pradera, se empleó una variación del protocolo experimental conocido como prueba de preferencia de pareja (PPP) o *partner preference test* (PPT) (Williams et al., 1992) entre las 48 y 72 horas de cohabitación. Para ello se utilizó una caja de acrílico translúcido con tres compartimentos, habiendo un compartimento central (neutro) de mayor tamaño (40×30×30 cm) flanqueado por dos compartimentos laterales de menor tamaño (11×10×13 cm) que se encuentran divididos del compartimento central por una pantalla de acrílico transparente con orificios. Esta configuración permite la interacción visual, olfativa y auditiva de los sujetos requeridas para la prueba, y a su vez los mantiene confinados a su lugar respectivo y evita copulación con cualquiera de los animales estímulo. En el compartimento central, el topillo a evaluar pudo moverse libremente entre las áreas incentivo adjuntas a los compartimentos laterales, ya fuera en el área asociada al compartimento lateral que corresponde a la pareja con la que vive en cohabitación, o a la de un topillo extraño del sexo opuesto y no emparentado que representó un estímulo novedoso (Figura 11). Todos los topillos extraños eran de la misma edad y condición hormonal que la pareja de los sujetos y no estaban emparentados entre sí. La posición de la pareja o del topillo extraño en los compartimentos laterales fue asignada de manera aleatoria y alternante en cada sesión, y el tiempo que pasó el sujeto evaluado en cada una de las áreas incentivas se registró y videograbó durante 3 horas. Los sujetos de cada pareja de

macho y hembra fueron evaluados alternadamente en uno de los intervalos de tiempo asignados aleatoriamente (48 ó 72 horas del inicio de la cohabitación) para promover descanso en los animales y evitar estrés excesivo.

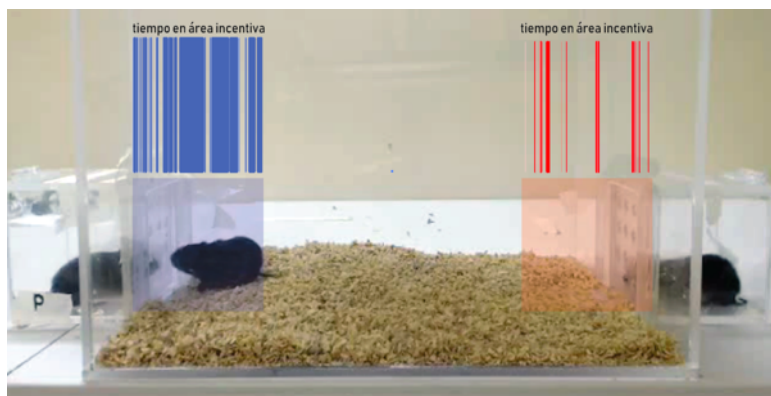


**Figura 11. Prueba de preferencia de pareja.**

El topillo evaluado es ubicado en el compartimento central, mientras que los topillos estímulo son colocados en los extremos laterales. Uno de ellos corresponde a la pareja sexual y el otro es un topillo extraño del mismo sexo al de la pareja. El tiempo que pasa el sujeto evaluado cerca de las áreas incentivas asociadas a los topillos estímulo es registrado para medir la preferencia de pareja.

### 6.3.3 Análisis conductual

El análisis de la conducta observada durante la prueba de preferencia de pareja fue realizado a través del software *UMATracker* (Yamanaka y Takeuchi, 2018); con el cual fue posible procesar el video conductual para obtener la ubicación del sujeto en durante el transcurso de la prueba y trazar las regiones de interés que son equivalentes a las áreas incentivo que corresponden ya sea a la pareja sexual del sujeto, o a la del topillo estímulo, registrando de esta manera el tiempo transcurrido en dichas regiones (Figura 11).



**Figura 12 . Análisis de la prueba de preferencia de pareja.**

El software *UMATracker* permite la contabilización del tiempo que el sujeto permanece en las áreas de incentivo asociadas a la pareja del sujeto (azul) o a un extraño (rojo).



Una vez obtenido el tiempo que el sujeto permaneció en ambas áreas de incentivo, se calculó un porcentaje de preferencia de pareja, el cual se obtuvo dividiendo el tiempo que el sujeto pasó con la pareja, entre la suma del tiempo con el extraño y el tiempo con la pareja y multiplicado por cien (Ecuación 1). Este porcentaje de preferencia considera que, durante el transcurso de la prueba, el sujeto no siempre está llevando a cabo contacto social, por lo que, en lugar de calcularse sobre el tiempo total, se calcula sobre el tiempo de interacción social en ambas áreas de incentivo. Para la comparación de conectividad funcional cerebral y variabilidad conductual en los sujetos, se calculó un índice de preferencia de pareja (Ecuación 2). Los datos fueron procesados y calculados en el software *MS Excel* (Microsoft; Redmond, E.E.U.U.).

$$\text{Ecuación 1} \quad \% \text{ de preferencia de pareja} = \frac{\text{tiempo con pareja}}{(\text{tiempo con pareja} + \text{tiempo con extraño})} \times 100$$

$$\text{Ecuación 2} \quad \text{índice de preferencia de pareja} = \frac{\text{tiempo con pareja}}{(\text{tiempo con pareja} + \text{tiempo con extraño})}$$

### 6.3.3.1 Análisis estadístico

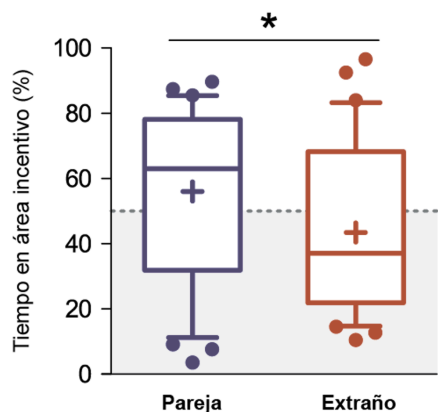
El análisis previo de la normalidad de los datos por medio de una prueba de Shapiro-Wilk reflejó una distribución no normal, por lo que se utilizó la prueba U de Mann Whitney para evaluar si existía una diferencia significativa entre la preferencia por la pareja del sujeto sobre un topillo extraño en topillos macho y hembra. El análisis estadístico de los datos conductuales se llevó a cabo con el software *GraphPad Prism 5.0* (GraphPad; La Jolla, E.E.U.U.).

## 7. RESULTADOS

### 7.1.1 Los topillos de la pradera presentan preferencia de pareja a las 48 horas de cohabitación, habiendo una amplia variabilidad individual.

El análisis conductual de la sesión de cohabitación permitió la obtención de las latencias de monta (*media*  $\pm$  *error estándar*: 65.42  $\pm$  31.64 min), intromisión (115.92  $\pm$  35.28 min), y eyaculación (125.11  $\pm$  34.41 min) de los topillos macho utilizados en la prueba ( $N=16$ ). La latencia de lordosis (22.31  $\pm$  13.29 min) fue registrada en los topillos hembra ( $N=16$ ), y las latencias de *huddling* (69.53  $\pm$  15.83 min) fueron obtenidas de cada una de las parejas. Durante el tiempo en que se evaluó la sesión de cohabitación (6 horas), se encontró una amplia variabilidad en las latencias de dichas conductas en ambos sexos. Tres de las dieciséis parejas analizadas no copularon durante el tiempo registrado, sin embargo, todos los sujetos mostraron conductas de *huddling* y de acicalamiento hacia su pareja sexual.

Entre las 48 y 72 horas de cohabitación, se evaluó la preferencia de pareja en cada sujeto ( $N=32$ ). Se encontró una diferencia significativa entre el porcentaje de tiempo transcurrido en el área de incentivo asociada con la pareja (*mediana*: 55.33 %) respecto al área de incentivo correspondiente al topillo extraño (*mediana*: 37.1%) en todos los sujetos ( $U = 378, p = 0.036, r = 0.32$ ) (Figura 13). El sexo no mostró ser un factor diferencial en la preferencia de pareja, ya que no se encontraron diferencias significativas entre machos y hembras en su preferencia por el área asociada a la pareja ( $U = 121, p = 0.81, r = 0.05$ ) o por el topillo extraño ( $U = 118, p = 0.72, r = 0.07$ ); y tampoco el tiempo de realización de la prueba, no habiendo diferencias significativas en el índice de preferencia de pareja entre las 48 y 72 horas ( $U = 119, p = 0.75, r = 0.06$ ). Al igual que lo observado al inicio de la cohabitación, a pesar de que existe una preferencia estadísticamente significativa por la pareja, estos datos muestran una amplia variabilidad individual, en la cual algunos de los sujetos presentan una marcada preferencia tanto hacia la pareja como hacia el extraño como ninguna (Figura 13).

