

# CARACTERIZACIÓN DEL APEGO MATERNO EN RATAS WISTAR Y SPRAGUE DAWLEY

## CHARACTERIZATION OF THE MATERNAL ATTACHMENT IN WISTAR AND SPRAGUE DAWLEY RATS

Norma A. Moy-López<sup>1,2</sup>, Jorge Guzmán-Muñiz<sup>1</sup>, Jorge Collás-Aguilar<sup>1</sup>, Zian Aguirre-Taboada<sup>1</sup>, Jorge Torres-Hernandez<sup>1</sup>, Julio C. Verdugo<sup>1</sup>, Sonia Luquin<sup>2</sup>, Oscar Gonzalez-Perez<sup>1,2</sup>  
moynor@ucol.mx / guzman72@ucol.mx / jcollas@ucol.mx / zian@ucol.mx / jtorres@ucol.mx / jverdugo@ucol.mx / sonialuquin@gmail.com / osglez@ucol.mx/

Recibido: diciembre 13, 2007 / Aceptado: abril 1, 2008 / Publicado: abril 3, 2008

**RESUMEN.** Después del parto, las señales sensoriales que emiten las crías contribuyen al establecimiento de la conducta maternal (CM) y la formación del apego materno (AM), entendido éste último como "la capacidad conductual y emocional de formar un vínculo selectivo, único y duradero de la cría hacia la madre y viceversa" [1]. El objetivo del presente trabajo fue sistematizar y caracterizar el AM en dos cepas de ratas (*Rattus norvegicus*): Wistar (W) y Sprague Dawley (SD). Se registró la frecuencia en las conductas de transporte, búsqueda, olfateo, limpieza de las madres antes, durante y después de la gestación (n= 5/cepa), encontrando diferencias significativas entre cepas sólo en la fase de gestación ( $Z = 2.19, P < 0.05$ ). El AM fue clasificado como alto y bajo con base a la frecuencia de conductas de madre hacia las crías y viceversa (promedio  $\pm 1$  DE). No se encontraron diferencias significativas entre el sexo y tipo de AM; sin embargo, la cepa SD mostró una tendencia de preferencia hacia los machos para el apego alto y hacia las hembras para el apego bajo. Al analizar el vínculo madre-cría, en la cepa W se encontró una correlación positiva entre CM y conducta de búsqueda de las crías hacia la madre ( $r = 0.91$ ), mientras que en la SD la correlación es baja ( $r = -0.42$ ). Estos datos muestran que en la cepa W el vínculo madre-crías se puede identificar con mayor claridad y que el protocolo diseñado para la evaluación del AM es sensible a las variaciones naturales de la CM por camada y por cepa.

**PALABRAS CLAVE.** Conducta maternal, Crías, Cepas, Vínculo

**ABSTRACT.** The mammalian neonates exhibit sensory signs that promotes to the establishment of maternal care (MC) and maternal attachment (MA). Mother-pups bond is defined as "the behavioral and emotional aptitude to form a selective, unique and lasting bond" [1]. The aim of the present work was to systematize the evaluation of the MA in two rat's strains (*Rattus norvegicus*): Wistar (W) and Sprague Dawley (SD). We register the mother behaviors before, during and after the gestation (transport, search, smell and cleanliness. N=5/strain). We find significant differences between strains only in gestation phase ( $Z = 2.19, P < 0.05$ ). The MA was classified like high and low, in agreement to the frequency of mother and pups behaviors (mean  $\pm 1\sigma$ ). We don't find significant differences between the sex and type of MA; nevertheless, the SD strain showed preference towards the males for the high attachment group. When mother-pups bond was analyzed, we found a positive correlation between MC and pups-mother behavior in the W strain ( $r = 0.91$ ), whereas in the SD the correlation is low ( $r = -0.42$ ). This information shows that mother-pups bond in the W strain can be identified with major clarity and that the protocol designed for the MA evaluation is sensitive to the natural variations of the MC in the litter and type of strain.