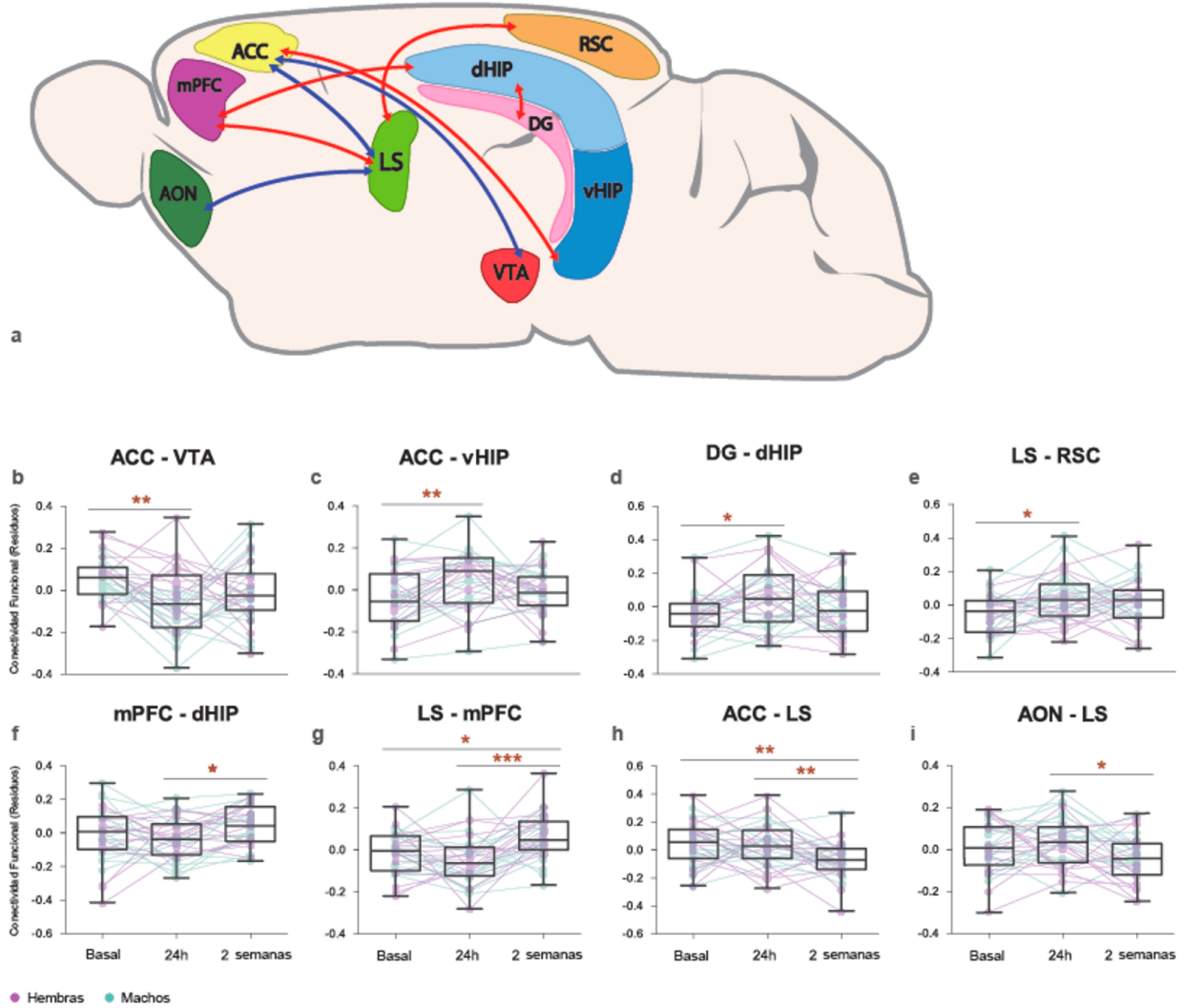


**Figura 13. Preferencia de pareja a las 48 y 72 horas de cohabitación en topillos macho y hembra.**

Gráficas de caja con bigotes de percentiles (10-90). Entre las 48 y 72 horas de cohabitación, se evaluó la preferencia de pareja en cada sujeto ( $N=32$ ). Se encontró una diferencia significativa entre el porcentaje de tiempo transcurrido en el área de incentivo asociada con la pareja respecto al la del topillo extraño en todos los sujetos. La línea horizontal dentro la caja indica la mediana de la muestra y el “+” representa la media. PPP: Prueba de preferencia de pareja.

### 7.1.2 La cohabitación y cópula en topillos de la pradera induce cambios a largo plazo en una red de conectividad funcional cerebral.

El análisis de NBS resultó en cambios significativos ( $p=0.005$ ,  $N=32$ ) en una red de conectividad funcional consistiendo en 9 regiones (ACC-LS; ACC-VTA; ACC-vHIP; AON-LS; LS-RSC; LS-mPFC; mPFC-dHIP; dHIP-DG). Los nodos con un mayor número de cambios fueron el LS, con cuatro conexiones interregionales, y la ACC con tres, respectivamente. Las pruebas *Tukey* para análisis post-hoc revelaron diferencias significativas entre la conectividad funcional basal y 24h de cohabitación entre los siguientes nodos: ACC-VTA, LS-RSC y DG-dHIP ( $p^*<0.05$ ) y ACC-VTA ( $p^{**}<0.01$ ). Entre conectividad funcional basal y 2 semanas de cohabitación, en LS-mPFC ( $p^*<0.05$ ), y ACC-LS ( $p^{**}<0.01$ ); y al comparar la conectividad a las 24h de cohabitación con 2 semanas de cohabitación, se encontró diferencias de conectividad funcional entre AON-LS y mPFC-dHIP ( $p^*<0.05$ ), ACC-LS ( $p^{**}<0.01$ ), y entre LS-mPFC ( $p^{**}<0.001$ ), sugiriendo cambios de conectividad a largo plazo relacionados a la cohabitación. El detalle de los cambios de conectividad se muestra en la Figura 14.



**Figura 14. Cambios en conectividad funcional cerebral antes y después de cohabitación y cópula en topillos de la pradera.**  
**a)** Representación del cerebro del topillo de la pradera con regiones (nodos) constituyendo la red que sobrelleva cambios significativos de conectividad funcional después de la cohabitación con cópula. La conectividad interregional (líneas) son mostradas en código de color. Rojo: incremento de conectividad funcional. Azul: disminución de conectividad funcional. ACC: corteza cingulada anterior. AON: núcleo olfatorio anterior. DG: giro dentado. dHIP: hipocampo dorsal. LS: *septum* lateral. mPFC: corteza medial prefrontal. RSC: corteza retrosplenial. VTA: área tegmental ventral. **(b-i)** Gráficas de caja (boxplot) de percentiles 25-75 con bigote de mínimos y máximos mostrando los valores de conectividad funcional relativos (eje y) obtenidos de la regresión para controlar la variable del sexo. Las líneas conectan los cambios longitudinales de conectividad funcional de cada sujeto entre regiones y sesiones de escaneo por rsfMRI: Basal, 24h y 2 semanas de cohabitación (eje x). Diferencias significativas en prueba post-hoc de Tukey son indicadas: \* < 0.05, \*\* < 0.01 \*\*\* < 0.001.

### 7.1.3 La conectividad funcional basal predice la expresión de una conducta afiliativa

Considerando que el análisis conductual durante la prueba de cohabitación reflejó un alto nivel de variabilidad individual, y que la conducta afiliativa de *huddling* ha mostrado ser relevante

socialmente en el topillo de la pradera y puede influenciar en la formación del vínculo de pareja (Amadei et al., 2017), se evaluó si existía una relación entre la conectividad funcional basal, i.e. antes de la cohabitación, y la latencia al *huddling* durante la cohabitación en topillos de la pradera en ambos sexos ( $N=32$ ). El análisis por medio de NBS halló relaciones lineales negativas significativas en las siguientes subredes: ACC-BLA-NAcc-DG ( $p=0.007$ ), RSC-VTA ( $p=0.031$ ), y entre MeA-VP ( $p=0.032$ ) (Figura 15). Estos resultados muestran que entre mayor es la conectividad funcional entre estas regiones antes de la cohabitación (conectividad basal), menor es la latencia al *huddling* durante el inicio de la cohabitación en topillos de la pradera. Un análisis adicional *a posteriori* de correlación de  $r$  de *Spearman* identificó la fuerza de correlación entre cada nodo conectado en la subred ACC-BLA-NAcc-DG: BLA-NAcc ( $r(30) = -0.488, p = 0.005$ ), ACC-NAcc ( $r(30) = -0.500, p = 0.003$ ), BLA-DG ( $r(30) = -0.382, p = 0.031$ ). Los datos obtenidos señalan que el nivel de conectividad funcional entre las regiones mencionadas indica una predisposición en los topillos de la pradera a expresar una conducta afiliativa.

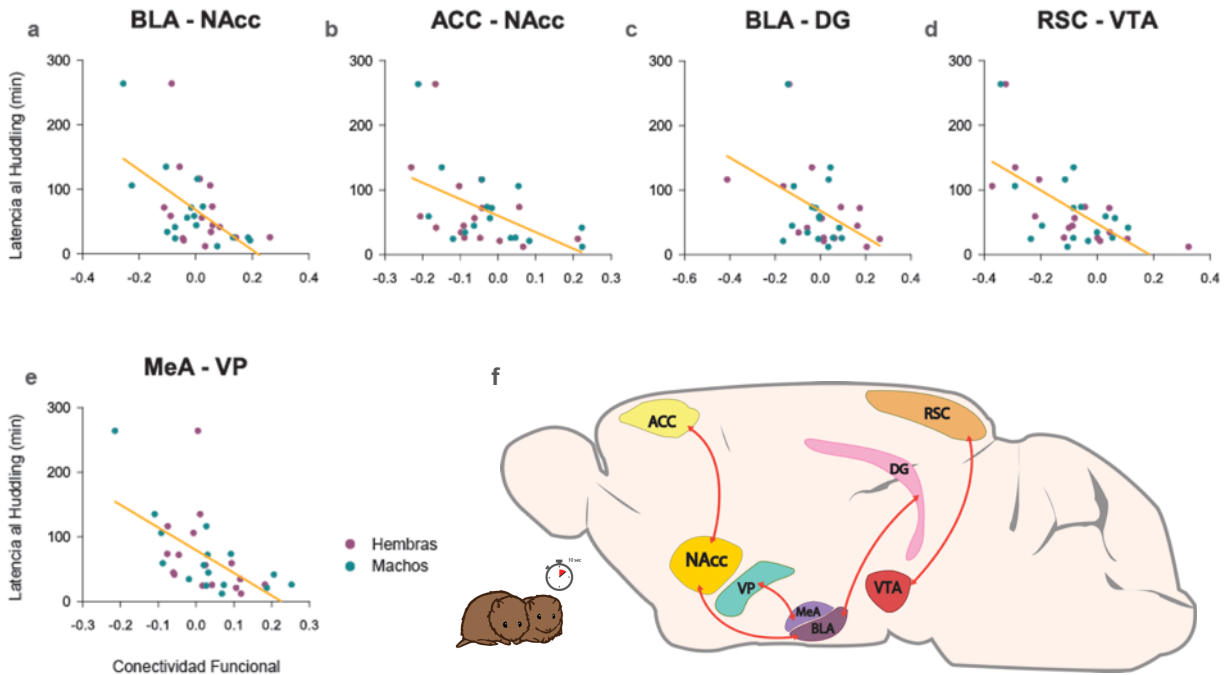
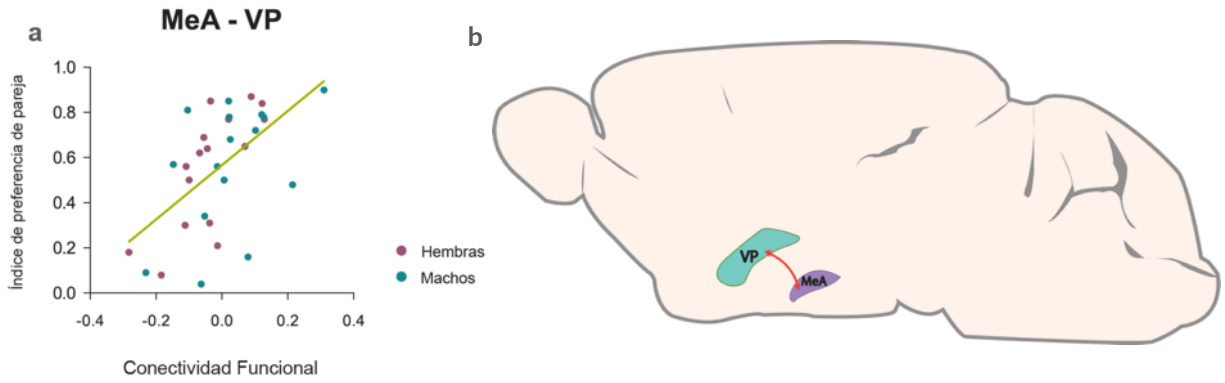


Figura 15. Relaciones entre la conectividad funcional basal y la expresión de conducta afiliativa (*huddling*) durante el inicio de la cohabitación c/copula en topillos de pradera.