**KEYWORDS:** Maternal care, Pups, Strains, Bond

<sup>1</sup> Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Psicología-Universidad de Colima. Avenida Universidad No. 333, Colonia las víboras, C.P. 28040, Colima, Col. <http://www.ucol.mx/>

<sup>2</sup> Departamento de Neurociencias, CUCS-Universidad de Guadalajara. Sierra Mojada No. 950, Colonia Independencia, C.P. 44340, Guadalajara, Jalisco.

## Introducción

En los mamíferos, la conducta maternal consiste en una serie de patrones motores y de eventos somatosensoriales que ocurren en la madre a final de la gestación, durante el parto y en la lactancia. La Conducta maternal es esencial para el desarrollo y supervivencia de los críos desde que nacen hasta llegar a la etapa adulta. La expresión de la conducta maternal en la madre depende del grado de desarrollo de los críos al nacimiento [2]. Después del parto, las señales sensoriales de las crías a la madre contribuyen en el establecimiento de las conducta maternal pos-parto, la formación del “apego materno” y en la adquisición de la experiencia maternal [3,4].

## Apego materno

El apego puede definirse como: "la capacidad conductual y emocional de formar un vínculo selectivo, único y duradero de la cría hacia la madre y de la madre hacia la cría" [1]. Desde 1970, Harlow describió los diferentes procesos conductuales que están involucrados en la formación del vínculo madre-cría (figura 1), los cuales involucran procesamiento multisensorial, (principalmente de señales olfatorias y auditivas en el caso de los roedores), y complejas respuestas motoras (conductas de limpieza, acicalamiento, protección, entre otras). Dicho vínculo también requiere de la integración de varios procesos cognitivos ligados a las señales sensoriales y respuestas motoras, tales como la atención, la memoria, el reconocimiento social, la motivación y el aprendizaje [5,2].

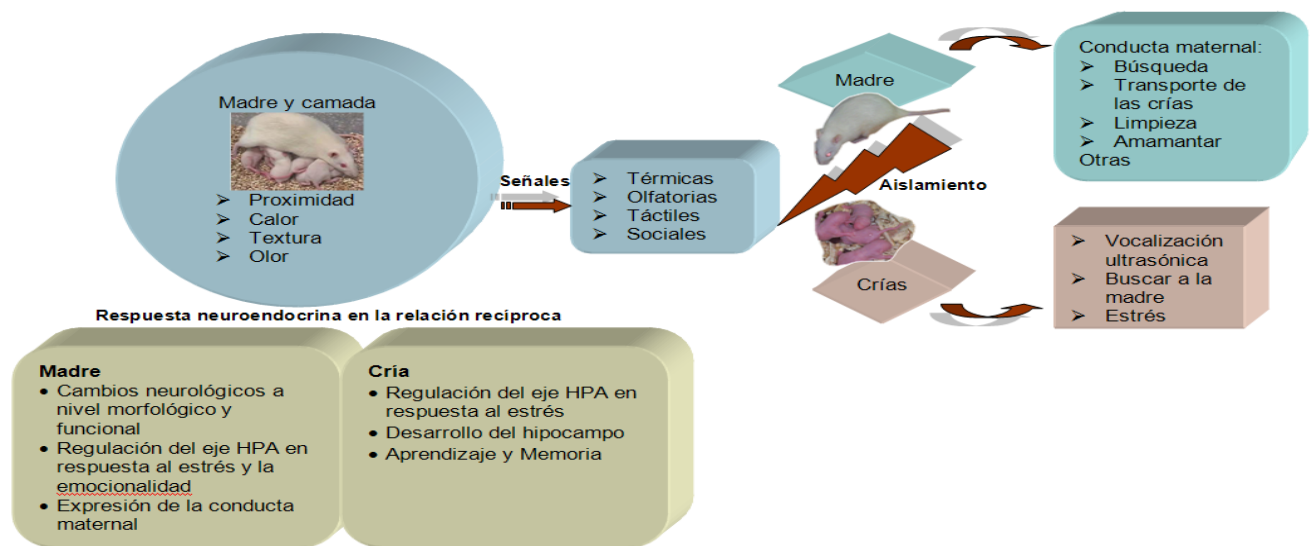


Figura 1. Representación esquemática de la relación madre-crías. Esquema adaptado [2,6,7]

En la mayoría de los mamíferos, existen variaciones naturales en la expresión de los cuidados maternales, sobre todo en aquellos cuyas camadas son grandes, en donde, algunas crías reciben mayor frecuencia de cuidados maternales en comparación con otras [8,9]. Este trato diferencial, promueve la formación de un vínculos fuertes y débiles entre madre cría, a los que denominaremos en este estudio como apego materno alto o bajo.

Estudiar el AM representa serios problemas metodológicos, técnicos y éticos cuando se trabaja con humanos y existen pocos estudios etológicos en donde se operacionalize claramente la evaluación de este vínculo. Por lo tanto, en el presente estudio plantemos caracterizar la conducta de apego maternal en un modelo animal, en este caso murino (*Rattus norvegicus*). Debido al tamaño de sus camadas, estos roedores

muestran cuidados maternos diferenciales que no dependen de la manipulación del vínculo madre-cría. Las dos cepas más utilizadas en investigación son la Wistar (W) y la Sprague Dawley (SD); por ello, decidimos investigar las posibles diferencias en la formación del vínculo madre-cría e identificar cual de éstas cepas ofrecía mejores condiciones metodológicas y técnicas para caracterizar el AM.

## **Materiales y Métodos.**

### **Animales de estudio**

Se utilizaron 10 Ratas hembras (5 W / 5 SD) de 200-250 g, nulíparas, alojadas en cajas Plexiglas de 53 x 20 x 43 cm (para tener una visión clara de la actividad dentro de la caja). Alimentación *ad libitum* y ciclos luz - oscuridad invertidos (12-12 h). A estas ratas se les tomó una muestra de exudado vaginal durante una semana para determinar su ciclo estral, seleccionando sólo a aquellas que presentaron ciclos estrales de 4-5 días de duración. Se registró el número de conductas presentadas hacia el medio interno (olfatear y morder la cama de la caja, hacer nido, explorar la cama), hacia el medio externo (pararse en sus patas traseras para observar u olfatear el exterior) y conductas propias de la rata (acicalamiento, limpieza, alimentación), en sesiones de 30 min de duración. Después se indujo la gestación por cópula fértil en la fase del proestro, dejándolas todo el día enjauladas con el macho. Se verificó al día siguiente la presencia de esperma en el exudado vaginal, y a este día se le denominó como día 1 de gestación. En la 3ª semana de gestación, se registraron nuevamente las conductas de las ratas en sesiones de 30 min. Los sujetos de estudio fueron tanto las madres como las crías de cada cepa.

### **Protocolo para identificar el tipo de apego materno**

En la **primera semana** después del nacimiento (d1-7), no se manipularon las camadas para no interferir en la interacción madre-crías y favorecer la formación del vínculo, sólo se registró el número de crías y si éstas sobrevivían al término de la semana.

Al inicio de la **segunda semana** (d8), se inició con el protocolo de identificación del AM. Se homogenizaron las camadas a 10 crías mediante la selección aleatoria a 5 machos y 5 hembras por camada. El resto de las crías fueron retiradas. Se pesaron y marcaron las crías con plumones no tóxicos de diferentes colores, de tal manera que la marca fuera claramente visible y diferencial en las videograbaciones.

Se consideró como **criterios de inclusión** el hecho de que las camadas fueran de más de 10 crías para poder seleccionar 5 machos y 5 hembras por camada; y que la ganancia de peso fuera homogénea, sin diferencias significativas entre machos y hembras hasta el día 21 de edad (destete). Se eliminaron del estudio a aquellas camadas que expresaron una frecuencia baja en el número de conductas hacia sus crías y a las que perdieron a una de sus crías después de homogenizar las camadas.

**Registro de la conducta de apego materno.** Mediante la observación sistemática se determinó la frecuencia de conductas que expresa la madre hacia cada una de las crías y viceversa. Las sesiones de observación fueron del día 8 al 21 de edad de las crías, con una duración de 30 minutos (9:00-9:30 y 10:00-10:30 a.m.). Todas las sesiones fueron videograbadas para evitar que los observadores estuvieran en contacto directo con las camadas.

Las conductas evaluadas madre-crías fueron:

- *Transportar*: La madre toma a las crías con el hocico y las mueve de un punto a otro en la caja, independientemente de la distancia.
- *Limpiar*: La madre utiliza su lengua la lamer a la cría, se tomará como 10 s mínimo la duración del evento.