Gráficas de dispersión (a-e) mostrando relaciones lineales negativas significativas (c/ línea de tendencia) entre la conectividad funcional basal y la latencia al *huddling* (min) medida las primeras 6 horas de cohabitación. Entre mayor era la conectividad entre estas regiones antes de la cohabitación, más corta fue la latencia al *huddling* durante la cohabitación en topillos de la pradera de ambos sexos (n=32). (f) Representación de un cerebro de topillo de la pradera con las regiones (nodos) que constituyen las subredes cerebrales que tienen una relación lineal con la latencia al *huddling*. ACC: corteza cingulada anterior. BLA: amígdala basolateral. DG: giro dentado. MeA: amígdala medial. NAcc: núcleo *accumbens*. RSC: corteza retrosplenial. VP: *pallidum* ventral. VTA: área ventral tegmental.

#### 7.1.4 La preferencia de pareja a 48 h de cohabitación predice la conectividad funcional a largo plazo entre la MeA y el VP

Dado que se encontraron diversos cambios a nivel de red como consecuencia de la cohabitación y cópula *ad libitum*, se procedió a evaluar si la preferencia de pareja medida entre las 48 y 72 horas de cohabitación pudiera tener una relación con la conectividad funcional en algunas de las sesiones de RM estudiadas. Los resultados del análisis por NBS hallaron una relación lineal positiva entre el índice de preferencia de pareja con la conectividad funcional entre el VP con la MeA a las dos semanas de cohabitación ( $p=0.027$ ). Estos datos sugieren que entre mayor es la preferencia de pareja entre las 48 y 72 horas de cohabitación, mayor será la conectividad funcional entre el VP y la MeA en los topillos de la pradera a dos semanas de cohabitación.



**Figura 16. La preferencia de pareja a las 48h de cohabitación predice la conectividad funcional a largo plazo entre la MeA y el VP.**

Gráfica de dispersion (a) del índice preferencia de pareja y conectividad funcional entre la MeA y VP a las 2 semanas de cohabitación mostrando una relación lineal positiva significativa. (b) Representación del cerebro del topillo de la pradera con regiones (nodos) que constituyen la subred relacionada con el índice de preferencia de pareja. MeA: amígdala medial. VP: *pallidum* ventral.

## 8. DISCUSIÓN

Diversos estudios han descrito la relevancia de diferentes regiones cerebrales involucradas en conductas sociales como las conductas afiliativas y la formación del vínculo de pareja (Johnson y Young, 2017; Walum y Young, 2018; L. J. Young et al., 2005). Se han propuesto algunos modelos de cómo interactúan estas regiones para entender la compleja dinámica de estas conductas, sin embargo, estudios longitudinales sobre cambios en el cerebro como consecuencia de la formación de un vínculo de pareja son escasos (Bales et al., 2007; Hostetler et al., 2017), especialmente desde la perspectiva de redes cerebrales. A través del rsfMRI, en este trabajo fue posible detectar cambios longitudinales en la conectividad funcional de los cerebros de topillos de la pradera macho y hembra. Los análisis post-hoc revelaron cambios de conectividad diferenciales a corto y largo plazo involucrando la ACC, el LS y la formación hipocampal. Adicionalmente, la conectividad funcional basal (antes de la cohabitación) predice la latencia al *huddling* durante las primeras horas de cohabitación, proveyendo un potencial sustrato neurofuncional para la variabilidad de conductas sociales y afiliativas, y extendiendo hallazgos recientes sobre la modulación electrofisiológica corticoestriatal sobre una conducta afiliativa en los topillos de la pradera (Amadei et al., 2017). Finalmente, la preferencia de pareja evaluada entre las 48 y 72 horas de cohabitación predijo la conectividad funcional a largo plazo entre el VP y la MeA. La conectividad basal entre estas regiones también predijo la expresión de una conducta afiliativa, exaltando la relevancia de dicha interacción tanto para la conducta social inicial como para el mantenimiento del vínculo de pareja a largo plazo. Las implicaciones de nuestros resultados, así como sus posibles bases neurofisiológicas serán discutidos en breve.

### 8.1 Cambios longitudinales en la conectividad funcional posteriores a la formación del vínculo de pareja

Se ha propuesto que el vínculo de pareja es el resultado de la convergencia del sistema mesolímbico dopaminérgico de recompensa con circuitos de discriminación social (Walum y Young, 2018). Los resultados presentados en este trabajo son consistentes con este modelo al demostrar cambios a corto y largo plazo en una red cerebral ampliamente asociada con recompensa/motivación (ACC, NAcc, VTA); con la red SDM, específicamente en regiones relacionadas a la contextualización



sensorial (DG, dHIP, LS, RSC), con el procesamiento de estímulos de prominencia (*saliency*) (LS, ACC, VTA), y con la formación y evocación de memoria (DG, dHIP, mPFC, vHIP).

Los cambios de conectividad funcional a las 24 horas de cohabitación pueden ser resultado de la familiarización de un nuevo contexto espacial que también implica un nuevo contexto social, i.e. exposición a una nueva caja hogar y a un conoespecífico novedoso del sexo opuesto. Durante este proceso, los sujetos son expuestos a estímulos novedosos y llevan a cabo sus primeras interacciones socio-sexuales, formando memorias sobre la nueva pareja. Además, los cambios de conectividad funcional detectados a las 2 semanas de cohabitación podrían estar relacionados a la modulación conductual a largo plazo como resultado del vínculo social, en el cual la pareja y sus estímulos asociados se tornan salientes y/o recompensantes, y pueden aparecer conductas asociadas al vínculo de pareja, como la protección territorial y hacia la pareja. En general, estos cambios de conectividad temporalmente dinámicos podrían estar relacionados a la modulación de interacciones socio-sexuales con la pareja. Mientras que los nodos identificados se encuentran interconectados en una red de mayor tamaño, y su contribución precisa en la expresión de conductas sociales complejas se mantiene desconocida por los métodos utilizados, su rol potencial será discutido con base a estudios previos y a los patrones de conectividad hallados en este trabajo.

Las interacciones funcionales que mostraron cambios a las 24 horas de cohabitación incluyeron a la ACC y al VTA, regiones que podrían estar regulando la prominencia o relevancia de estímulos sensoriales. La ACC se ha considerado una región relevante en el proceso de toma de decisiones entre la percepción sensorial, la motivación y la ejecución motora final (Assadi et al., 2009), y el VTA es una región conocida por la modulación de estímulos sobresalientes, de recompensa y de motivación (Elston y Bilkey, 2017; Gunaydin et al., 2014). Existe evidencia de que el VTA modula la liberación de DA en regiones prefrontales para regular estímulos conductualmente relevantes (Takahata y Moghaddam, 2002), incluyendo estímulos sexualmente relevantes (Cortes et al., 2019). Por lo tanto, existe la posibilidad que los cambios de conectividad funcional detectados podrían estar relacionados a la regulación en la motivación sexual como resultado de una experiencia sexual recién adquirida. Esta motivación inicial podría ser necesaria para promover interacciones socio-sexuales futuras que pudieran inducir la formación del vínculo de pareja.

Una interacción social necesariamente requiere de la consolidación de nuevas memorias, y posiblemente, la formación de la representación neural de la pareja. Nuestros datos mostraron cambios de conectividad funcional en la formación hipocampal después de 24 horas de cohabitación (ACC-vHIP, DG-dHIP; Figura 14), la cual ha demostrado ser crítica en la codificación de información espacial y mnemónica en roedores y humanos (Kitamura et al., 2017; Squire, 2004). La región dorsal de CA2 ha sido caracterizada como un eje de procesamiento de memoria sociocognitiva en roedores, específicamente para la codificación, consolidación, y evocación de memoria social (Meira et al., 2018), así como de reconocimiento social (Hitti y Siegelbaum, 2014; Stevenson y Caldwell, 2014). El incremento de conectividad entre dHIP-DG podría estar relacionado a la consolidación de la memoria asociada a la pareja, ya que se ha mostrado que el DG juega un papel importante en el reconocimiento social (Kesner, 2018). Cabe mencionar que la actividad entre la ACC-vHIP ha sido asociada previamente a la regulación del miedo en entornos novedosos y en la generalización de miedo contextual en roedores (Bian et al., 2019). Sin embargo, las regiones ventrales de CA1 y CA3 también han demostrado contribuir en el procesamiento de memoria social (Chiang et al., 2018; McHugh et al., 2004; Okuyama et al., 2016) y en la modulación de sociabilidad en roedores (Felix-Ortiz y Tye, 2014). Además, se ha considerado que la ACC facilita la integración de información nueva en representaciones internas previamente existentes, i.e. la formación de asociaciones de aprendizaje (Rolls, 2015), que podrían modificar y modular la motivación de conductas futuras (Bryden et al., 2011; Kolling et al., 2016). Por lo tanto, el incremento de conectividad entre ACC-vHIP a las 24 horas de cohabitación podría estar relacionada a la formación de memoria social, pero también podría existir una relación con un incremento en la ansiedad desencadenado por un nuevo entorno social y espacial.