- *Olfatear*: La madre acerca su nariz a la cría aspirando a una frecuencia más alta de la normal, con movimientos asociados al apéndice nasal, se tomará como 5 s mínimo la duración del evento.

Las conductas evaluadas crías-madre fueron:

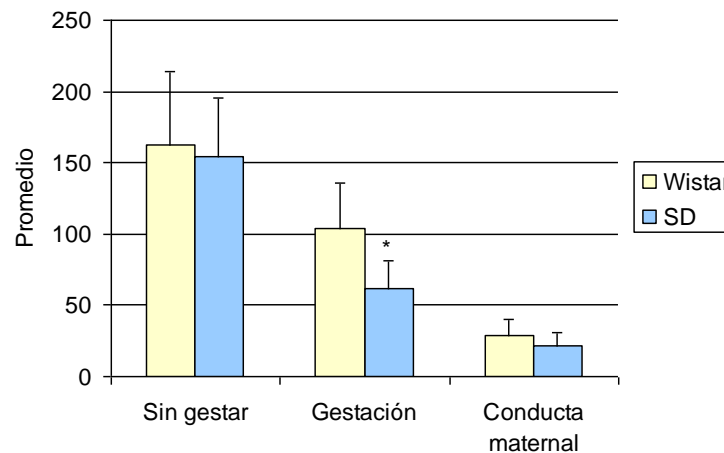
- *Buscar*: La cría se desplaza en la caja para colocarse junto a la madre, independientemente de la distancia recorrida.

Los datos analizados fueron:

- Frecuencia de conductas de las ratas madre en 3 estados diferentes: Sin gestar, gestación y conducta materna.
- Ganancia de peso de las crías intra e inter-grupo a partir de la segunda semana de nacimiento.
- Identificación de las crías de alto o bajo apego: se obtuvo el promedio de conductas de la madre hacia las crías y viceversa (por camada) y fueron seleccionadas las crías cuyo puntaje sea  $\pm 1$  desviación estándar con respecto al promedio.
- Relación entre el sexo de las crías y el tipo de apego (prueba Chi cuadrada).
- Relación entre el vínculo madre-cría y viceversa.

## Resultados y Discusiones

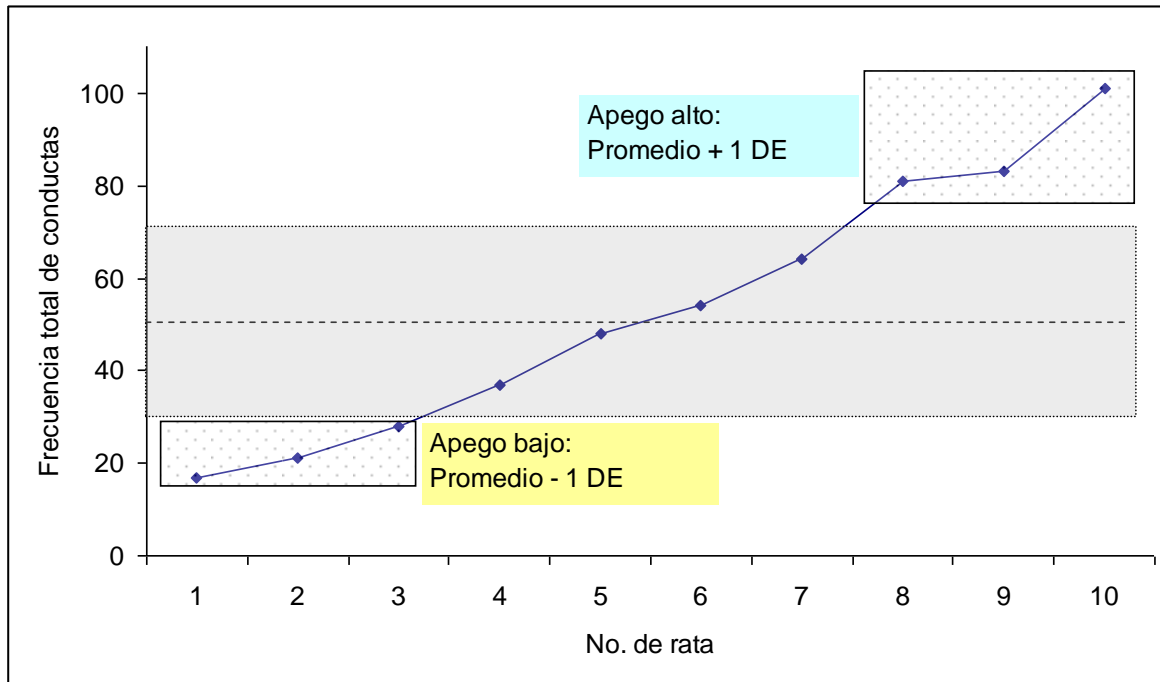
El registro de conductas de las ratas madre en tres condiciones diferentes, fue con el objetivo de analizar si había cambios en las conductas por cepa y si estas influían en la conducta materna. La [figura 2](#), muestra que no hay diferencias significativas inter-cepas en el promedio de las conductas registradas antes de la gestación y durante la lactancia. Sólo se encontraron diferencias en el periodo de gestación (U Mann-Whitney = 2, Z = 2.19, P<0.05), en donde el número de conductas registradas por la cepa SD es menor en comparación con la Wistar, debido a que los periodos de reposo son mayores; sin embargo, esto no repercute en la conducta materna.