A las 24 horas de cohabitación, también se identificó un incremento de conectividad entre el LS y la RSC. El LS es una estructura involucrada en el reconocimiento social y en la evocación de información relevante socialmente (Bielsky et al., 2005; Everts y Koolhaas, 1997). Respecto a la RSC, es sabido que está involucrada en el procesamiento de la memoria y cognición espacial en roedores (Mitchell et al., 2018). El incremento de conectividad entre el LS y la RSC a las 24 horas podría estar relacionada al procesamiento de información contextual y a la asociación de información social con un contexto espacial. Es interesante tomar en consideración que, a las 2 semanas de cohabitación, el incremento de conectividad entre estas regiones no persiste, lo cual

sugiere que esta interacción es más relevante a corto plazo, posiblemente durante el proceso de consolidación de la memoria.

Transcurridas 2 semanas de cohabitación, la conectividad funcional entre la mPFC y el dHIP incrementó. La mPFC ha sido propuesta como una región importante para la evocación de memoria remota y para la consolidación de la memoria, y depende de actividad del hipocampo durante este proceso (Euston et al., 2012). En consecuencia, el incremento de actividad en esta interacción podría promover la integración de nuevas memorias en redes pre-existentes (Preston y Eichenbaum, 2013). Posiblemente, el incremento de conectividad entre estas regiones podría estar relacionado a la incorporación de la memoria de la pareja a representaciones neurales de memoria de largo plazo. En efecto, la activación de receptores de OXT en el dHIP promueve la persistencia a largo plazo de memoria de reconocimiento social en ratones (Lin et al., 2017).

Entre la mPFC y el LS se detectó un incremento de conectividad a largo plazo, y decrementos en conectividad también fueron observados entre la ACC-LS y el AON-LS a las 2 semanas de cohabitación. Como se mencionó previamente, el LS está involucrado en el reconocimiento social y en la evocación de información con relevancia social. Se ha mostrado que en ratas, la liberación de OXT en el LS es requerida para el mantenimiento de memoria social, la cual es modulada por la relevancia del estímulo social (Lukas et al., 2013). Por ende, los cambios de conectividad en el LS estarían relacionados a la modulación del reconocimiento social y de la conducta resultante a largo plazo, la cual podría estar mediada por aferencias de estructuras prefrontales, i.e. la mPFC y la ACC (ACC-LS-mPFC), y por información sensorial proveniente del AON (AON-LS). Es más, la ya mencionada ACC podría tener un rol en la regulación de estímulos prominentes y en procesos de toma de decisiones, mientras que a la mPFC se le ha atribuido una función en el inicio, mantenimiento y modulación de apego y conducta social en roedores (Dalley et al., 2004; Ko, 2017; Smeltzer et al., 2006; Tanimizu et al., 2017). Esta última también se considera relevante en tareas en las que los animales deben seleccionar nuevas reglas, basadas en los estímulos detectados, para poder modificar la conducta expresada de manera apropiada (Kingsbury et al., 2012). Por el otro lado, la activación del AON es esencial para el reconocimiento de conespecíficos y promueve la extracción de información olfatoria relevante desde el MOB en ratas (Oettl et al., 2016), requiriendo la activación de receptores de OXT para promover la selección de estímulos y facilitar

la formación de memoria (Barlow, 2012). Ya que el bloqueo de receptores de AVP y OXT en el LS inhibe, mientras que la administración exógena de AVP favorece la formación del vínculo de pareja en topillos de la pradera (Liu et al., 2001), y que los topillos machos expuestos a topillas tienen un incremento de células inmunoreactivas a Fos en el LS (Z Wang et al., 1997), es sugerente proponer que el LS es el nodo que permite la integración de información olfatoria con información saliente o de motivación, la cual sería necesaria para el reconocimiento de conespecíficos y la subsecuente modulación conductual.

Si bien hay estudios histológicos que han evidenciado dimorfismo sexual en la innervación de sistemas de neurotransmisión involucrados en el vínculo de pareja, como son la expresión diferencial de receptores de AVP y su distribución en regiones como el BNST, la MeA, el LS y el VP en topillos macho (Bamshad et al., 1993; Z Wang, 1995), y la expresión diferencial del receptor de OXT en el hipocampo (Rice et al., 2017); la conectividad funcional explorada en este trabajo no mostró diferencias significativas entre sexos, o interacciones significativas entre sesión de RM y sexo. Por consiguiente, nuestros resultados evidencian la modulación de redes funcionales consistentes tanto para topillos de la pradera machos como hembras. Con ello, proponemos que los cambios de conectividad funcional de largo plazo observados en la red se encuentran relacionados a la formación de un vínculo social y podrían conducir a la inducción y mantenimiento de un vínculo de pareja en los topillos de la pradera.

## **8.2 Correlaciones entre la conectividad funcional de subredes con la latencia al *huddling* y el índice de preferencia de pareja**

Aun cuando se ha reportado que en los topillos de la pradera, 24 horas de cohabitación o 6 horas de cópula *ad libitum* son suficientes para el desarrollo de un vínculo de pareja (Williams et al., 1992), una considerable cantidad de evidencia ha demostrado la existencia de factores que pueden influenciar su inducción y mantenimiento. Específicamente, los niveles de expresión genética y la densidad de receptores a AVP (Okhovat et al., 2015; Ophir et al., 2008) y de OXT (King et al., 2016; Olazábal y Young, 2006; Ophir et al., 2012; Perkeybile et al., 2018), ausencia (Tabbaa et al., 2017) o cuidado parental (Arias del Razo y Bales, 2016; Perkeybile et al., 2018), han mostrado producir variabilidad en la exhibición de la conducta social del topillo de la pradera. En este trabajo,

sujetos de ambos sexos mostraron una amplia variabilidad en la expresión de conductas afiliativas entre las 48 y 72 horas de cohabitación, aun cuando estuvieron sometidos a las mismas condiciones experimentales. Es muy probable que la suma de los factores previamente mencionados otorga a cada sujeto una configuración distintiva de circuito neuronales que refleja una expresión diferencial en la conducta. Dado lo anterior, surgió la hipótesis de que podría haber diferencias individuales en la conectividad funcional cerebral que explicaría la variabilidad observada en la conducta socio-sexual. En efecto, se identificaron tres subredes funcionales para las cuales la conectividad funcional basal tenía una relación negativa con la latencia al *huddling* durante las primeras horas de cohabitación. En otras palabras, la conectividad funcional basal entre estas regiones pudo predecir qué tan rápido los sujetos inician la conducta de *huddling* cuando interactúan con un con específico del sexo opuesto que acaban de conocer. El *huddling* es una conducta afiliativa medible en este modelo animal y es un indicador útil de receptividad social (Beery et al., 2018; Salo et al., 1993). La subred de mayor tamaño incluye cuatro nodos relacionados de la siguiente manera: ACC-NAcc-BLA-DG (Figura 15), mientras que las otras dos sólo poseen dos nodos: MeA-VP y VTA-RSC. Estas subredes involucran regiones previamente asociadas a mecanismos de memoria y de reconocimiento social, a memoria espacial, y de búsqueda de recompensa. Particularmente, la BLA y la ACC han sido reportadas relevantes en la coordinación de actividad cerebral en el inicio de interacciones sociales y en la formación de memoria de reconocimiento social a través de expresión génica (Garrido Zinn et al., 2016; Tanimizu et al., 2017). En línea con nuestros resultados, la BLA podría actuar como un sitio de asociación de representaciones de estímulo-respuesta (Cardinal et al., 2002), permitiendo una acción apropiada de acuerdo a encuentros sociales previos y podría requerir información mnemónica codificada por el DG (BLA-DG). Parte de una interacción social, una vez que un con específico ha sido reconocido, involucra un componente de recompensa. Se sabe que el NAcc recibe información de predicción de recompensa de la amígdala (BLA-NAcc) para promover respuestas conductuales de búsqueda de recompensa evocadas por estímulo (Ambroggi et al., 2008; Stuber et al., 2011); información adicional de la ACC (ACC-NAcc) sería necesaria para un proceso de toma de decisiones social y ejecución motora (Seo y Lee, 2012; Zhong et al., 2017). Adicionalmente, un estudio reciente mostró que en topillas de la pradera, la conectividad funcional entre la mPFC y la NAcc después de la primera interacción social predice la expresión del *huddling* con la pareja, y la activación de dicho circuito genera una tendencia en la preferencia por la pareja (Amadei et al., 2017). Nuestros resultados extienden estos hallazgos, al

mostrar que una red de mayor tamaño que incluye conectividad corcicoestriatal similar medida antes de la exposición a un conoespecífico, puede predecir la expresión de una conducta afiliativa (*huddling*). Aunado a ello, este hallazgo es consistente tanto para machos como hembras, y el circuito incluye a la amígdala y al hipocampo, tal como fue predicho por Amadei y cols. (2017).

Adicionalmente, otros dos circuitos también predijeron la expresión de conducta afiliativa, el de VTA-RSC y el de MeA-VP (Figura 16). El primero podría indicar la posibilidad de una integración más eficiente de estímulos socialmente recompensantes con información contextual de la pareja (Hung et al., 2017; Todd y Bucci, 2015). En cuanto al último, es sabido que el VP desempeña un rol esencial en la modulación de la motivación y de la recompensa (Smith et al., 2008), en el cual codifica valencias de recompensa de manera más anticipada y robusta que el NAcc y potencialmente es un mediador cuesta-abajo importante en funciones de este último (Ottenheimer et al., 2018), incluyendo la formación del vínculo de pareja (Lim y Young, 2004). Ya que la actividad de la MeA en roedores es necesaria para el reconocimiento social (Ferguson et al., 2001) y responde a señales quimiosensoriales específicas del sexo (Z Wang et al., 1997; Yao et al., 2017), la conectividad MeA-VP podría incrementar la respuesta de recompensa de estímulos sociales y quimiosensoriales asociados a la pareja. En general, los sujetos con mayor conectividad funcional basal en las subredes descritas tienen una mayor predisposición al *huddling* por una posible modulación diferencial en la asociación de estímulos sociales con valencias de recompensa.