**Figura No. 2.** Promedio de conductas registradas en tres condiciones diferentes: Sin gestar, Gestación y Lactancia (n=5/cepa). +1DE. \* U Mann-Whitney = 2, Z= 2.19, P<0.05

Durante la gestación, disminuyen las conductas de la madre en la última semana, debido a que aumenta su consumo de alimento y agua; su metabolismo se hace más lento, retiene líquidos y, en consecuencia, mayor ganancia su peso. En este periodo, pesa más la estructura ósea de las crías por un aumento en la fijación de calcio en los huesos [10,11], aumenta también su movilidad en el útero, es por esto que la madre disminuye su movilidad, registra menos conductas hacia el medio interno y externo, y muestra más conductas propias y relacionadas con la construcción del nido. En el periodo de lactancia, las conductas que más se presentan en ambas cepas son las maternas.

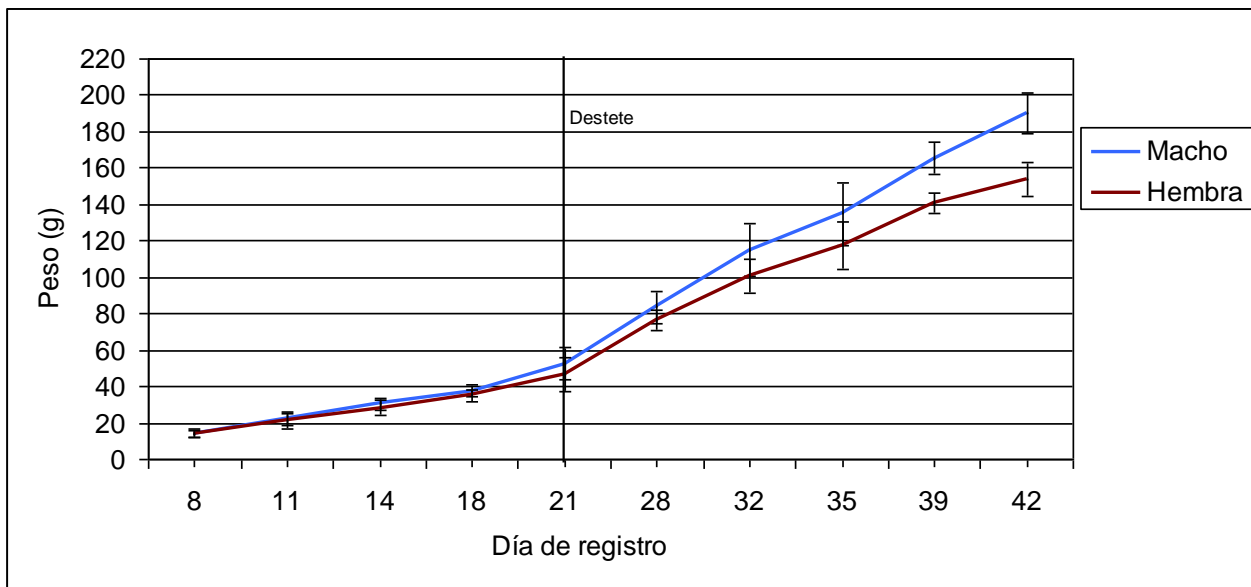
Al día 8 del nacimiento de las crías, se inició el protocolo de AM. Para identificar el tipo de apego, se registró de forma individual las conductas de la madre hacia cada una de las crías y viceversa en cada camada. Estos datos se compararon con el promedio general de conductas por camada, con lo cual establecimos como de alto apego a aquellas crías cuyo puntaje fue mayor a 1 DE sobre la media; y las de bajo apego a las que presentaron puntajes de menos 1 DE con respecto a la media ([figura 3](#)). Esta estrategia, permite seleccionar hasta 3 crías por grupo de apego.



**Figura No. 3.** Distribución de los grupos de apego alto y bajo por camada.  
Alto apego = promedio + 1 DE, Bajo apego = promedio - 1 DE

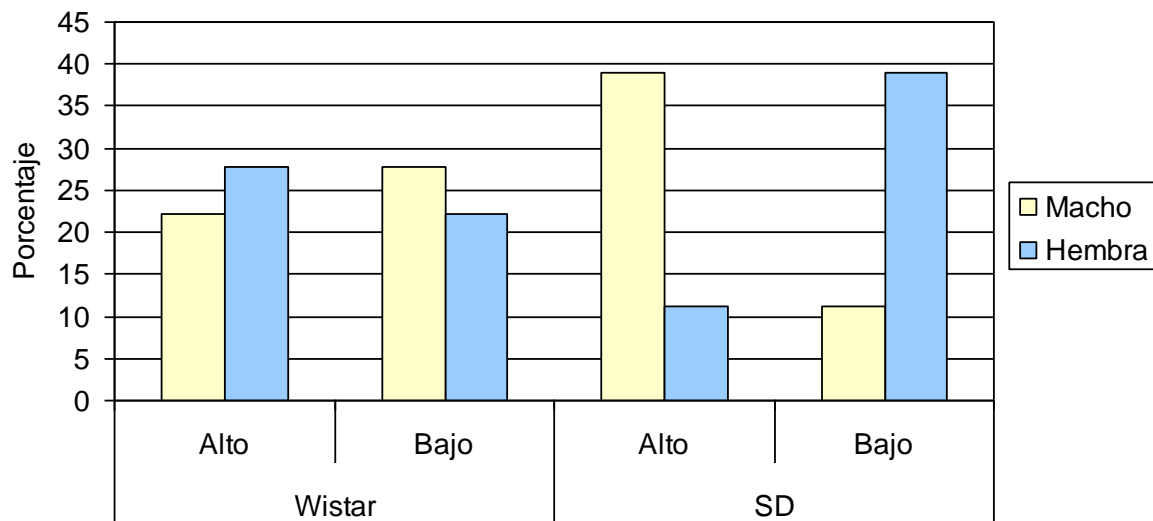
Con esta forma de clasificación de los grupos de apego, también se identifican las variaciones naturales de la CM por camada, sin necesidad de interferir en formación del vínculo y que éste se forme de manera natural.

La homogenización de las camadas a 10 crías, permite que las madres brinden los nutrientes suficientes para el crecimiento normal de éstas ([figura 4](#)). El registro del peso de las crías tanto de las cepas W y SD muestra un comportamiento normal con respecto a la edad y el sexo de las crías. Las diferencias significativas en la ganancia de peso entre machos y hembras se presentan hasta después del destete (d21) y a partir del día 32; esto obedece a las características músculo-esqueléticas y hormonales de cada sexo [[11](#)].