Por otra parte, la conectividad entre MeA-VP a las 2 semanas de cohabitación también fue predicha por el índice de preferencia de pareja medido entre las 48 y 72 horas, índice que indica la fuerza del vínculo de pareja (Williams et al., 1992). Esta relación es de esperarse dada la evidencia reciente que demuestra que la MeA sincroniza la conducta socio-sexual a través del incremento de la preferencia por una pareja sexual, aumentando la interacción de ratones macho con hembras en estro (Adekunbi et al., 2018); y topillos de la pradera macho que copularon con una hembra por 24h y exhibieron agresión hacia intrusos, tenían una mayor actividad relacionada a la expresión de Fos en la MeA (Z Wang et al., 1997). Respecto al VP, la activación por estimulación del VP es suficiente para causar recompensa o motivación, e incluso incrementar el valor hedónico o motivacional de estímulos (Smith et al., 2008). El incremento de neurotransmisión de AVP en el VP incluso facilita la formación del vínculo de pareja en topillos de la pradera (Pitkow et al., 2001),

por lo que la relación MeA-VP sugiere un fortalecimiento de la asociación de recompensa con la interacción socio-sexual con la pareja a largo plazo.

Encontramos particularmente interesante que el NAcc, la MeA, el VP y la BLA, aunque son considerados muy importantes en el proceso del vínculo social, no aparecen como nodos en la red con cambios longitudinales a lo largo del tiempo. Sin embargo, la conectividad de estas regiones sí tiene una relación con la conducta afiliativa en los topillos de la pradera, y se resalta la participación de los circuitos neuronales constituidos por éstas, en la variabilidad de la conducta social del topillo de la pradera, como podría ser en las tácticas de apareamiento “errante” (*wanderer*) o “residente” (*resident*). En estas tácticas, los topillos residentes maximizan el éxito reproductivo a través de un espacio territorial reducido y protección de la pareja, mientras que los topillos errantes sobrelapan muchos territorios de madriguera para incrementar la probabilidad de apareamiento oportunista (Getz et al., 2005; Shuster et al., 2019). Trabajos previos apoyan nuestros hallazgos, en los que se ha demostrado que la expresión del receptor de AVP en la RSC predice la fidelidad sexual y conducta territorial en topillos de la pradera machos (Okhovat et al., 2015; Ophir et al., 2008); en el NAcc se ha asociado la variación de densidad de receptores de OXT con variación en la preferencia de pareja (King et al., 2016), y además, se ha encontrado que la sobre-expresión del receptor de AVP en el VP induce la preferencia de pareja en *Microtus pennsylvanicus*, una especie de topillos socialmente promiscua (Lim et al., 2004). Consecuentemente, la variabilidad en la conectividad funcional de estas subredes podría reflejar la diversidad conductual observada en los topillos de la pradera, la cual es influenciada por factores genéticos y ambientales.

El topillo de la pradera ha mostrado ser un modelo de gran valor que ha permitido la caracterización de los mecanismos neurobiológicos que subyacen las complejas conductas socio-sexuales, y potencialmente, es un modelo útil para mejorar el entendimiento de los vínculos sociales humanos y sus alteraciones en desórdenes psicológicos y otras condiciones asociadas a la conducta social. A nuestro conocimiento, este es el primer estudio que demuestra cambios a corto y a largo plazo en redes de conectividad funcional de múltiples regiones como resultado de la cohabitación con cópula en los topillos de la pradera. Sin embargo, existen algunas limitaciones relacionadas a la utilización de la rsfMRI. En primer lugar, los animales fueron anestesiados durante las sesiones de

RM, lo cual potencialmente alteraría la conectividad funcional cerebral. No obstante, se utilizó un protocolo de anestesia que prácticamente preserva las interacciones funcionales como ocurren en estado de vigilia (Grandjean et al., 2014; Paasonen et al., 2018). Aunque la adquisición de fMRI es posible en topillos sin anestesia, el proceso de aclimatación podría inducir estrés significativo e incrementar el riesgo de daño en el animal (Yee et al., 2016), limitando el diseño longitudinal y la interpretación de los resultados. En segundo lugar, la precisión en la definición de las regiones de interés se encuentra limitada por la forma y tamaño de los voxels, dificultando aseverar que las regiones definidas incluyen de manera específica a las regiones anatómicas de interés. Cabe mencionar que tenemos la certeza de que las regiones de interés definidas coinciden con las estructuras anatómicas como tal, y cuando menos, los cambios reportados se encuentran relacionados a aquellas áreas y al tejido circundante. Es importante considerar que los nodos conectados funcionalmente no necesariamente requieren tener proyecciones axonales entre sí, y la interacción entre nodos podría estar mediada o relevada a través de otras estructuras (Friston et al., 1993). Además, contrario a otros métodos del tipo neurofarmacológico o electrofisiológico, el método de fMRI captura una medida indirecta de actividad neuronal (Kim y Ogawa, 2012; Ogawa et al., 1990). Sin embargo, posee la gran ventaja de permitir una exploración longitudinal del cerebro, con la mejor resolución espacial y mayor cobertura que cualquier otro método de imagen de manera no invasiva. La consistencia de nuestros resultados con hallazgos recientes en los que se utilizan registros electrofisiológicos (Amadei et al., 2017) apoyan su relevancia y su potencial contribución en la identificación de la neurofisiología de conductas sociales complejas.



## 9. CONCLUSIONES

Nuestros hallazgos sugieren que existe una red de conectividad funcional cerebral (ACC-VTA; ACC-LS; ACC-vHIP; AON-LS; LS-RSC; LS-mPFC; mPFC-dHIP; dHIP-DG) que abarca los cambios a corto y largo plazo que ocurren en la conducta socio-sexual de los topillos de la pradera como consecuencia de la cohabitación y cópula. Estos cambios de conectividad funcional podrían estar involucrados en el proceso de la formación del vínculo de pareja y en la formación de la representación neuronal de la pareja. Adicionalmente, la conectividad funcional de subredes específicas incluyendo la ACC, el NAcc, la BLA, el DG, la MeA, el VP, la RSC y el VTA, predicen la latencia al *huddling*, sugiriendo una predisposición neurobiológica hacia la formación de vínculos sociales; mientras que otra subred (MeA-VP) correlaciona con el nivel de preferencia de pareja. En resumen, en este trabajo se encontró: 1) la conectividad funcional basal predice la expresión de conductas afiliativas, aún antes de la experiencia sexual, y 2) la experiencia sexual y la cohabitación a largo plazo inducen cambios en redes neuronales asociadas a circuitos de modulación de conducta socio-sexual. Por ende, la conectividad funcional es un método eficaz para explorar los mecanismos que subyacen la variabilidad individual en la expresión de conductas socio-sexuales. En general, nuestro trabajo evidenció cambios a nivel de redes cerebrales asociadas a la formación del vínculo social y de pareja, y puede proveer una aproximación novedosa para estudiar la neurofisiología de conductas sociales complejas como aquellas observadas en el topillo de la pradera.

## REFERENCIAS

- Adekunbi, D. A., Li, X. F., Lass, G., Shetty, K., Adegoke, O. A., Yeo, S. H., ... O'Byrne, K. T. (2018). Kisspeptin neurons in the posterodorsal medial amygdala modulate sexual partner preference and anxiety in male mice. *Journal of Neuroendocrinology*, *30*(3), 1–9.
- Ahern, T. H., Hammock, E. A. D., & Young, L. J. (2011). Parental division of labor, coordination, and the effects of family structure on parenting in monogamous prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Developmental Psychobiology*, *53*(2), 118–131.
- Amadei, E. A., Johnson, Z. V., Jun Kwon, Y., Shpiner, A. C., Saravanan, V., Mays, W. D., ... Liu, R. C. (2017). Dynamic corticostriatal activity biases social bonding in monogamous female prairie voles. *Nature*, *546*(7657), 297–301.
- Ambroggi, F., Ishikawa, A., Fields, H. L., & Nicola, S. M. (2008). Basolateral Amygdala Neurons Facilitate Reward-Seeking Behavior by Exciting Nucleus Accumbens Neurons. *Neuron*, *59*(4), 648–661.
- Aragona, B. J., Liu, Y., Yu, Y. J., Curtis, J. T., Detwiler, J. M., Insel, T. R., & Wang, Z. (2006). Nucleus accumbens dopamine differentially mediates the formation and maintenance of monogamous pair bonds. *Nat Neurosci*, *9*(1), 133–139.
- Arias del Razo, R., & Bales, K. L. (2016). Exploration in a dispersal task: Effects of early experience and correlation with other behaviors in prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Behavioural Processes*, *132*, 66–75.
- Assadi, S. M., Yücel, M., & Pantelis, C. (2009). Dopamine modulates neural networks involved in effort-based decision-making. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *33*(3), 383–393.
- 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 Research*, *1184*, 245–253.
- Bamshad, M., Novak, M. A., & Vries, G. J. (1993). Sex and Species Differences in the Vasopressin Innervation of Sexually Naive and Parental Prairie Voles, *Microtus ochrogaster* and Meadow Voles, *Microtus pennsylvanicus*. *Journal of Neuroendocrinology*, *5*(3), 247–255.
- Barlow, H. B. (2012). Possible Principles Underlying the Transformations of Sensory Messages. En *Sensory Communication* (pp. 216–234).
- Bartz, J. A., & Hollander, E. (2006). The neuroscience of affiliation: forging links between basic and clinical research on neuropeptides and social behavior. *Hormones and behavior*, *50*(4), 518–528.
- Beery, A. K., Christensen, J. D., Lee, N. S., & Blandino, K. L. (2018). Specificity in Sociality: Mice and Prairie Voles Exhibit Different Patterns of Peer Affiliation. *Frontiers in behavioral neuroscience*, *12*, 50.
- Behzadi, Y., Restom, K., Liau, J., & Liu, T. T. (2007). A component based noise correction method (CompCor) for BOLD and perfusion based fMRI. *NeuroImage*, *37*(1), 90–101.
- Bian, X.-L., Qin, C., Cai, C.-Y., Zhou, Y., Tao, Y., Lin, Y.-H., ... Zhu, D.-Y. (2019). Anterior Cingulate Cortex to Ventral Hippocampus Circuit Mediates Contextual Fear Generalization. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, *39*(29), 5728–5739.