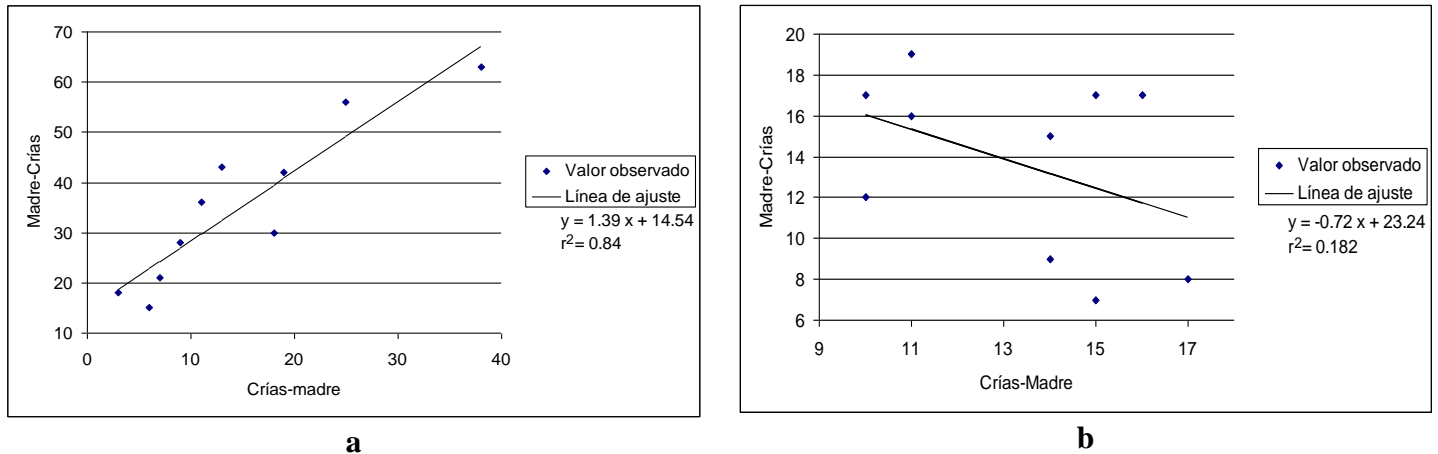
**Figura No. 4.** Registro de la ganancia de peso en crías de las cepas W y SD (n=50).

Para identificar la posible relación entre AM y sexo de las crías, se homogenizaron las camadas para obtener el mismo número de machos y hembras por camada, para después analizar el número total de crías macho/hembra por grupo de apego. En ambas cepas, la prueba Chi cuadrada de independendia no mostró relación entre estas variables; sin embargo, la cepa SD muestra una tendencia de mayor cuidado materno hacia los machos (figura 5). Los resultados de la prueba  $X^2$  se muestran después de la corrección por continuidad de Yates.

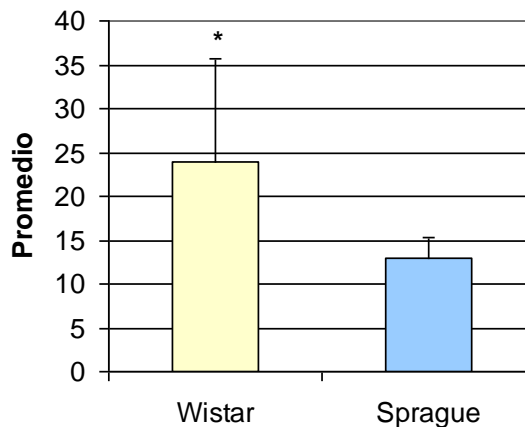


**Figura No. 5.** Relación entre tipo de apego y sexo de las crías por cepa (n = 30 crías/cepa, 15 de alto y 15 de bajo apego). Wistar  $\chi^2=0$ , gl=1, p=1; SD  $\chi^2=3.5$ , gl=1, p=0.59

Hasta este punto del estudio, no se habían encontrado diferencias estadísticamente significativas entre ambas cepas con respecto a la conducta maternal y de apego. Para analizar el vínculo madre-crías, determinamos la relación entre la frecuencia de conductas maternas para cada cría y la frecuencia de conductas de cada una de ellas hacia la madre ( [figura 6](#) ), se encontró una correlación positiva en las cepa W ( $r = 0.91$ ), mientras que en la SD la correlación es baja ( $r = -0.42$ ). Aunado a lo anterior, el número de veces que las crías buscan a la madre es mayor en la cepa W y se correlaciona con la preferencia de la madre, situación que no es clara para la cepa SD, cuyas crías mostraron más interés por explorar y jugar que por buscar a su madre ( [figura 7](#) ). Cabe mencionar que las conductas crías-madre se pueden identificar claramente hasta la 3ª semana de desarrollo, debido a que las crías abren sus ojos, presentan mayor movilidad y son más independientes.



**Figura No. 6.** Relación entre las conductas de búsqueda cría-madre y madre-cría en la cepa Wistar (a) SD (b)



**Figura No. 7.** Promedio de conductas de búsqueda cría-madre de acuerdo a la cepa. +1DE

\* U Mann-Whitney = 30, Z= 2.24, P<0.05



## Conclusiones y Recomendaciones

Las variaciones naturales de la conducta maternal permiten formar vínculos diferenciales entre la madre y las crías de una misma camada. De igual manera, al homogenizar las camadas tanto en número de crías como por sexo, no se encontró relación entre el tipo de apego (alto o bajo) y el sexo en ambas cepas, aunque se podría profundizar más en el comportamiento de las madres SD hacia los machos y hacia las hembras para poder identificar los factores que influyen en este cuidado materno diferencial. También se encontró que éste vínculo no es igual en las cepas W y SD, ya que bajo este tipo de estrategia metodológica y técnica, el AM se puede identificar con mayor claridad en la cepa W que en la cepa SD. Por lo que podemos concluir que el protocolo diseñado para la evaluación del AM cumplió su objetivo y es sensible a las variaciones naturales de la CM por camada y por cepa.

La sistematización de la evaluación de la conducta de apego maternal ayudará a implementar diversas estrategias experimentales y no experimentales para correlacionar estos datos con estudios hormonales, así como su influencia en el desarrollo neural y cognitivo de las crías a corto, mediano y largo plazo.

## Referencias

1. Bowlby, J. (1958). The nature of the child's tie to his mother. *J. Psycho-Anal.* **39**: 350-73.
2. Walker, C.D., Deschamps, S., Proulx, K., Tu, M., Salzman, C., Woodside, B., Lupien, S., Gallo-Payet, N. & Richard, D. (2004). Mother to infant or infant to mother? Reciprocal regulation of responsiveness to stress in rodents and the implications for humans. *J Psychiatry Neurosci* **29**(5):364-382.
3. Rosenblatt, J. S. (1967). Nonhormonal basis of maternal behavior in the rat. *Science* **156**, 1512-1514.
4. Pedersen, C. & Prange Jr., A. (1979). Induction of maternal behavior in virgin rats after intracerebroventricular administration of oxytocin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Neurobiology*, **76**, No. 12, pp. 6661-6665.
5. Insel, T.R. y Young, L.J. (2001). The neurobiology of the attachment. *Nature* **2**: 129-136
6. Branchi, I., Santucci, D. & Alleva, E. (2001). Ultrasonic vocalisation emitted by infant rodents: a tool for assessment of neurobehavioural development. *Behavioural Brain Research* **125**: 49-56.
7. Fleming, A.S., O'Day, D.H. & Kraemer, G.W. (1999). Neurobiology of mother-infant interactions: experience and central nervous system plasticity across development and generations. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* **23** 673-685.
8. Francis, D., Young, L., Meaney, M. & Insel, T. (2002). Naturally Occurring Differences in Maternal Care are Associated with the Expression of Oxytocin and Vasopressin (V1a) Receptors: Gender Differences. *Journal of Neuroendocrinology*, **14**, 349-35.
9. Champagne, F., Diorio, J., Sharma, S. y Meaney, M. (2001). Naturally occurring variations in maternal behavior in the rat are associated with differences in estrogeninducible central oxytocin receptors". *PNAS* **23**, **98**, **22**. 12736-12741.
10. Douglas AJ, Johnstone LE, Leng G (2007) Neuroendocrine mechanisms of change in food intake during pregnancy: potential role for brain oxytocin. *Physiology and Behavior* **91**:352-365.
11. Zeni, S., Di Gregorio, S. & Mautalena, C. (1999). Bone mass changes during pregnancy and lactation in the rat. *Bone* **25**:6, 681-685.