- Bielsky, I. F., Hu, S. B., Ren, X., Terwilliger, E. F., & Young, L. J. (2005). The V1a vasopressin receptor is necessary and sufficient for normal social recognition: A gene replacement study. *Neuron*, *47*(4), 503–513.
- Bijsterbosch, J., Smith, M. S., & Beckmann, C. F. (2017). *Introduction to Resting State fMRI Functional Connectivity* (M. Jenkinson & M. Chappell, Eds.).
- Bowlby, J. (1969). *Attachment and loss: Vol. 1. Attachment*.
- Broad, K. ., Curley, J. ., & Keverne, E. . (2006). Mother-infant bonding and the evolution of mammalian social relationships. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *361*(1476), 2199–2214.
- Bryden, D. W., Johnson, E. E., Tobia, S. C., Kashtelyan, V., & Roesch, M. R. (2011). Attention for Learning Signals in Anterior Cingulate Cortex. *Journal of Neuroscience*, *31*(50), 18266–18274.
- Cardinal, R. N., Parkinson, J. A., Hall, J., & Everitt, B. J. (2002). Emotion and motivation: The role of the amygdala, ventral striatum, and prefrontal cortex. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *26*(3), 321–352.
- Carter, C. S., DeVries, A. C., & Getz, L. L. (1995). Physiological substrates of mammalian monogamy: The prairie vole model. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *19*(2), 303–314.
- Chapais, B. (2013). Monogamy, strongly bonded groups, and the evolution of human social structure. *Evolutionary Anthropology*, *22*(2), 52–65.
- Chiang, M. C., Huang, A. J. Y., Wintzer, M. E., Ohshima, T., & McHugh, T. J. (2018). A role for CA3 in social recognition memory. *Behavioural Brain Research*, *354*, 22–30.
- Cho, M. M., DeVries, A. C., Williams, J. R., & Carter, C. S. (1999). The effects of oxytocin and vasopressin on partner preferences in male and female prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Behavioral Neuroscience*, *113*(5), 1071–1079.
- Cortes, P. M., Hernández-Arteaga, E., Sotelo-Tapia, C., Guevara, M. A., Medina, A. C., & Hernández-González, M. (2019). Effects of inactivation of the ventral tegmental area on prefronto-accumbens activity and sexual motivation in male rats. *Physiology & Behavior*, *209*(March), 112593.
- Dalley, J. W., Cardinal, R. N., & Robbins, T. W. (2004). Prefrontal executive and cognitive functions in rodents: Neural and neurochemical substrates. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *28*(7), 771–784.
- Davies, P. T., & Cummings, E. M. (1994). Marital conflict and child adjustment: An emotional security hypothesis. *Psychological Bulletin*, *116*(3), 387–411.
- Elston, T. W., & Bilkey, D. K. (2017). Anterior Cingulate Cortex Modulation of the Ventral Tegmental Area in an Effort Task. *Cell Reports*, *19*(11), 2220–2230.
- Euston, D. R., Gruber, A. J., & McNaughton, B. L. (2012). The Role of Medial Prefrontal Cortex in Memory and Decision Making. *Neuron*, *76*(6), 1057–1070.
- Everts, H. G., & Koolhaas, J. M. (1997). Lateral septal vasopressin in rats: role in social and object recognition? *Brain research*, *760*(1–2), 1–7.
- Felix-Ortiz, A. C., & Tye, K. M. (2014). Amygdala Inputs to the Ventral Hippocampus Bidirectionally Modulate Social Behavior. *Journal of Neuroscience*, *34*(2), 586–595.

- Ferguson, J. N., Aldag, J. M., Insel, T. R., & Young, L. J. (2001). Oxytocin in the medial amygdala is essential for social recognition in the mouse. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, *21*(20), 8278–8285.
- Fletcher, G. J. O., Simpson, J. A., Campbell, L., & Overall, N. C. (2015). Pair-Bonding, Romantic Love, and Evolution. *Perspectives on Psychological Science*, *10*(1), 20–36.
- Friston, K. J., Frith, C. D., Liddle, P. F., & Frackowiak, R. S. J. (1993). Functional connectivity: The principal-component analysis of large (PET) data sets. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, *13*(1), 5–14.
- Garrido Zinn, C., Clairis, N., Silva Cavalcante, L. E., Furini, C. R. G., de Carvalho Myskiw, J., & Izquierdo, I. (2016). Major neurotransmitter systems in dorsal hippocampus and basolateral amygdala control social recognition memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *113*(33), E4914–E4919.
- Gavrilets, S. (2012). Human origins and the transition from promiscuity to pair-bonding. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *109*(25), 9923–9928.
- Getz, L. L., McGuire, B., & Carter, C. S. (2005). Social organization and mating system of free-living prairie voles *Microtus ochrogaster*: a review. *Acta Zoologica Sinica*, *51*(2), 178–186.
- Gobrogge, K. L., Liu, Y., Jia, X., & Wang, Z. (2007). Anterior hypothalamic neural activation and neurochemical associations with aggression in pair-bonded male prairie voles. *The Journal of Comparative Neurology*, *502*(6), 1109–1122.
- Gobrogge, K., & Wang, Z. (2016). The ties that bond: Neurochemistry of attachment in voles. *Current Opinion in Neurobiology*, *38*, 80–88.
- Gorges, M., Roselli, F., Müller, H. P., Ludolph, A. C., Rasche, V., & Kassubek, J. (2017). Functional connectivity mapping in the animal model: Principles and applications of resting-state fMRI. *Frontiers in Neurology*, *8*(MAY), 1–14.
- Grandjean, J., Schroeter, A., Batata, I., & 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*(P2), 838–847.
- Gunaydin, L. A., Grosenick, L., Finkelstein, J. C., Kauvar, I. V., Fenno, L. E., Adhikari, A., ... Deisseroth, K. (2014). Natural neural projection dynamics underlying social behavior. *Cell*, *157*(7), 1535–1551.
- Hitti, F. L., & Siegelbaum, S. A. (2014). The hippocampal CA2 region is essential for social memory. *Nature*, *508*(1), 88–92.
- Hostetler, C. M., Hinde, K., Maninger, N., Mendoza, S. P., Mason, W. A., Rowland, D. J., ... Bales, K. L. (2017). Effects of pair bonding on dopamine D1 receptors in monogamous male titi monkeys (*Callicebus cupreus*). *American journal of primatology*, *79*(3), 1–9.
- Hung, L. W., Neuner, S., Polepalli, J. S., Beier, K. T., Wright, M., Walsh, J. J., ... Malenka, R. C. (2017). Gating of social reward by oxytocin in the ventral tegmental area. *Science*, *357*(6358), 1406–1411.
- Insel, T. R. (1997). A neurobiological basis of social attachment. *American Journal of Psychiatry*, *154*(6), 726–735.
- Jenkinson, M., Beckmann, C. F., Behrens, T. E. J., Woolrich, M. W., & Smith, S. M. (2012).

- FSL. *NeuroImage*, 62(2), 782–790.
- Johnson, Z. V., Walum, H., Xiao, Y., Riefkohl, P. C., & Young, L. J. (2017). Oxytocin receptors modulate a social salience neural network in male prairie voles. *Hormones and Behavior*, 87, 16–24.
- Johnson, Z. V., & Young, L. J. (2015). Neurobiological mechanisms of social attachment and pair bonding. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, Vol. 3, pp. 38–44.
- Johnson, Z. V., & Young, L. J. (2017). Oxytocin and vasopressin neural networks: Implications for social behavioral diversity and translational neuroscience. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 76, 87–98.
- Jolles, D. D., Van Buchem, M. A., Crone, E. A., & Rombouts, S. A. R. B. (2013). Functional brain connectivity at rest changes after working memory training. *Human Brain Mapping*, 34(2), 396–406.
- Kelly, A. M., & Goodson, J. L. (2014). Social functions of individual vasopressin-oxytocin cell groups in vertebrates: What do we really know? *Frontiers in Neuroendocrinology*, 35(4), 512–529.
- Kenkel, W. M., Perkeybile, A. M., & Carter, C. S. (2017). The neurobiological causes and effects of alloparenting. *Developmental Neurobiology*, 77(2), 214–232.
- Kesner, R. P. (2018, noviembre 15). An analysis of dentate gyrus function (an update). *Behavioural Brain Research*, Vol. 354, pp. 84–91.
- Kiecolt-Glaser, J. K., Gouin, J. P., & Hantsoo, L. (2010). Close relationships, inflammation, and health. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 35(1), 33–38.
- Kim, S.-G., & Ogawa, S. (2012). Biophysical and physiological origins of blood oxygenation level-dependent fMRI signals. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 32(7), 1188–1206.
- King, L. B., Walum, H., Inoue, K., Eyrich, N. W., & Young, L. J. (2016). Variation in the Oxytocin Receptor Gene Predicts Brain Region-Specific Expression and Social Attachment. *Biological Psychiatry*, 80(2), 160–169.
- Kingsbury, M. A., Gleason, E. D., Ophir, A. G., Phelps, S. M., Young, L. J., & Marler, C. A. (2012). Monogamous and promiscuous rodent species exhibit discrete variation in the size of the medial prefrontal cortex. *Brain, Behavior and Evolution*, 80(1), 4–14.
- Kitamura, T., Ogawa, S. K., Roy, D. S., Okuyama, T., Morrissey, M. D., Smith, L. M., ... Tonegawa, S. (2017). Engrams and circuits crucial for systems consolidation of a memory. *Science*, 356(6333), 73–78.
- Ko, J. (2017). Neuroanatomical Substrates of Rodent Social Behavior: The Medial Prefrontal Cortex and Its Projection Patterns. *Frontiers in Neural Circuits*, 11(June), 1–16.
- Kolling, N., Behrens, T., Wittmann, M., & Rushworth, M. (2016). Multiple signals in anterior cingulate cortex. *Current Opinion in Neurobiology*, 37, 36–43.
- Lee, T. Y., & Lok, D. P. P. (2012). Bonding as a Positive Youth Development Construct: A Conceptual Review. *The Scientific World Journal*, 2012, 1–11.
- Lein, E. S., Hawrylycz, M. J., Ao, N., Ayres, M., Bensinger, A., Bernard, A., ... Jones, A. R. (2007). Genome-wide atlas of gene expression in the adult mouse brain. *Nature*, 445(7124),

168–176.

- Lieberwirth, C., & Wang, Z. (2014). Social bonding: regulation by neuropeptides. *Frontiers in neuroscience*, 8(8 JUN), 171.
- Lieberwirth, C., & Wang, Z. (2016). The neurobiology of pair bond formation, bond disruption, and social buffering. *Current opinion in neurobiology*, 40, 8–13.
- Lim, M. M., Wang, Z. Z., Olazábal, D. E., Ren, X., Terwilliger, E. F., & Young, L. J. (2004). Enhanced partner preference in a promiscuous species by manipulating the expression of a single gene. *Nature*, 429(6993), 754–757.
- Lim, M. M., & Young, L. J. (2004). Vasopressin-dependent neural circuits underlying pair bond formation in the monogamous prairie vole. *Neuroscience*, 125(1), 35–45.
- Lin, Y.-T., Hsieh, T.-Y., Tsai, T.-C., Chen, C.-C., Huang, C.-C., & Hsu, K.-S. (2017). Conditional Deletion of Hippocampal CA2/CA3a Oxytocin Receptors Impairs the Persistence of Long-Term Social Recognition Memory in Mice. *The Journal of Neuroscience*, 38(5), 1218–1231.
- Liu, Y., Curtis, J. T., & Wang, Z. (2001). Vasopressin in the lateral septum regulates pair bond formation in male prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Behavioral Neuroscience*, 115(4), 910–919.
- Lukas, M., Toth, I., Veenema, A. H., & Neumann, I. D. (2013). Oxytocin mediates rodent social memory within the lateral septum and the medial amygdala depending on the relevance of the social stimulus: Male juvenile versus female adult conspecifics. *Psychoneuroendocrinology*, 38(6), 916–926.
- Mateo, C., Knutsen, P. M., Tsai, P. S., Shih, A. Y., & Kleinfeld, D. (2017). Entrainment of Arteriole Vasomotor Fluctuations by Neural Activity Is a Basis of Blood-Oxygenation-Level-Dependent “Resting-State” Connectivity. *Neuron*, 1–13.
- McHugh, S. B., Deacon, R. M. J., Rawlins, J. N. P., & Bannerman, D. M. (2004). Amygdala and Ventral Hippocampus Contribute Differentially to Mechanisms of Fear and Anxiety. *Behavioral Neuroscience*, 118(1), 63–78.
- McNeal, N., Scotti, M.-A. L., Wardwell, J., Chandler, D. L., Bates, S. L., Larocca, M., ... Grippo, A. J. (2014). Disruption of social bonds induces behavioral and physiological dysregulation in male and female prairie voles. *Autonomic neuroscience: basic & clinical*, 180, 9–16.
- Meira, T., Leroy, F., Buss, E. W., Oliva, A., Park, J., & Siegelbaum, S. A. (2018). A hippocampal circuit linking dorsal CA2 to ventral CA1 critical for social memory dynamics. *Nature Communications*, 9(1), 4163.
- Mitchell, A. S., Czajkowski, R., Zhang, N., Jeffery, K., & Nelson, A. J. D. (2018). Retrosplenial cortex and its role in spatial cognition. *Brain and Neuroscience Advances*, 2, 239821281875709.
- Nasrallah, F. A., To, X. V., Chen, D. Y., Routtenberg, A., & Chuang, K. H. (2016). Functional connectivity MRI tracks memory networks after maze learning in rodents. *NeuroImage*, 127, 196–202.
- O’Connell, L. A., & Hofmann, H. A. (2012). Evolution of a Vertebrate Social Decision-Making Network. *Science*, 336(6085), 1154–1157.

- O’Connell, Lauren A., & Hofmann, H. A. (2011). The Vertebrate mesolimbic reward system and social behavior network: A comparative synthesis. *Journal of Comparative Neurology*, Vol. 519, pp. 3599–3639.
- Oettl, L. L., Ravi, N., Schneider, M., Scheller, M. F., Schneider, P., Mitre, M., ... Kelsch, W. (2016). Oxytocin Enhances Social Recognition by Modulating Cortical Control of Early Olfactory Processing. *Neuron*, 90(3), 609–621.
- Ogawa, S., Lee, T. M., Kay, A. R., & Tank, D. W. (1990). Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87(24), 9868–9872.
- Okhovat, M., Berrio, A., Wallace, G., Ophir, A. G., & Phelps, S. M. (2015). Sexual fidelity trade-offs promote regulatory variation in the prairie vole brain. *Science*, 350(6266), 1371–1374.
- Okuyama, T., Kitamura, T., Roy, D. S., Itohara, S., & Tonegawa, S. (2016). Ventral CA1 neurons store social memory. *Science*, 353(6307), 1536–1541.
- Olazábal, D. E., & Young, L. J. (2006). Oxytocin receptors in the nucleus accumbens facilitate “spontaneous” maternal behavior in adult female prairie voles. *Neuroscience*, 141(2), 559–568.
- Ophir, A. G., Gessel, A., Zheng, D. J., & Phelps, S. M. (2012). Oxytocin receptor density is associated with male mating tactics and social monogamy. *Hormones and Behavior*, 61(3), 445–453.
- Ophir, A. G., Wolff, J. O., & Phelps, S. M. (2008). Variation in neural V1aR predicts sexual fidelity and space use among male prairie voles in semi-natural settings. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(4), 1249–1254.
- Ortiz, J. J., Portillo, W., Paredes, R. G., Young, L. J., & Alcauter, S. (2018). Resting state brain networks in the prairie vole. *Scientific Reports*, 8(1), 1231.
- Ottenheimer, D., Richard, J. M., & Janak, P. H. (2018). Ventral pallidum encodes relative reward value earlier and more robustly than nucleus accumbens. *Nature Communications*, 9(1), 4350.
- Paasonen, J., Stenroos, P., Salo, R. A., Kiviniemi, V., & Gröhn, O. (2018). Functional connectivity under six anesthesia protocols and the awake condition in rat brain. *NeuroImage*, 172(October 2017), 9–20.
- Perkeybile, A. M., Carter, C. S., Wroblewski, K. L., Puglia, M. H., Kenkel, W. M., Lillard, T. S., ... Connelly, J. J. (2018). Early nurture epigenetically tunes the oxytocin receptor. *Psychoneuroendocrinology*, 99, 128–136.
- Pitkow, L. J., Sharer, C. A., Ren, X., Insel, T. R., Terwilliger, E. F., & Young, L. J. (2001). Facilitation of affiliation and pair-bond formation by vasopressin receptor gene transfer into the ventral forebrain of a monogamous vole. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 21(18), 7392–7396.
- Preston, A. R., & Eichenbaum, H. (2013). Interplay of Hippocampus and Prefrontal Cortex in Memory. *Current Biology*, 23(17), R764–R773.
- Resendez, S. L., Keyes, P. C., Day, J. J., Hambro, C., Austin, C. J., Maina, F. K., ... Aragona, B. J. (2016). Dopamine and opioid systems interact within the nucleus accumbens to maintain monogamous pair bonds. *eLife*, 5(JULY).

- Rice, M. A., Hobbs, L. E., Wallace, K. J., & Ophir, A. G. (2017). Cryptic sexual dimorphism in spatial memory and hippocampal oxytocin receptors in prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Hormones and Behavior*, *95*(August), 94–102.
- Rolls, E. T. (2015). Limbic systems for emotion and for memory, but no single limbic system. *Cortex*, *62*, 119–157.
- Ross, H. E., Freeman, S. M., Spiegel, L. L., Ren, X., Terwilliger, E. F., & Young, L. J. (2009). Variation in Oxytocin Receptor Density in the Nucleus Accumbens Has Differential Effects on Affiliative Behaviors in Monogamous and Polygamous Voles. *Journal of Neuroscience*, *29*(5), 1312–1318.
- Rutberg, A. T. (1983). The evolution of monogamy in primates. *Journal of Theoretical Biology*, *104*(1), 93–112.
- Salo, A. L., Shapiro, L. E., & Dewsbury, D. A. (1993). Affiliative Behavior in Different Species of Voles (*Microtus*). *Psychological Reports*, *72*(1), 316–318.
- Seeman, T. E., & Crimmins, E. (2001). Social environment effects on health and aging: Integrating epidemiologic and demographic approaches and perspectives. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *954*(1), 88–117.
- Seo, H., & Lee, D. (2012). Neural basis of learning and preference during social decision-making. *Current opinion in neurobiology*, *22*(6), 990–995.
- Shuster, S. M., Willen, R. M., Keane, B., & Solomon, N. G. (2019). Alternative Mating Tactics in Socially Monogamous Prairie Voles, *Microtus ochrogaster*. *Frontiers in Ecology and Evolution*, *7*, 7.
- Smeltzer, M. D., Curtis, J. T., Aragona, B. J., & Wang, Z. (2006). Dopamine, oxytocin, and vasopressin receptor binding in the medial prefrontal cortex of monogamous and promiscuous voles. *Neuroscience Letters*, *394*(2), 146–151.
- Smith, K. S., Tindell, A. J., Aldridge, J. W., & Berridge, K. C. (2008). Ventral pallidum roles in reward and motivation. *Behavioural brain research*, *196*(2), 155–167.
- Squire, L. (2004). Memory systems of the brain: a brief history and current perspective. *Neurobiology of learning and memory*, *82*(3), 171–177.
- Stein, D. J., & Vythilingum, B. (2009). Love and attachment: the psychobiology of social bonding. *CNS spectrums*, *14*(5), 239–242.
- Stevenson, E. L., & Caldwell, H. K. (2014). Lesions to the CA2 region of the hippocampus impair social memory in mice. *European Journal of Neuroscience*, *40*(9), 3294–3301.
- Ström, J. O., Theodorsson, A., Ingberg, E., Isaksson, I.-M., & Theodorsson, E. (2012). Ovariectomy and 17 $\beta$ -estradiol Replacement in Rats and Mice: A Visual Demonstration. *Journal of Visualized Experiments*, (64), e4013.
- Stuber, G. D., Sparta, D. R., Stamatakis, A. M., van Leeuwen, W. A., Hardjoprajitno, J. E., Cho, S., ... Bonci, A. (2011). Excitatory transmission from the amygdala to nucleus accumbens facilitates reward seeking. *Nature*, *475*(7356), 377–380.
- Tabbaa, M., Lei, K., Liu, Y., & Wang, Z. (2017). Paternal deprivation affects social behaviors and neurochemical systems in the offspring of socially monogamous prairie voles. *Neuroscience*, *343*, 284–297.
- Takahata, R., & Moghaddam, B. (2002). Target-Specific Glutamatergic Regulation of Dopamine



- Neurons in the Ventral Tegmental Area. *Journal of Neurochemistry*, 75(4), 1775–1778.
- Tanimizu, T., Kenney, J. W., Okano, E., Kadoma, K., Frankland, P. W., & Kida, S. (2017). Functional Connectivity of Multiple Brain Regions Required for the Consolidation of Social Recognition Memory. *The Journal of Neuroscience*, 37(15), 4103–4116.
- Todd, T. P., & Bucci, D. J. (2015). Retrosplenial Cortex and Long-Term Memory: Molecules to Behavior. *Neural Plasticity*, 2015, 1–9.
- Uddin, L. Q. (2015). Salience processing and insular cortical function and dysfunction. *Nature Reviews Neuroscience*, Vol. 16, pp. 55–61.
- Ulloa, M., Portillo, W., Díaz, N. F., Young, L. J., Camacho, F. J., Rodríguez, V. M., & Paredes, R. G. (2018). Mating and social exposure induces an opioid-dependent conditioned place preference in male but not in female prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Hormones and Behavior*, 97(October 2017), 47–55.
- van den Heuvel, M. P., & Hulshoff Pol, H. E. (2010). Exploring the brain network: A review on resting-state fMRI functional connectivity. *European Neuropsychopharmacology*, Vol. 20, pp. 519–534.
- Waldfogel, J., Craigie, T.-A., & Brooks-Gunn, J. (2010). Fragile families and child wellbeing. *The Future of children / Center for the Future of Children, the David and Lucile Packard Foundation*, 20(2), 87–112.
- Walum, H., & Young, L. J. (2018). The neural mechanisms and circuitry of the pair bond. *Nature Reviews Neuroscience*, 19(11), 643–654.
- Wang, Z. (1995). Species differences in the vasopressin-immunoreactive pathways in the bed nucleus of the stria terminalis and medial amygdaloid nucleus in prairie voles (*Microtus ochrogaster*) and meadow voles (*Microtus pennsylvanicus*). *Behavioral neuroscience*, 109(2), 305–311.
- Wang, Z., Hulihan, T. J., & Insel, T. R. (1997). Sexual and social experience is associated with different patterns of behavior and neural activation in male prairie voles. *Brain Res*, 767(2), 321–332.
- Wang, Zuoxin, & Aragona, B. J. (2004). Neurochemical regulation of pair bonding in male prairie voles. *Physiology and Behavior*, 83(2), 319–328.
- Williams, J. R., Catania, K. C., & Carter, C. S. (1992). Development of partner preferences in female prairie voles (*Microtus ochrogaster*): The role of social and sexual experience. *Hormones and Behavior*, 26(3), 339–349.
- Yamanaka, O., & Takeuchi, R. (2018). UMATracker: an intuitive image-based tracking platform. *The Journal of experimental biology*, 221(Pt 16), jeb182469.
- Yao, S., Bergan, J., Lanjuin, A., & Dulac, C. (2017). Oxytocin signaling in the medial amygdala is required for sex discrimination of social cues. *eLife*, 6.
- Yee, J. R., Kenkel, W. M., Kulkarni, P., Moore, K., Perkeybile, A. M., Toddes, S., ... Ferris, C. F. (2016). BOLD fMRI in awake prairie voles: A platform for translational social and affective neuroscience. *NeuroImage*, 138, 221–232.
- Young, K. A., Gobrogge, K. L., Liu, Y., & Wang, Z. (2011). The neurobiology of pair bonding: insights from a socially monogamous rodent. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 32(1), 53–69.

- Young, L. J., & Wang, Z. (2004, octobre 1). The neurobiology of pair bonding. *Nature Neuroscience*, Vol. 7, pp. 1048–1054.
- Young, L. J., Young, A. Z. M., & Hammock, E. A. D. (2005). Anatomy and neurochemistry of the pair bond. *Journal of Comparative Neurology*, 493(1), 51–57.
- Zalesky, A., Fornito, A., & Bullmore, E. T. (2010). Network-based statistic: Identifying differences in brain networks. *NeuroImage*, 53(4), 1197–1207.
- Zhong, X., Deng, S., Ma, W., Yang, Y., Lu, D., Cheng, N., ... Li, Z. (2017). Anterior cingulate cortex involved in social food-foraging decision-making strategies of rats. *Brain and Behavior*, 7(10), e00768.

# APÉNDICE

## Lista de Figuras

FIGURA 1. REGIONES ASOCIADAS AL CIRCUITO DE TOMA DE DECISIONES SOCIALES (SDM) EN MAMÍFEROS.	10
FIGURA 2. EJEMPLARES ADULTOS DE TOPILLO DE LA PRADERA ( <i>MICROTUS OCHROGASTER</i> ).	11
FIGURA 3. ILUSTRACIÓN ESQUEMÁTICA DEL CIRCUITO NEURONAL DOPAMINÉRGICO Y DE OXITOCINA INVOLUCRADO EN LA FORMACIÓN DEL VÍNCULO DE PAREJA EN EL TOPILLO DE LA PRADERA.	13
FIGURA 4. REDES EN ESTADO DE REPOSO DEL TOPILLO DE LA PRADERA.	16
FIGURA 5. DISEÑO EXPERIMENTAL Y SECUENCIA CRONOLÓGICA DE LOS PROTOCOLOS EXPERIMENTALES.	20
FIGURA 6. EQUIPO DE RESONANCIA MAGNÉTICA.	22
FIGURA 7. ADQUISICIÓN DE IMÁGENES DE RESONANCIA MAGNÉTICA.	23
FIGURA 8. REGIONES DE INTERÉS PARA EL ANÁLISIS DE CAMBIOS EN CONECTIVIDAD FUNCIONAL.	25
FIGURA 9. COMPARACIÓN DEL MÉTODO DE ANÁLISIS DE REDES DE NBS CON EL MÉTODO DE CORRECCIÓN CON FDR.	27
FIGURA 10. PARÁMETROS DE CONDUCTA SEXUAL MEDIDOS DURANTE LAS PRIMERAS HORAS DE COHABITACIÓN.	29
FIGURA 11. PRUEBA DE PREFERENCIA DE PAREJA.	30
FIGURA 12 . ANÁLISIS DE LA PRUEBA DE PREFERENCIA DE PAREJA.	30
FIGURA 13. PREFERENCIA DE PAREJA A LAS 48 Y 72 HORAS DE COHABITACIÓN EN TOPILLOS MACHO Y HEMBRA.	33
FIGURA 14. CAMBIOS EN CONECTIVIDAD FUNCIONAL CEREBRAL ANTES Y DESPUÉS DE COHABITACIÓN Y CÓPULA EN TOPILLOS DE LA PRADERA.	34
FIGURA 15. RELACIONES ENTRE LA CONECTIVIDAD FUNCIONAL BASAL Y LA EXPRESIÓN DE CONDUCTA AFILIATIVA ( <i>HUDDLING</i> ) DURANTE EL INICIO DE LA COHABITACIÓN C/CÓPULA EN TOPILLOS DE PRADERA.	36
FIGURA 16. LA PREFERENCIA DE PAREJA A LAS 48H DE COHABITACIÓN PREDICE LA CONECTIVIDAD FUNCIONAL A LARGO PLAZO ENTRE LA MEA Y EL VP.	37

## Abreviaturas

<b>ACC</b>	Corteza cingulada anterior ( <i>anterior cingulate cortex</i> )
<b>AH</b>	Hipotálamo anterior ( <i>anterior hypothalamus</i> )
<b>AON</b>	Núcleo olfatorio anterior ( <i>anterior olfactory nucleus</i> )
<b>AVP</b>	Arginina vasopresina
<b>BLA</b>	Amígdala basolateral ( <i>basolateral amygdala</i> )
<b>BNST</b>	Lecho del núcleo del estriado terminal ( <i>bed nucleus of stria terminalis</i> )
<b>BOLD</b>	Dependiente de nivel de oxigenación sanguínea ( <i>Blood oxygenation level dependent</i> )
<b>DA</b>	Dopamina
<b>DG</b>	Giro dentado ( <i>dentate gyrus</i> )
<b>dHIP</b>	Hipocampo dorsal ( <i>dorsal hippocampus</i> )
<b>fMRI</b>	Imagen por resonancia magnética funcional ( <i>functional magnetic resonance imaging</i> )
<b>FA</b>	Angulo de inclinación ( <i>Flip Angle</i> )
<b>FOV</b>	Campo de visión ( <i>Field Of View</i> )
<b>LS</b>	Septum lateral ( <i>lateral septum</i> )
<b>MeA</b>	Amígdala medial ( <i>medial amygdala</i> )
<b>MOB</b>	Bulbo olfatorio principal ( <i>main olfactory bulb</i> )
<b>mPFC</b>	Corteza medial prefrontal ( <i>medial prefrontal cortex</i> )
<b>NA</b>	Número de promedios
<b>OXT</b>	Oxitocina
<b>OVX</b>	Ovariectomía
<b>PPP</b>	Prueba de preferencia de pareja
<b>PVN</b>	Núcleo Paraventricular ( <i>paraventricular nucleus</i> )
<b>RARE</b>	Adquisición rápida con relajamiento aumentado ( <i>Rapid acquisition with relaxation enhancement</i> )
<b>RM</b>	Resonancia magnética
<b>ROI</b>	Región de interés ( <i>Region of interest</i> )
<b>RSC</b>	Corteza retrosplenial ( <i>retrosplenial cortex</i> )
<b>rsfMRI</b>	Imagen por resonancia magnética funcional en estado de reposo ( <i>resting-state functional magnetic resonance imaging</i> )
<b>SDM</b>	Red de toma de decisiones social ( <i>social decision-making network</i> )
<b>SSN</b>	Red de prominencia social ( <i>social salience network</i> )
<b>TE</b>	Tiempo de eco
<b>TR</b>	Tiempo de repetición
<b>vHIP</b>	Hipocampo ventral ( <i>ventral hippocampus</i> )
<b>VP</b>	<i>Pallidum</i> ventral ( <i>ventral pallidum</i> )
<b>VTA</b>	Área tegmental ventral ( <i>ventral tegmental area</i> )